

DEGRADACIÓN *In Situ* Y PATRONES DE FERMENTACIÓN DEL RASTROJO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) TRATADO CON ENZIMAS EXÓGENAS EN VACAS HOLSTEIN

Gustavo Tirado Estrada, Ignacio Mejía Haro, Carlos Ricardo Cruz Vázquez, Germán David Mendoza Martínez y Deli Nazmín Tirado González

RESUMEN

Se evaluó el efecto de las dosis 0, 1, 2 y 3g·kg⁻¹ de materia seca (MS) de rastrojo de maíz (RM), del producto enzimático Fibrozyme (E), y el tiempo de aplicación pretratamiento (PT) de 0 y 24h previo a una incubación de 24h en el interior del rumen de vacas Holstein con cántula ruminal. Se evaluaron la digestibilidad *in situ* de la materia seca (DISMS), la fibra detergente neutro y ácido (FDN y FDA) en el residuo de la digestión *in situ*, las concentraciones de ácidos grasos volátiles individuales (AGV), ácidos grasos volátiles totales (AGVt) y la producción de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) a 0, 3, 6, 9, 12 y 24h. Se

usó diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 4×2 (dosis×PT) para DISMS, FDN y FDA y 4×6 (dosis×tiempo de muestreo), para AGVt y N-NH₃, con 4 repeticiones. Los valores de la DISMS y FDN del tratamiento con 1g de E y 24h de PT superó a aquellos sin E. La FDA fue estadísticamente similar. Los niveles de 1 y 2g de E elevaron las concentraciones de AGVt y de N-NH₃. La menor relación acetato:propionato (A:P) se obtuvo con 1g de E. Los resultados sugieren que no existen ventajas sobre el testigo cuando se suplementa el RM con Fibrozyme a dosis por encima de 1g·kg⁻¹ MS.

Introducción

En México el 80% del rastrojo de maíz se destina a la alimentación de rumiantes. Su uso, sin el auxilio de suplementos principalmente proteicos, en muchos casos no cubre los requerimientos nutricionales de mantenimiento. Se ha considerado que esta deficiencia se debe al elevado contenido del residuo fibra detergente neutro (FDN), al que se atribuye la baja digestibilidad del rastrojo de maíz (RM; Coleman y Moore, 2002; Nuñez *et al.*, 2003; Peña *et al.*, 2003) y la poca disponibilidad de nutrientes en el rumen (Delgado *et al.*, 2002). El alto contenido de FDN del RM impacta negativamente la capacidad de ingesta del ganado y explica ~70% de la variación en la producción animal (Stendal

et al., 2006). En la última década ha aumentado el número de investigaciones sobre el uso de enzimas fibrolíticas en la degradación de los componentes fibrosos de la pared celular para mejorar la digestibilidad de los nutrientes de las pajas y esquilmos agrícolas (Tricarico y Dawson, 2005; Eun y Beauchemin, 2007). Por ejemplo, el uso de enzimas fibrolíticas exógenas aplicadas al forraje puede incrementar la digestibilidad *in vitro*, *in situ* e *in vivo* de la materia seca y de la fibra detergente neutro de alimentos fibrosos (Colombatto, 2000; Colombatto *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2007), y se ha demostrado que estas enzimas pueden también mejorar la degradación de la materia orgánica y la eficiencia fermentativa, dado que alteran la estructura del ensilaje,

haciéndolo más susceptible a la acción de los microorganismos del rumen (Colombatto *et al.*, 2004b). Además, su aplicación durante el proceso de ensilado puede disminuir el porcentaje de la FDA (Colombatto *et al.*, 2004a). Se ha encontrado que la adición de enzimas exógenas a un alimento para borregos aumentó la digestibilidad de la proteína cruda, hemicelulosa, FDN y la concentración de AGV, y mejoró además el balance de N (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2002). En bovinos, el uso de enzimas comerciales (Fibrozyme) mejoró la ganancia de peso y producción de leche debido a un incremento en la digestibilidad y consumo de materia seca (Yang *et al.*, 2000; Gómez-Vázquez *et al.*, 2003; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2005).

El objetivo del presente estudio fue evaluar dosis crecientes de un complejo enzimático Fibrozyme (E) exógeno aplicado a rastrojo de maíz (RM), 0 o 24h previo a la incubación *in situ* (pretratamiento: PT), sobre la digestibilidad *in situ* de la materia seca (DISMS), porcentaje de las fracciones fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) del residuo de la digestibilidad *in situ*, y concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) individuales (acético, propiónico y butírico), totales (AGVt) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) del rastrojo de maíz, en el rumen de vacas Holstein.

Materiales y Método

El experimento se realizó en el Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes,

PALABRAS CLAVE / Digestibilidad / Enzimas Fibrolíticas / Fermentación Ruminal / Maíz / Vacas Holstein /

Recibido: 27/10/2014. Modificado: 11/09/2015. Aceptado: 14/09/2015.

Gustavo Tirado Estrada. Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. Profesor Investigador, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes (ITEL), Tecnológico Nacional de México (ITN), México.

Ignacio Mejía Haro. Doctor en Nutrición, University of Nebraska-Lincoln, EEUU. Profesor Investigador, ITEL-ITN, México. Dirección: Km 18 carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, CP. 20330, El Llano, Aguascalientes, México. e-mail: ignaciomh@hotmail.com

Carlos Ricardo Cruz Vázquez. Doctor en Ciencias en Veterinaria-Parasitología, Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor Investigador, ITEL-ITN, México.

Germán David Mendoza Martínez. Doctor en Nutrición de Rumiantes, University of

Nebraska-Lincoln, EEUU. Profesor Investigador, Universidad Autónoma Metropolitana, México.

Deli Nazmín Tirado González. Doctora en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma de Chapingo. México.

In Situ DIGESTIBILITY AND FERMENTATION PATTERNS OF MAIZE (*Zea Mays* L.) RESIDUE TREATED WITH EXOGENOUS ENZYMES IN HOLSTEIN COWS

Gustavo Tirado Estrada, Ignacio Mejía Haro, Carlos Ricardo Cruz Vázquez, Germán David Mendoza Martínez and Deli Nazmín Tirado González

SUMMARY

The dose effect of 0, 1, 2 and 3g·kg⁻¹ dry matter (MS) of corn stover (RM) of the enzyme product Fibrozyme (E), and the application pretreatment time (PT) of 0 and 24h before a ruminal incubation of 24h in rumen-cannulated Holstein cows was evaluated. The in situ digestibility of the dry matter (DISMS), neutral and acid detergent fiber (NDF and ADF) in the residue of the in situ digestion, concentrations of individual volatile fatty acids (VFA), total volatile fatty acids (AGVt) and production of ammonia nitrogen (N-NH₃) at 0, 3, 6, 9, 12 and 24h were assessed. A completely random design (DCA) was

used, with an arranged 4×2 factorial (dose×PT) for DISMS, NDF and ADF, and 4×6 (dose×sampling time) for AGVt and N-NH₃, with 4 replications. The values of DISMS and NDF of the treatment with 1g of E and 24h PT were higher than those without E. The ADF was not statistically different. Levels of 1 and 2g of E elevated the concentrations of AGVt and N-NH₃. The lower acetate to propionate ratio (A:P) was obtained with 1g of E. The results suggest that there are no advantages over the control when the RM is supplemented with Fibrozyme using doses above 1g·kg⁻¹ MS-1.

DEGRADAÇÃO IN SITU E PADRÕES DE FERMENTAÇÃO DA PALHA DE MILHO (*Zea Mays* L.) TRATADO COM ENZIMAS EXÓGENAS EM VACAS HOLSTEIN

Gustavo Tirado Estrada, Ignacio Mejía Haro, Carlos Ricardo Cruz Vázquez, Germán David Mendoza Martínez e Deli Nazmín Tirado González

RESUMO

Avaliou-se o efeito das doses 0, 1, 2 e 3g·kg⁻¹ de matéria seca (MS) de palha de milho (PM), do produto enzimático Fibrozyme (E), e o tempo de aplicação pré-tratamento (PT) de 0 e 24h prévio a uma incubação de 24h no interior do rúmen de vacas Holstein com cânula ruminal. Avaliaram-se a digestibilidade in situ da matéria seca (DISMS), a fibra detergente neutro e ácido (FDN e FDA) no resíduo da digestão in situ, as concentrações de ácidos graxos voláteis individuais (AGV), ácidos graxos voláteis totais (AGVt) e a produção de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) a 0, 3, 6, 9, 12 e 24h. Utilizou-se dese-

nho completamente aleatório (DCA) com arranjo fatorial 4×2 (doses×PT) para DISMS, FDN e FDA e 4×6 (doses×tempo de amostragem), para AGVt e N-NH₃, com 4 repetições. Os valores da DISMS e FDN do tratamento com 1g de E e 24h de PT superou a aqueles sem E. A FDA foi estatisticamente similar. Os níveis de 1 e 2g de E elevaram as concentrações de AGVt e de N-NH₃. A menor relação acetato:propionato (A:P) se obteve com 1g de E. Os resultados sugerem que não existem vantagens sobre o testemunho quando se suplementa a PM com Fibrozyme a doses acima de 1g·kg⁻¹ MS.

México. Se utilizaron cuatro vacas Holstein con cânula ruminal, adaptadas durante 15 días a una dieta experimental con la relación 56% de rastrojo de maíz (RM): 44% de concentrado (Tabla I).

Se probó el producto enzimático comercial Fibrozyme (E) de Alltech Inc. de México, S.A. de C.V., proveniente de la fermentación de *Aspergillus Niger* y *Trichoderma viride*, cuya actividad de xilanasas es de 100U/g de E (Tricarico y Dawson, 1997).

Se realizaron dos experimentos. En el primer experimento se probaron dosis equivalentes de 0, 1, 2 y 3g de E por kg de materia seca (MS), las cuales se aplicaron a muestras de 3g de RM molido (criba de 1mm) con 0 y 24h de pretratamiento (PT). La preparación fue colocada en bolsas de nylon de 10×7cm (Ankom F57, poro de 52 ±10µm) que introdujeron en el rumen de las vacas fistuladas por 24h. Posteriormente, las bolsas fueron retiradas del rumen, lavadas y secadas en

estufa con aire de presión a 100° C durante 24h, y en seguida se determinó la DISMS (Orskov y McDonald, 1979). En el residuo se determinó la concentración de las fracciones FDN y FDA (Van Soest *et al.*, 1991).

En el segundo experimento se probó el efecto de las dosis 0, 1, 2 y 3g E /kg añadida a la dieta, sobre las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en el rumen. Se tomaron muestras de líquido ruminal a 0 (8:00), 3 (11:00), 6 (14:00), 9 (17:00), 12 (20:00) y 24h (8:00) postprandial. Las muestras colectadas de líquido ruminal fueron tratadas con una solución al 25% de ácido metafosfórico (peso/volumen) en una proporción 1:5 (volumen/volumen), y en seguida fueron refrigeradas a 4°C

para su posterior análisis por cromatografía de gases. Las muestras así tratadas fueron utilizadas por igual en la determinación de AGV, de acuerdo a la técnica de Erwin *et al.* (1961) y en la determinación de N-NH₃ por el método de McCullough (1967).

En el experimento 1, los datos correspondientes a las variables DISMS, y FDN y FDA del residuo se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial (4×2) con 4 dosis de enzima y 2 tiempos de PT, con 4 repeticiones. Los datos del experimento 2, correspondientes a las variables AGV, AGVt y N-NH₃, se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial (4×6) con 4 dosis de enzima y 6 tiempos de muestreo de líquido ruminal, y 4 repeticiones. Los datos se

TABLE I
COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Ingredientes (% MS)	Dieta control	Diets tratadas con enzima
Rastrojo de maíz	56,3	56,3
Melaza	6,5	6,5
Sorgo	17,6	17,6
Harina de soya	13,0	12,90; 12,80 y 12,70
Aminosoy	6,6	6,6

analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Tukey para la comparación de medias de tratamientos, con el paquete SAS (*Statistical Analysis System*, V. 9.2, 2008). Los efectos lineales o cuadráticos para AGV y AGVt se analizaron utilizando polinomios ortogonales. Además, se evaluaron las correlaciones entre los ácidos grasos volátiles individuales (acético, propiónico y butírico) y los AGVt.

Resultados

La aplicación de la E ni el PT ocasionaron efectos sobre la degradación de la FDA ($P > 0,01$). La DISMS y FDN fueron similares en ambos tiempos de PT, pero sí mejoraron con la adición del

producto enzimático, donde la dosis 1g de E reportó el mayor valor en las dos variables ($P < 0,05$). La interacción dosis por tiempo fue significativa ($P < 0,01$; Tabla II) para la DISMS; con 24 h de PT, las dosis del producto enzimático (1, 2 y 3g) mostraron valores de DISMS y FDN del residuo mayores al testigo (Tabla II; $P < 0,05$), donde 1g de E obtuvo el mejor promedio ($P < 0,05$). Las dosis 1 y 2g de E /kg MS de RM, con 24h de PT, reportaron mayores valores de DISMS que a 0h ($P < 0,05$).

Los efectos del PT de la dieta con las dosis de E no fueron lineales sobre el comportamiento de la DISMS y la FDN del residuo (Tabla III; $P < 0,001$). Las dosis de 1 y 2g de E /kg MS

de RM (Tabla III; $P < 0,01$), favorecieron una mayor producción de los AGV (Ac, Pr y Bu) y AGVt que el testigo y la dosis de 3g de E. La concentración de ácido acético superó a la de ácido propiónico en una relación promedio A:P (4:1). Los efectos de las dosis de E sobre las concentraciones de Ac, Pr, Bu y AGVt, mostraron comportamientos cuadráticos positivos (Tabla III; $P < 0,001$).

Las correlaciones observadas entre los AGV (Ac, Pr y Bu) y los AGVt fueron altas y significativas, mostrando tendencias similares. La correlación entre acetato y propionato fue de 0,93 ($P < 0,0001$), entre acetato y butirato de 0,915 ($P < 0,0001$), entre propionato y butirato de 0,964 ($P < 0,0001$) y entre éstos y las

concentraciones de AGVt fue en promedio de 0,97 ($P < 0,0001$).

Con excepción de los AGVt, las concentraciones de Ac, Pr y Bu observadas a 0, 12 y 24h fueron similares, mientras que los promedios más altos se obtuvieron entre 3 y 9h (Tabla IV; $P < 0,05$). En la interacción dosis de E × tiempo de muestreo, la mayor concentración de AGVt y la mayor producción de N-NH₃ se obtuvo a 3, 6 y 9h en los tratamientos con dosis de 1 y 2g de E, superando a aquellos con dosis de 0 y 3g de E (Tabla V; $P < 0,05$).

En todos los tratamientos la relación A:P fue similar al inicio de la incubación *in situ* (0h; Figura 1), pero la relación A:P para 12h de incubación y el promedio de todos

TABLA II
EFECTO DE LA INTERACCIÓN DOSIS DE E Y PRETRATAMIENTO (E×PT) SOBRE LA DISMS (%) Y FDN DEL RESIDUO (%) DEL RASTROJO DE MAÍZ

Dosis de E (g/kg MS de RM)	DISMS		FDND	
	0h	24h	0h	24h
0	FG A59,78 ^c	G BC58,51 ^d	EF A65,18 ^c	G B62,83 ^d
1	FG AB59,78 ^c	E A63,90 ^c	EF A65,41 ^c	E A66,63 ^c
2	FG AB60,40 ^c	F AB60,82 ^d	FG A63,94 ^c	FG A64,00 ^c
3	F A61,23 ^c	F B60,06 ^d	EF A65,90 ^c	FG B63,90 ^c
CV (%)	3,76		3,24	

Medias con ^{E, F, G} distintas indican diferencias entre tratamientos verdaderos (E×PT; $P < 0,05$); medias distintas con ^{A, B} ó ^{c, d} muestran diferencias estadísticas entre dosis y tiempo de pretratamiento, respectivamente ($P < 0,05$).

TABLA III
CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE AGV INDIVIDUALES Y TOTALES (mM·l⁻¹) POR DOSIS DE E A TRAVÉS DE LOS TIEMPOS DE MUESTREO

Dosis de E (g/kg de MS)	Ácidos grasos volátiles individuales			Total AGVt
	Acético	Propiónico	Butírico	
0	25,87 ^b	5,29 ^b	2,72 ^b	32,14 ^b
1	36,60 ^a	8,60 ^a	4,54 ^a	49,77 ^a
2	37,37 ^a	8,35 ^a	4,82 ^a	50,88 ^a
3	27,14 ^b	6,06 ^b	3,29 ^b	36,14 ^b
Efecto				
Lineal	NS	NS	*	NS
Cuadrático	**	**	**	**

Medias con literales a, b distintas, difieren entre dosis de E por columna ($P < 0,05$). NS: no significativo; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

TABLA IV
CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE AGV INDIVIDUALES Y TOTALES (mM·l⁻¹) POR TIEMPO DE MUESTREO A TRAVÉS DE LAS DOSIS DE E

Tiempo (h)	Ácidos grasos volátiles			Total AGVt
	Acético	Propiónico	Butírico	
0	31,30 ^{ab}	5,87 ^b	3,22 ^b	39,44 ^{bc}
3	37,66 ^a	9,56 ^a	4,55 ^a	50,08 ^{ab}
6	36,36 ^a	8,36 ^a	4,74 ^a	49,44 ^{ab}
9	36,93 ^a	8,39 ^a	5,81 ^a	52,84 ^a
12	23,48 ^b	5,63 ^b	3,11 ^b	32,56 ^c
24	25,21 ^b	4,64 ^b	2,65 ^b	33,46 ^c

Medias con literales^{a, b} distintas, difieren entre tiempo de muestreo por columna ($P < 0,05$).

TABLA V
EFECTO DE LA DOSIS DE E×TIEMPO DE MUESTREO, SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE AGVt (mM·l⁻¹) Y N-NH₃ (mg·dl⁻¹)

Tiempo de muestreo (h)	Dosis de E, g·k ⁻¹ de MS de RM			
	0	1	2	3
Ácidos grasos volátiles totales (AGVt)				
0	ABC36,17 _D	B34,11 _D	BC48,52 _D	A38,98 _D
3	A53,24 _D	AB50,80 _D	BC48,20 _D	A48,07 _D
6	ABC34,37 _E	A66,54 _D	AB59,51 _D	A37,33 _E
9	AB46,66 _{EF}	AB56,24 _{DE}	A75,73 _D	A32,73 _F
12	BC25,55 _D	AB44,98 _D	C33,04 _D	A26,68 _D
24	C18,67 _E	AB45,01 _D	BC37,89 _{DE}	A32,27 _{DE}
Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃)				
0	BC3,66 _E	B2,74 _E	B9,16 _D	B5,75 _{DE}
3	AB7,2 _F	A12,13 _{DE}	A14,90 _D	A10,48 _{EF}
6	C1,45 _E	B1,58 _E	BC7,68 _D	B3,65 _E
9	C1,43 _D	B3,30 _D	C4,90 _D	B4,32 _D
12	C2,23 _E	B5,30 _{DE}	BC6,86 _D	B4,81 _{DE}
24	A8,21 _D	B5,41 _{DE}	BC6,20 _{DE}	B3,64 _E

Medias distintas con ^{A, B, C} ó ^{D, E, F} muestran diferencias estadísticas entre dosis de E y tiempo de muestreo, respectivamente ($P < 0,05$).

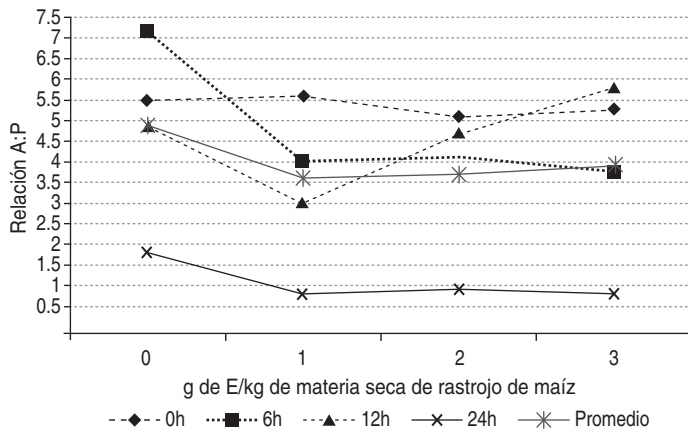


Figura 1. Relación promedio A:P por dosis de E para tiempos diferentes de muestreo.

los tiempos, mostraron respuesta cuadrática inversa en relación a la dosis de enzima; en ambos casos, el tratamiento con 1g de E registró una relación A:P menor al testigo y a los tratamientos con 2 y 3g de E, y estos últimos no mostraron diferencias entre sí ($P < 0,05$). A las 6 y 24h, el testigo registró los valores más altos para la relación A:P; en cambio, los tratamientos con 1, 2 y 3g de E registraron menores relaciones A:P que el testigo ($P < 0,05$).

Discusión

Estos resultados concuerdan con estudios que muestran aumentos en la digestibilidad de la FDN y de la materia orgánica (MO) al utilizar complejos de enzimas fibrolíticas exógenas en sustratos diversos (Yang *et al.*, 2002; Colombatto *et al.*, 2004b); sin embargo, parece que el momento de la aplicación de los suplementos enzimáticos podría tener un efecto en el modo de acción de éstos (Colombatto *et al.*, 2003). Los resultados del presente estudio, sugieren que la actividad de las enzimas fibrolíticas del Fibrozyme inician la degradación de los polisacáridos estructurales de la fibra del RM, antes de ser ingeridos, cuando se adicionan 24h antes de la incubación *in situ* en el rumen. El aumento en las concentraciones de AGVt del presente estudio, puede atribuirse al incremento de la fermentabilidad

del RM por efecto de la enzima aplicada.

Lewis *et al.* (1996) indicaron la existencia de un efecto positivo en la suplementación de enzimas previa a la alimentación, en donde el forraje con un pretratamiento de 16h, produjo un incremento del 30% de los AGVt y aumentó la digestibilidad de la FDN. Algunos trabajos muestran que aplicar enzimas fibrolíticas exógenas durante el ensilaje puede modificar la disponibilidad potencial de los nutrientes de los rastrojos. Por ejemplo, McAllister *et al.* (1999) encontraron que las digestibilidades de la MS y FDN fueron menores cuando distintas dosis de preparado enzimático comercial se aplicaba en el rumen directamente en comparación con su aplicación al momento del proceso de ensilado. Dosualdo *et al.* (2006) reportan que al evaluar tres tipos de ensilado, uno sin enzimas y dos con preparados enzimáticos bacterianos: una mezcla de enzimas amilasa, celulasa y hemicelulasa (Maize All, Alltech®) y dos cepas de bacterias ácido lácticas *Lactobacillus plantarum* (CH6072 and K-270), para mejorar la preservación de ensilajes de forrajes (Biomax®, Christian Hansen), y seis periodos de fermentación (0, 3, 7, 14, 28 y 56 días), hubo efecto de la interacción entre inoculante y tiempo de fermentación sobre los contenidos de materia seca y proteína cruda,

siendo mayores en los ensilados con enzimas; además, los contenidos de FDN y FDA tuvieron decrementos de 0,302 y 0,063 unidades/día, respectivamente, mientras que la digestibilidad *in vitro* de la MS se incrementó con el tiempo de fermentación a razón de 0,054 unidades/día.

Aunque la acción de las xilanasas y endoglucanasas exógenas en el interior del rumen no está del todo comprendida, se ha señalado que favorece el aumento del número de bacterias fibrolíticas del fluido ruminal (Wang *et al.*, 2001), lo que impacta directamente la degradabilidad y fermentabilidad de los rastrojos. El contenido de FDN (%) del rastrojo de maíz utilizado en el presente estudio fue de 44,6 y 26,4% de FDA (Van Soest *et al.*, 1991), lo cual reduce su degradación en el rumen.

Dawson y Tricarico (1999) señalan que la xilanasas son enzimas que actúan sobre los xilanos que se encuentran en la fracción de hemicelulosa de los forrajes fibrosos. Estos autores encontraron que el Fibrozyme actúa a varios niveles, pero a menudo está asociado con un incremento en la tasa inicial de desaparición de la fibra, o como un incremento en la tasa de desaparición de la fibra detergente neutro haciendo disponible los componentes de la fibra de la pared celular al ataque de los microorganismos del rumen. Este efecto se encontró en las primeras 12h de fermentación ruminal. Reportaron incrementos en la digestión de la materia seca y de la fibra detergente neutro, un incremento en la concentración de ácidos grasos volátiles y en la producción de amonio y una reducción en la relación acetato-propionato. Resultados similares se reportan en el presente estudio para las variables antes mencionadas.

Fibrozyme rompe las uniones de la lignina con la celulosa y la hemicelulosa (Lyons, 1997) y como consecuencia estimula el apetito y cambia la proporción de ácidos grasos en el rumen a favor del ácido propiónico, favoreciendo un

incremento en la ganancia de peso en los rumiantes.

En el presente estudio el efecto de la adición de enzimas fibrolíticas a dietas de rumiantes en la producción de AGV individuales y total parece ser muy variable. No obstante, la adición de Fibrozyme a la dieta modificó el patrón de fermentación ruminal, indicando que el uso de enzima puede mejorar la relación A:P. Yescas-Yescas *et al.* (2004), al utilizar Fibrozyme (0 y 1g de E/kg de MS) en rastrojo de maíz y avena, encontraron que la adición de este preparado incrementaba la concentración de acetato y butirato, pero no la de propionato. Por otra parte, Pinos-Rodríguez *et al.* (2002) también observaron aumento en la concentración de AGVt al probar un complejo enzimático fibrolítico exógeno (Fibrozyme, Alltech Inc., Nicholasville, KY, EEUU), que aporta principalmente xilanasas (Dawson y Tricarico, 1999).

Los comportamientos observados para los AGVt e individuales no fueron lineales con respecto a las dosis de E; de igual manera, algunos autores indican que podría excederse la dosis de enzima (Beauchemin *et al.*, 2003). A este respecto Kung *et al.* (2000), al añadir a una dieta para vacas lecheras (60% ensilado de maíz: 40% alfalfa) tres niveles de la fibra de la pared celular al ataque de los microorganismos del rumen. Este efecto se encontró en las primeras 12h de fermentación ruminal. Reportaron incrementos en la digestión de la materia seca y de la fibra detergente neutro, un incremento en la concentración de ácidos grasos volátiles y en la producción de amonio y una reducción en la relación acetato-propionato. Resultados similares se reportan en el presente estudio para las variables antes mencionadas.

Fibrozyme rompe las uniones de la lignina con la celulosa y la hemicelulosa (Lyons, 1997) y como consecuencia estimula el apetito y cambia la proporción de ácidos grasos en el rumen a favor del ácido propiónico, favoreciendo un

adherencia microbiana y, en consecuencia, limita la digestión (Morgavi *et al.*, 2000; Nsereko *et al.*, 2002).

Otros estudios muestran poco o ningún efecto del pretratamiento del alimento con la enzima (Colombatto, 2000; Yang *et al.*, 2002). Explicar las variaciones en los resultados reportados en diversos trabajos resulta complicado por los diversos factores que intervienen (Beauchemin *et al.*, 2003). En primer lugar, los alimentos son muy complejos estructuralmente, pues contienen una gran variedad de polisacáridos, proteínas, lípidos, lignina y ácidos fenólicos en íntima asociación; en segundo lugar, los productos enzimáticos son mezclas de enzimas con diversas actividades, las cuales difieren en sus condiciones óptimas y, por último, el fluido ruminal es un ecosistema microbiano extremadamente complejo, pues contiene cientos de especies de microorganismos con sus propia secreción de enzimas (Colombatto *et al.*, 2003). Recientemente, se ha utilizado la caracterización bioquímica con el fin de comprender algunos de los mecanismos por los cuales tales complejos de enzimas pueden mejorar la digestibilidad de la MS, FDN, FDA y patrones de fermentación de algunos alimentos; no obstante, tales ensayos no representan la complejidad de la pared celular de la planta, el espectro de acción de las enzimas, ni las condiciones del rumen (Beauchemin *et al.*, 2003), por lo que no pueden predecir su potencial en experimentos *in vitro* (con líquido ruminal), *in situ* o *in vivo*. Kung *et al.* (2000), al comparar dos diferentes productos comerciales con actividades similares de celulasas y xilanasas en dietas para vacas productoras de leche, encontró que solo una de ambas podía incrementar la producción de leche. Todo lo anterior muestra que es indispensable llevar a cabo estudios que consideren tales factores en las condiciones del interior del rumen.

Conclusiones

La digestibilidad *in situ* de la materia seca, la degradación de la fibra detergente neutro y las concentraciones individuales y totales de ácidos grasos volátiles, mostraron respuestas cuadráticas con respecto a la dosis del complejo enzimático añadido al rastrojo de maíz; se encontraron efectos depresivos en la suplementación del Fibrozyme a dosis mayores a 1g k⁻¹ de materia seca del rastrojo de maíz para la mayoría de las variables estudiadas.

La aplicación de 1 y 2g de E /kg MS de rastrojo de maíz mejoró la concentración de ácidos grasos volátiles individuales y totales, nitrógeno amoniacal y se redujo la relación acetato: propionato.

La dosis 1g de E /kg MS aplicada al rastrojo de maíz 24h antes de introducirlo al rumen, incrementó la digestibilidad *in situ* de la materia seca y desaparición de fibra detergente neutro.

REFERENCIAS

Beauchemin KA, Colombatto D, Morgavi DP, Yang WZ (2003) Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81: E37-E47.

Coleman SW, Moore E (2002) Variability in relationships among forage intake digestibility, NDF and ADF. *J. Anim. Sci.* 80 (Suppl. 1): 94.

Colombatto D, Mould FL, Bhat MK, Owen E (2002) The effect of fibrolytic enzyme application on rate and extent of alfalfa stem fermentation, assessed *in vitro*. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci. Annu. Mtg. Penicuik, RU.* p. 209.

Colombatto D, Mould FL, Bhat MK, Morgavi DP (2003) Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose xylan by mixed ruminal microorganism *in vitro*. *J. Anim. Sci.* 81: 1040-1050.

Colombatto D, Mould F, Bhat M, Phipps R, Owen E (2004a) Evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage: II. Effects of ensiling temperature, enzyme source and addition level. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111: 129-144.

Colombatto D, Mould F, Bhat M, Phipps R, Owen E (2004b)

Evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage: III. Effects of ensiling temperature, enzyme source and addition level. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111: 145-160.

Dawson KA, Tricarico JM (1999) The use of exogenous fibrolytic enzyme to enhance microbial activities in the rumen and the performance of ruminant animals. En Lyons TP, Jacques KA (Eds.) *Biotechnology in Feed Industry: Proc. 15th Annu. Symp.* Nottingham University Press. Loughborough, RU. pp: 303-312.

Delgado NJ, Casler MD, Grau CR, Jung HG (2002) Reactions of smooth Bromegrass clones with divergent lignin or etherified ferulic acid concentration to three fungal pathogens. *Crop Sci.* 42: 1824-1831.

Dosualdo RK, Gomes PO, Campos VS, Prates OA, Bastos PL, Martins CF (2006) Valor nutritivo del ensilado de maíz (*Zea mays* L.) producido con inoculantes enzimo-bacterianos. *Rev. Bras. Zootec.* 35: 389-395.

Eun JS, Beauchemin KA (2007) Assessment of the efficacy of varying experimental exogenous fibrolytic enzymes using *in vitro* fermentation characteristics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132: 298-315.

Erwin ES, Marco GJ, Emery E (1961) Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768-1771.

Gómez-Vázquez A, Pérez J, Mendoza GD, Aranda E, Hernández A (2003) Fibrolytic exogenous enzymes improve performance in steers fed sugar cane and stargrass. *Livest. Product. Sci.* 82: 249-255.

Kung LJr, Treacher RJ, Nauman GA, Smagala AM, Endres KM, Cohen MA (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.

Lewis GE, Hunt CW, Sanchez WK, Treacher RJ, Pritchard GT, Feng P (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.

Lyons TP (1997) *Design and Analysis of Feeding Experiments with Milking Dairy Cattle.* Mimeo series N° 18. Institute of Statistics. North Carolina State University. Raleigh, NC, EEUU. Cap 15, 1-51.

McAllister TA, Oosting SJ, Popp JD, Mir Z, Yanke LJ, Hristov AN, Treacher RJ, Cheng KJ (1999) Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 353-360.

McCullough H (1967) The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clin. Chem. Acta* 17: 297-304.

Moreno R, Pinos RJ, González S, Álvarez G, García JC, Mendoza G, Bárcena R (2007) Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación ruminal *in vitro* de dietas para vacas lecheras. *Interciencia* 32: 850-853.

Morgavi DP, Nsereko VL, Rode LM, Beauchemin KA, McAllister TA, Wang Y (2000) A Trichoderma feed enzyme preparation enhances adhesion of Fibrobacter succinogenes to complex substrates but not to pure cellulose. *Proc. Chicago Rumen Function Conf.* Chicago, IL, EEUU. p. 33.

Nsereko VL, Beauchemin KA, Morgavi DP, Rode LM, Furtado AF, McAllister TA, Iwaasa AD, Yang WZ, Wang Y (2002) Effect of a fibrolytic enzyme preparation from Trichoderma logibrachiatum on the rumen microbial population of dairy cows. *Can. J. Microbiol.* 48: 14-20.

Núñez G, Contreras EF, Contreras R (2003) Características agronómicas y químicas importantes en híbridos de maíz para forraje con alto valor energético. *Tec. Pec. Mex.* 41: 37-48.

Orskov FR, McDonald (1979) The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92: 499-503.

Peña A, Núñez G, González F (2003) Importancia de la planta y el elote en poblaciones de maíz para el mejoramiento genético de la calidad forrajera. *Tec. Pec. Méx.* 41: 63-74.

Pinos-Rodríguez JM, González SS, Mendoza GD, Bárcena R, Cobos MA, Hernandez A, Ortega ME (2002) Effect of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and ryegrass hay fed to lambs. *J. Anim. Sci.* 80: 3016-3021.

Pinos-Rodríguez JM, González S, Mendoza G, García JC, Miranda L, De La Cruz GA, De Lerna V (2005) Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación *in vitro* de ingredientes alimenticios y en la producción de leche de vacas Holstein. *Interciencia* 30: 752-757.

SAS (2008) *A Computer Program for Calculating Statistics Data.* Versión 9.2. Statistics Analysis System. SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU. www.sas.com/offices/europe/spain.

- Stendal C, Casler MD, Jung G (2006) Marker-assisted selection for neutral detergent fiber in smooth Bromegrass. *Crop Sci.* 46: 303-311.
- Tricarico JM, Dawson KA (2005) Influence of supplemental endoglucanase or xylanase on volatile fatty acid production from ruminant feed by ruminal *in vitro* cultures. *Arch. Anim. Nutr.* 59: 325-334.
- Tricarico JM, Dawson K (1997) The use of exogenous fibrolytic enzymes to enhance microbial activities in the rumen and the performance of ruminant animals. En Lyons TP, Jacques KA (Eds.) *Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Alltech's 15th Annu. Symp.* pp. 303-319.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3592.
- Wang Y, Mcallister TA, Rode LM, Beauchemin KA, Morgavi DP, Nsereko VL, Iwaasa AD, Yang WZ (2001) Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the rumen simulation technique (Rusitec.). *Br. J. Nutr.* 85: 325-332.
- Yang WZ, Beauchemin KA, Rode LM (2000) A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83: 2512-2520.
- Yang WZ, Beauchemin KA, Vedres DD (2002) Effects of pH and fibrolytic enzymes on digestibility, bacterial protein synthesis, and fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 102: 137-151.
- Yescas-Yescas R, Bárcena-Gama R., Mendoza-Martínez GD, González-Muñoz SS, Cobos-Peralta M, Ortega-Cerrilla ME (2004) Digestibilidad *in situ* de dietas con rastrojo de maíz o paja de avena con enzimas fibrolíticas. *Agrociencia* 38: 23-31.