

ENZIMAS FIBROLÍTICAS EXÓGENAS EN LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE CINCO ECOTIPOS DE *Brachiaria*¹

Juan H. Avellaneda-Cevallos², Sergio S. González-Muñoz³, Juan M. Pinos-Rodríguez⁴,
Alfonso Hernández-Garay³, Oziel Dante Montañez-Valdez⁵, José Ayala-Oseguera⁶

RESUMEN

Enzimas fibrolíticas exógenas en la digestibilidad *in vitro* de cinco ecotipos de *Brachiaria*. Este experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Estado de México, México, durante el 25 abril y el 27 noviembre de 2002. Se usó la primera fase de la técnica de Tilley y Terry (3, 6, 12, 24, 48, 72 h incubación) con el objetivo de medir el efecto de un compuesto enzimático fibrolítico exógeno (enzima; Fibrozyme®; 0 y 1,5 g enzima/kg MS) en la digestibilidad *in vitro* (DIV) de MS, FDN y FDA de henos de cinco ecotipos de *Brachiaria* [*brizantha* var. Toledo (BT); *ruziziensis* x *decumbens* CIAT 46024 (RD); *decumbens* var. Señal (DS); *ruziziensis* x *brizantha* CIAT 36061 cv. Mulato (RBM); *brizantha* var. Insurgente (BI)]. La DIVMS a las 48 y 72 h, para 0 y 1,5 g enzima, fue mayor ($p<0,05$) para los ecotipos BT y BI, respecto a RD, DS y RBM. La DIVFDN a las 48 y 72 h, para 0 y 1,5 g enzima, fue mayor ($p<0,05$) para BT y BI, respecto a RD, DS y RBM. La enzima aumentó ($p<0,05$) la DIVFDN sólo para el ecotipo RD a las 72 h; además, incrementó la DIVFDA para BT a 12 h; BT y DS a 24 h; BT, RD y BI a 48 h. Por tanto, las enzimas fibrolíticas aumentaron la digestibilidad *in vitro* de la pared celular de cinco ecotipos de *Brachiaria*.

Palabras clave: Digestibilidad, FDN, FDA, compuesto enzimático, *Brachiaria* sp.

ABSTRACT

Exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* digestibility of five *Brachiaria* cultivars. This experiment was conducted at the Experimental Station the Colegio de Postgraduados, in Montecillo, Estado de México, México, during April 25 and November 27 of 2002. The first phase of the Tilley and Terry technique (3, 6, 12, 24, 48, 72 h incubation) was used with to determine the effect of an exogenous fibrolytic enzymatic compound (Fibrozyme®; 0 and 1.5 g enzyme/kg DM) on *in vitro* digestibility (IVD) of DM, NDF and ADF of hays of five ecotypes of *Brachiaria* [*brizantha* var. Toledo (BT); *ruziziensis* x *decumbens* CIAT 46024 (RD); *decumbens* var. Señal (DS); *ruziziensis* x *brizantha* CIAT 36061 cv. Mulato (RBM); *brizantha* var. Insurgente (BI)]. The IVDDM at 48 and 72 h, for 0 and 1.5 g enzyme, was higher ($p<0.05$) for ecotypes BT and BI, as compared to RD, DS and RBM. The IVDNDF at 48 and 72 h, for 0 and 1.5 g enzyme, was higher ($p<0.05$) for BT and BI, as compared to RD, DS and RBM. The enzymatic compound increased the IVDNDF only for ecotype RD at 72 h. Besides, the enzymatic compound increased the IVDADF for BT at 12 h; BT and DS at 24 h; BT, RD and BI at 48 h. Therefore, the exogenous enzymatic fibrolytic compound increased *in vitro* digestibility of five *Brachiaria* ecotypes.

Key words: Digestibility, NDF, ADF, enzymatic compound, *Brachiaria* sp.



¹ Recibido: 24 de marzo, 2006. Aceptado: 5 de marzo, 2007 Trabajo elaborado como parte de tesis doctoral.

² Unidad de Investigación Científica y Tecnológica, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. Av. Quito. Km 1.5 vía Quevedo-Santo Domingo. Apartado Postal 73. Quevedo, Los Rios, Ecuador. Tel. +593 5 2752177. Correo electrónico: juan_avellaneda@yahoo.com.

³ Colegio de Postgraduados. Programa de Ganadería. Carretera México-Texcoco. Km. 36.5. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. Tel. +595 95 20200 ext. 1715. Correo electrónico: sergiogabriel@colpos.mx y hernan@colpos.mx

⁴ Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México. Correo electrónico: jpinos@uaslp.mx

⁵ División de Bienestar y Desarrollo Regional. Departamento de Desarrollo Regional. CUSUR. Universidad de Guadalajara. Ciudad Guzmán, Municipio de Zapotlán El Grande, Jalisco, México. Tel. +52 341 575 22 22. Ext. 6085. Correo electrónico: montanez77@hotmail.com.

⁶ Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chapingo. Carretera México-Texcoco. Km 38.5 C.P. 56230. Texcoco, Estado de México, México. Correo electrónico: jayala@correo.chapingo.mx

INTRODUCCIÓN

Los forrajes representan la fuente más económica para la alimentación de los rumiantes, principalmente en el trópico donde hay grandes extensiones de tierra dedicadas a la explotación ganadera. En casi todos los países tropicales la expansión de la frontera agrícola llegó a su límite, y el crecimiento actual de la actividad agropecuaria depende en alto grado de la intensificación y tecnificación de la producción.

En las zonas tropicales de México se produjeron 1.333.100.000 litros de leche en el año 2000 (SAGARPA 2000) y 542.724 t de carne en el 2001 (Gallardo *et al.* 2002). El hato ganadero en estas zonas se alimenta principalmente mediante pastoreo en áreas cubiertas por grama nativa y especies introducidas (Gallardo *et al.* 2002). Por tal razón, en estos ecosistemas es importante que los ganaderos dispongan de opciones forrajeras que aumenten la productividad pecuaria, con un enfoque sostenible. Esto permitirá sustituir o complementar especies poco productivas por otras de mayor rendimiento, y con mejores características agronómicas, con las cuales será posible una producción sostenible de la pradera y del hato ganadero.

En este sentido, el género *Brachiaria* tiene gran potencial como recurso genético forrajero, ya que tiene gran capacidad de adaptación a una amplia gama de condiciones edáficas y climáticas (Valle 1990, citado por Enríquez y Romero 1999). En la década de 1980, el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) - México, evaluó varios ecotipos del género *Brachiaria* de los cuales tres fueron formalmente liberados: *B. decumbens* var. Señal o Chontalpo, *B. brizantha* var. Insurgente y *B. humidicola* var. Chetumal, los cuales resultaron sobresalientes en diversos ecosistemas del trópico mexicano (Enríquez y Peralta 1992, citados por Enríquez y Romero 1999).

Sin embargo, las gramíneas tienen una alta concentración de pared celular (65 – 75 %) y baja digestibilidad (45 – 55 %), factores asociados con una reducción en consumo voluntario y menor calidad nutritiva del forraje (Galleán y Goetsch 1993). Por tal motivo, el objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de un compuesto enzimático fibrolítico exógeno en la degradación *in vitro* de la materia seca

y fracciones de la pared celular de cinco ecotipos del género *Brachiaria*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el laboratorio de bromatología del Colegio de Postgraduados ubicado en Montecillo, Estado de México, México entre el 25 de abril y 27 de noviembre del 2002. Se utilizaron cuatro borregos Suffolk (74±2 kg PV) con cánula ruminal y alimentados *ad libitum* (a libertad) con heno de pasto guinea (*Panicum maximum* var. Mombasa), premezcla mineral y agua, en la unidad metabólica para rumiantes, del Programa de Ganadería, de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. Se usaron henos de cinco ecotipos de *Brachiaria* [*brizantha* var. Toledo (BT), *ruziziensis* x *decumbens* CIAT 46024 (RD); *decumbens* var. Señal (DS); *ruziziensis* x *brizantha* CIAT 36061 cv. Mulato (RBM); *brizantha* var. Insurgente (BI)] cortado a una edad de 35 d y henificado a la intemperie en Ciudad Isla, Estado de Veracruz, México, entre el 14 de octubre de 2001 y 11 de enero de 2002.

El compuesto enzimático fibrolítico exógeno (Fibrozyme®, Alltech INC, Nicholasville, KY, U.S.A) es una combinación de extracto de la fermentación de *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* y fermentos solubles, protegidos por técnicas de glucosilación. Su actividad xilanásica es de 100 UI/g (una unidad xilanásica es la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μ mol de xilosa). En los henos se midió materia seca (MS) y orgánica (MO), proteína total (PT; N x 6,25) y cenizas (AOAC 1990); fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA) (Van Soest *et al.* 1991) (Cuadro 1).

Para la digestibilidad *in vitro* (DIV) de la MS (DIVMS) se utilizó la primera fase de la técnica de Tilley y Terry (1963), mezclando saliva artificial (McDougall 1948) y líquido ruminal (relación 4:1). Con una bomba de vacío, se tomó un litro de líquido ruminal de cada borrego, se mezcló, se filtró con cuatro capas de gasa y depositó en un termo (39 °C) para ser gaseado con CO₂.

El medio (40 ml saliva de McDougall y 10 ml de líquido ruminal) se depositó en tubos de propileno

Cuadro 1. Composición química (%)[†] de heno de pasto *Brachiaria* cortado a una edad de 35 d. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2002.

	MS [‡]	MO	PT	FDN	FDA	Cenizas
Toledo	92,18	77,59	8,56	71,30	47,87	22,41
CIAT 46024	92,24	71,10	7,87	70,71	48,12	28,90
Señal	92,77	70,85	6,96	73,40	52,69	29,15
CIAT 36061 cv, Mulato	91,59	78,45	6,47	74,28	53,97	21,55
Insurgente	91,60	77,60	8,42	71,66	49,33	22,40

[†]En base seca.

[‡]MS: materia seca; MO: materia orgánica; PT: proteína; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido.

(100 ml) con 500 mg de heno de pasto *Brachiaria* molido (malla de 1 mm) y secado a 60 °C durante 24 h, sin y con 1,5 g compuesto enzimático/kg MS de *Brachiaria*. Los tubos fueron gaseados con CO₂, tapados para mezclar su contenido y colocados en baño María (39 °C); la incubación se hizo durante 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h y fue detenida por congelación (0 °C). Los tubos fueron descongelados a temperatura ambiente para filtrar su contenido a través de papel filtro 541 (Ø poro 10 µm) y luego secados a 60 °C para medir la DIVMS. En las fracciones de FDN y FDA, la digestibilidad *in vitro* (DIVFDN y DIVFDA) se determinó según Tilley y Terry (1963).

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 5x2 (cinco ecotipos de *Brachiaria*; compuesto enzimático 0 y 1,5 g/kg MS de *Brachiaria*) en los seis tiempos de incubación (3, 6, 12, 24, 48, 72 h). Se usaron tres tubos (repeticiones) para cada ecotipo y la prueba de digestibilidad se hizo en dos corridas, para utilizar cada tubo como submuestra e incluir la interacción tratamiento x corrida como término de error en el modelo (Pinos-Rodríguez *et al.* 2002a). El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + A_j + B_k + AB_{jk} + \epsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Valor de la variable respuesta en la corrida i , ecotipo de *Brachiaria* j , g del compuesto enzimático k .

μ = Media general
 C_i = Efecto de la corrida i
 A_j = Efecto del ecotipo de *Brachiaria* j
 B_k = Efecto de g del compuesto enzimático k
 AB_{jk} = Efecto de la interacción ecotipo de *Brachiaria* j y g del compuesto enzimático k
 ϵ_{ijkl} = Error experimental

Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1999) y las diferencias de medias fueron comparadas usando la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La DIVMS no fue diferente ($p > 0,05$) entre los ecotipos durante las primeras 24 h de incubación (Cuadro 2), probablemente porque ese tiempo no es suficiente para cambiar esta variable u observar posibles cambios. Este resultado concuerda con Avellaneda-Cevallos *et al.* (2003), quienes no encontraron diferencias en la DIVMS de heno de pasto guinea (*Panicum maximum* var. Mombasa) de 35 y 90 d durante las primeras 48 h de incubación.

La DIVMS de los henos de los ecotipos DS y RBM fue menor ($p < 0,05$) respecto a BT y BI a las 48 y 72 h; mientras que la DIVMS de RD y RBM fue más alta ($p < 0,05$) que la de DS a las 72 h. Estos resultados concuerdan con Herrero *et al.* (2001)

Cuadro 2. Efecto del compuesto enzimático fibrolítico exógeno en la desaparición (%) *in vitro* de MS de heno de cinco ecotipos de *Brachiaria*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2002.

Incubación (h)	Toledo (BT)		CIAT 46024 (RD)		Señal (DS)		CIAT 36061 cv. Mulato (RBM)		Insurgente (BI)		EEM [§]
	0,0 [£]	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	
3	20,77a	20,02a	15,04abc	15,10abc	10,99c	13,93abc	12,92bc	13,00abc	16,50abc	15,61abc	1,27
6	21,65a	21,96a	18,57a	20,12a	15,17a	17,26a	13,91a	14,94a	19,81a	18,27a	1,52
12	23,89ab	25,42a	20,42ab	21,67ab	21,13ab	20,88ab	17,92b	19,70ab	25,69a	21,61ab	1,07
24	33,73a	32,63a	30,49abc	28,73abc	24,95bc	25,86bc	24,50c	25,44bc	34,00a	31,26ab	1,14
48	50,24a	49,36a	42,71bcd	41,04cde	37,45e	36,63e	37,15e	39,15ed	47,14ab	45,61abc	0,87
72	58,22a	56,18a	49,41b	50,01b	43,56c	43,67c	48,47b	49,44b	57,05a	55,82a	0,51

a, b, c, d, e Medias con diferentes letras en una hilera, son diferentes ($p < 0,05$).

[£] g compuesto enzimático/kg MS *brachiarias*

[§] EEM: error estándar de la media.

quienes reportaron diferencias en la DIVMS entre varios ecotipos de *Brachiaria*, aunque *B. ruziziensis* es más digerible, seguida por *B. decumbens*, mientras que *B. brizantha* y *B. humidicola* tiene la menor digestibilidad. Esto último difiere con lo observado en la presente investigación, ya que la digestibilidad de los henos de los ecotipos de *brizantha* presentaron mejor ($p < 0,05$) digestibilidad que los de *B. decumbens*. Tal diferencia puede deberse a factores como características agronómicas de los ecotipos, efectos climáticos, recolección de las muestras y su manejo.

La DIVMS para el heno del ecotipo DS fue menor ($p < 0,05$) en 23,7; 12,3; 10,91 y 22,7 %, cuando se comparó con BT, RD, RBM y BI.

El compuesto enzimático no mejoró ($p > 0,05$) la DIVMS de los ecotipos de *Brachiaria* (Cuadro 2). De manera similar, el tratamiento con un compuesto enzimático no cambió la DIVMS en heno de trigo a las 24 h (Pollard *et al.* 2001), en heno de pasto guinea (*Panicum maximum* var. Mombasa) de 3 a 72 h (Avellaneda-Cevallos *et al.* 2003), en festuca (*Festuca arundinacea*) después de 18 h (Tricarico *et al.* 1998), en heno de alfalfa (*Medicago sativa*) de 0 a 36 h (Titi *et al.* 1998), ni en heno de pasto ballico (*Lolium perenne*) a las 48 y 72 h, y de alfalfa a las 24 y 72 h (Pinos *et al.* 2001). Sin embargo, el uso de un compuesto enzimático ha mejorado la DIVMS de heno de alfalfa (Pollard *et al.* 2001) y de festuca en las

primeras 12 h (Tricarico *et al.* 1998); además, según Pinos *et al.* (2001), aumentó la DIV de la MO del heno de ballico (48 h) y de alfalfa (24, 48 y 72 h). En este caso, las diferencias en los resultados puede deberse a factores como tipo y manejo de las muestras de forraje, así como técnicas y equipo de laboratorio empleados para medir la digestibilidad *in vitro*.

La DIVFDN (Cuadro 3) a las 48 y 72 h para los henos de los ecotipos BT y BI fue mayor ($p < 0,05$) respecto a RD, DS y RBM; además, el compuesto enzimático aumentó ($p < 0,05$) la DIVFDN a las 72 h del heno de RD. Lo anterior se puede deber, en parte, a diferencias entre componentes de la pared celular de los ecotipos, y porque las enzimas del compuesto requieren varias horas para cambiar la digestibilidad de la FDN. En los demás tiempos y ecotipos no hubo diferencia ($p > 0,05$) entre el testigo (sin compuesto enzimático) y la adición de 1,5 g del compuesto enzimático (Cuadro 3). Al respecto, Avellaneda-Cevallos *et al.* (2003) observaron incrementos en la DIVFDN ($p < 0,05$) a las 3, 6 y 12 h sólo para heno de guinea (*Panicum maximum* var. Mombasa) de 90 d, aunque a las 24, 48 y 72 h la DIVFDN fue mayor ($p < 0,05$) para guinea de 35 d; además, la enzima (1,5 g) aumentó ($p < 0,05$) la DIVFDN para guinea de 35 d (a las 48 h) y de 90 d (a las 72 h). Mandebvu *et al.* (1999) encontraron que la DIVFDN fue mayor ($p < 0,05$) para un pasto bermuda (*Cynodon dactylon*) cosechado cada 21 d comparado con otro cosechado cada 42 d, pero

Cuadro 3. Efecto del compuesto enzimático fibrolítico exógeno en la desaparición (%) *in vitro* de FDN de heno de cinco ecotipos de *Brachiaria*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2002.

Incubación (h)	Toledo (BT)		CIAT 46024 (RD)		Señal (DS)		CIAT 36061 cv. Mulato (RBM)		Insurgente (BI)		EEM [¶]
	0,0 [£]	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	
3	17,92ab	17,14ab	14,86b	17,59ab	17,76ab	18,07ab	15,56ab	17,47ab	18,09ab	18,77a	0,64
6	18,20a	18,91a	18,07a	22,19a	18,56a	19,74a	17,60a	17,13a	21,49a	22,74a	1,03
12	19,23a	22,79a	20,65a	18,64a	19,91a	19,61a	18,51a	19,64a	22,57a	22,71a	0,89
24	29,49ab	28,80ab	27,24bc	29,00abc	26,00bc	26,69bc	25,34c	26,12bc	32,00a	33,07a	0,71
48	45,68,abc	45,10bc	37,15e	41,70cde	38,18de	43,05cde	39,51de	41,42cde	47,44ab	51,03a	0,93
72	58,25a	58,29a	42,41e	49,26bcd	42,80de	44,64cde	49,57bc	50,94bc	54,73ab	58,49a	1,14

a, b, c, d, e Medias con diferentes letras en una hilera, son diferentes (p<0,05),

£ g enzima/kg MS *brachiarias*

¶ EEM: error estándar de la media.

no hubo efecto de un compuesto enzimático exógeno. Sin embargo, según Pinos *et al.* (2002b), el compuesto enzimático incrementó (p<0,05) la DIVFDN de heno de alfalfa y de pasto ballico.

La DIVFDA (Cuadro 4) fue mayor (p<0,05) a las tres horas para los henos de los ecotipos BT, RBM y BI comparados con el RD. Además, el compuesto enzimático aumentó (p<0,05) la DIVFDA para BT (12, 24 y 48 h), DS (24 h), RBM (48 h), BI (48 h). Al

respecto, la DIVFDA de heno de guinea de 35 d, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72, y de guinea de 90 d a las 24 y 72 h fue mayor (p<0,05) cuando se usó el compuesto enzimático (Avellaneda-Cevallos *et al.* 2003). No obstante, Pinos-Rodríguez *et al.* (2002b) no observaron diferencias en la digestibilidad *in vitro* de la FDA de heno de alfalfa y de pasto ballico, al agregar un compuesto enzimático fibrolítico exógeno. La diferencia entre los resultados de este experimento y los publicados por otros investigadores puede deberse al tipo de forraje.

Cuadro 4. Efecto del compuesto enzimático fibrolítico exógeno en la desaparición (%) *in vitro* de FDA de heno de cinco ecotipos de *Brachiaria*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2002.

Incubación (h)	Toledo (BT)		CIAT 46024 (RD)		Señal (DS)		CIAT 36061 cv. Mulato (RBM)		Insurgente (BI)		EEM [¶]
	0,0 [£]	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,0	1,5	
3	6,00abc	9,08a	0,31d	-2,09d	3,02bcd	1,62cd	7,55ab	10,48a	9,80a	9,54a	0,95
6	7,75abc	9,96abc	1,95c	3,10bc	3,78abc	9,37abc	9,65abc	12,55a	4,58abc	11,34ab	1,54
12	7,52cd	14,73ab	3,33d	6,88cd	10,03bc	12,73ab	14,32ab	16,58a	15,16a	14,27ab	0,88
24	12,80cd	21,35ab	12,70cd	15,28bcd	11,42d	19,49abc	19,42abc	21,69ab	22,50a	21,76ab	1,22
48	32,43de	39,21b	21,07g	28,68ef	25,12fg	28,19ef	32,49cde	37,85bcd	38,85bc	45,62a	1,11
72	43,47abc	48,42a	30,69d	36,11bcd	34,22cd	34,30cd	41,56abc	44,14abc	45,97ab	48,42a	1,80

a, b, c, d, e, f Medias con diferentes letras en una hilera, son diferentes (p<0,05).

£ g enzima/kg MS *brachiarias*

¶ EEM: error estándar de la media.

CONCLUSIONES

Con base a las condiciones experimentales descritas, se concluye que los henos de los ecotipos de *B. brizantha* presentaron mejor DIVMS (24, 48 y 72 h) y DIVFDN (48 y 72 h) comparados con los de *B. decumbens*.

El compuesto enzimático aumentó la DIVFDN para FDN a las 72 h del heno de ruziziensis x decumbens CIAT 46024 (RD); en los demás tiempos y ecotipos no hubo cambios en la DIVFDN.

La DIVFDA no fue diferente entre los ecotipos a las 6, 12, 24, 48 y 72 h. Sin embargo, el compuesto enzimático incrementó la DIVFDA de los ecotipos *B. brizantha* var. Toledo (BT; 12, 24 y 48 h), *B. decumbens* var. Señal (DS; 24 h), *B. ruziziensis* x *B. brizantha* CIAT 36061 cv. Mulato (RBM; 48 h), *B. brizantha* var. Insurgente (BI; 48 h).

De acuerdo con estos resultados experimentales, el compuesto enzimático fibrolítico exógeno empleado tuvo efectos positivos en la degradación *in vitro* de algunas fracciones de la pared celular, principalmente de la FDA, en los henos de los cinco ecotipos de pasto *Brachiaria*.

LITERATURA CITADA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis (15 ed.). Washington, DC. 1298 p.
- AVELLANEDA-CEVALLOS, J.H.; GONZÁLEZ, S.S.; PINO-RODRÍGUEZ, J.M.; HERNÁNDEZ, A.; BARCENA, R.; COBOS, M.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, D.; MONTANEZ-VALDEZ, O. 2003. Effect of exogenous fibrolytic enzymes (Fibrozyme) on dry matter and cell wall *in vitro* digestibility of guinea grass (*Panicum maximum* var. Mombasa) hay. J. Animal Sci (Suppl. 1):334 (Abstr.).
- ENRÍQUEZ, J. F.; ROMERO, J. 1999. Tasa de crecimiento estacional a diferentes edades de rebrote de 16 ecotipos de *Brachiarias* spp. en Isla, Veracruz. Agrociencia. 33:141-148.
- GALLARDO, N.J.L.; GARCÍA, C.M.; ALBARRAN, M.; OCHOA, R.; ORTEGA, C. 2002. Situación actual de la producción de carne de bovino en México. Claridades Agropec. 109:3-28.
- GALYEAN, M. L.; GOETSCH, A. L. 1993. Utilization of forage fiber by ruminants. In: H. Jung, D. Buxton, R. Hatfield and J. Ralph. eds. Forage Cell Wall Structure and Digestibility. American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. p. 33-71.
- HERRERO, M.; DO VALLE, C.B.; HUGHES, N.R.G.; SABATEL, V.; JESSOP, N.S. 2001. Measurements of physical strength and their relationship to the chemical composition of four species of *Brachiaria*. Anim. Feed Sci. Tech. 92:149-158.
- MANDEBVU, P.; WEST, J.W.; FROETSCHER, M.A.; HATFIELD, R.D.; GATES, R.N.; HILL, G.M. 1999. Effect of enzymes or microbial treatment of Bermudagrass forages before ensiling on cell wall composition, end products of silage fermentation and *in situ* digestion kinetics. Anim. Feed Sci. Tech. 77:317-329.
- McDOUGALL, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. Biochem. J. 70:99-109.
- PINOS, J.M.; GONZÁLEZ, S. S.; MENDOZA, G.; BÁRCENA, R.; COBOS, M. 2001. Efecto de enzimas fibrolíticas glucosiladas en la digestibilidad *in vitro* de MS y MO de alfalfa (*Medicago sativa*) y ballico (*Lolium perenne*). Rev. Fac. Agro. (LUZ) 18:505-509
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; GONZÁLEZ, S. S.; MENDOZA, G. D.; BÁRCENA, R.; COBOS, M. 2002a. Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la digestibilidad *in vitro* de la pared celular de heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o de ballico (*Lolium perenne*). Interciencia. 27:28-32.
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; GONZÁLEZ, S. S.; MENDOZA, G. D.; MARTÍNEZ, A. 2002b. Análisis estadístico de experimentos de digestibilidad *in vitro* con forrajes. Interciencia. 27:143-146.

- POLLARD, G.; WRIGHT, W.; BRAMBL, T.; RICHARDSON, C.; COBB, C. 2001. Effects of liquid feed supplementation and (or) cellulolytic enzymes on dry matter disappearance of either legume or grass hay. *J. Dairy Sci.* 84 (Suppl. 1):37 (Abstr).
- SAGARPA. 2000. Situación actual y perspectivas de la producción de leche de ganado bovino en México 1990-2000. 87 p.
- SAS (Statistical Analysis System). 1999. User's guide: Statistics [CD-ROM Computer file]. North Carolina, USA. Version 8. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- TILLEY, J.M.; TERRY, R. A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grass. Soc.* 28:104-111.
- TITI, H.H.; RICHARDSON, C.R.; COBB, C.W. 1998. Effects of fibrolytic enzyme treatment on forage dry matter and organic disappearance. *J. Animal Sci.* 76 (Suppl. 1):293 (Abstr.).
- TRICARICO, J.M.; DAWSON, K.A.; NEWMAN, K. E. 1998. Effects of an exogenous microbial enzyme preparation (Fibrozyme) on ruminal digestion of fescue hay. *J. Animal Sci.* 76 (Suppl. 1):289 (Abstr.).
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 74:3583-3597.