

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL



**“APLICACIÓN DE CELULASAS O XILANASAS PARA MEJORA EN
LA DIGESTIÓN RUMINAL *in vitro* EN TRES RESÍDUOS DE
COSECHA”**

Presentada por:

EDIS GEOVANNY MACÍAS RODRÍGUEZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE *DOCTORIS PHILOSOPHIAE*
EN CIENCIA ANIMAL**

Lima - Perú

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL

**“APLICACIÓN DE CELULASAS O XILANASAS PARA MEJORA EN
LA DIGESTIÓN RUMINAL *in vitro* EN TRES RESÍDUOS DE
COSECHA”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
Doctoris Philosophiae (Ph. D.)**

Presentada por:

EDIS GEOVANNY MACÍAS RODRÍGUEZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

**Dra. Ana Kitazawa Sugahara
PRESIDENTE**

**Dr. Carlos Gomez Bravo
PATROCINADOR**

**Dra. María Elena Villanueva Espinoza
MIEMBRO**

**Dr. Mariano Echevarría Rojas
MIEMBRO**

**Dr. Felipe Antonio San Martín Howard
MIEMBRO EXTERNO**

RESUMEN

Se evaluó la composición química y digestibilidad *in vitro* de la panca de maíz (PM), broza de espárrago (BE) y cáscara de maní (CM) mediante la aplicación de celulasas (EC 3.2.1.4) o xilanasas (EC 3.2.1.8) en niveles de 0 (control), 2000, 4000 y 8000 UI/kg MS (kilogramos de materia seca), utilizando líquido ruminal durante las 48 h de incubación. La PM mostró mayor contenido de hemicelulosa (33,7%), la BE reportó mayor cantidad de proteína cruda (PC) (10,5%) y una mayor proporción de lignina detergente acida (LDA) en CM (33,5%). Al aplicar celulasas a la PM, la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la digestibilidad *in vitro* de fibra detergente neutra (DIVFDN) fueron mayores ($p < 0,001$) que cuando no se aplicaron enzimas (63,7 vs 61,8% y 51,9 vs 50,1%). Efectos similares se encontraron con xilanasas (64,1 vs 61,8% y 53,0 vs 51,6%). La DIVMS y DIVFDN de la BE no se afectaron por la aplicación de celulasas o xilanasas. En el caso de la CM, la aplicación de celulasas o xilanasas mejoró la DIVMS (23,7 vs 22,3% y 24,3 vs 22,3%) pero no la DIVFDN. La producción de gas *in vitro* a las 48 h no fue influenciada por la adición de las enzimas ni por sus niveles de aplicación en ninguno de los residuos evaluados. Así mismo, las celulasas o xilanasas aplicadas sobre PM y BE, no influyeron sobre la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt; ácido acético, propionico y butírico). En el caso de CM, la concentración de AGVt fue similar entre el control y el aplicado con celulasas mientras que la aplicación de xilanasas resultó en menor concentración de AGVt que el sin tratamiento enzimático. En conclusión, los resultados indican que el tratamiento con celulasas o xilanasas influyen la DIVMS, DIVFDN y la producción de AGVt, dependiendo del sustrato utilizado.

Palabras claves: cáscara de maní, panca de maíz, broza de espárrago

ABSTRACT

The chemical composition and *in vitro* digestibility of corn stover (CS), asparagus browse (AB) and peanut hulls (PH) were evaluated through the application of cellulases (EC 3.2.1.4) or xylanases (EC 3.2.1.8) at levels of 0 (control), 2000, 4000 and 8000 IU / kg DM (kilogram of dry matter), using rumen fluid during 48 h of incubation. The CS showed greater hemicellulose content (33.7%), AB reported the largest amount of crude protein (CP) (10.5%) and a higher proportion of acid detergent lignin (ADL) in PH (33.5%). Applying cellulases on CS resulted in higher *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and *in vitro* neutral detergent fiber digestibility (IVNDFD) ($p < 0.001$) than when no enzymes was applied (63.7 vs 61, were applied 8% and 51.9 vs 50.1%). Similar effects were found with xylanases (64.1 and 53.0 vs 61.8% vs 51.6%). IVDMD and IVNDFD of AB were not affected by the application of either xylanases or cellulases. As for PH, the application of cellulases or xylanases improved IVDMD (23.7 vs 22.3% and 22.3% vs 24.3) but not the IVNDFD. Gas production *in vitro* after 48 h was not influenced by the type of enzymes or its levels of applications to the evaluated by-products. Cellulases or xylanases applied on AB or CS, did not influence the total volatile fatty acids (VFAt; acetic acid, propionic and butyric) concentration. For PH, VFAt concentration was similar between control and cellulases applied treatments while applying xylanases resulted in lower VFAt concentration than the treatment without enzymatic application. In conclusion, the results indicate cellulases or xylanases application influenced IVDMD, IVNDFD and AGVt production, depending on the substrate used.

Keywords: peanut hulls, corn stover, asparagus browse.

054.
M32
T

ÍNDICE

Pág.

Dedicatoria

Agradecimiento

Resumen

Abstract

Índice

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
	2.1. Disponibilidad de residuos de cosecha y su uso en la alimentación de rumiantes	3
	2.1.1. Broza de espárrago	4
	2.1.2. Panca de maíz	6
	2.1.3. Cáscara de maní	7
	2.2. Estructura y composición química de la fibra	9
	2.2.1. Hemicelulosas	11
	2.2.2. Celulosa	11
	2.2.3. Pectina	12
	2.2.4. Lignina	12
	2.3. Digestión de la fibra en el rumen	14
	2.3.1. La utilización de la fibra por microorganismo en el rumen	14
	a. Celulasas (EC 3.2.1.4)	17
	b. Xilanasas (EC 3.2.1.8)	17
	2.3.2. El uso de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes.	18

13954

a.- Modo de acción enzimática	18
b.-Factores que afectan la acción de la enzima fibrolítica exógena sobre la digestión ruminal	18
c.- Efecto de la utilización de la enzimas fibrolíticas exógenas	20
III. MATERIALES Y METODOS	23
3.1. Hipótesis planteada	23
3.2. Ubicación y duración de la investigación	23
3.3. Técnicas utilizadas	23
3.4. Caracterización de la composición química de los residuos de cosecha	25
3.4.1. Comparación de acuerdo a las zonas de disponibilidad y estaciones de año de los residuos de cosecha	26
a. De acuerdo a las zonas de disponibilidad de los residuos de cosecha	26
b. De acuerdo a las estaciones del año	26
3.4.2. Composición química específica del componente fibroso	26
3.5. Efecto de la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de los residuos de cosecha	27
3.5.1. Enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas	27
3.5.2. Niveles aplicados de enzimas fibrolíticas exógenas	27
a. Determinación de la digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca y sus componentes de la pared celular	29
b. Medición de producción de gas en digestibilidad <i>in vitro</i>	29
c. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) en el fluido ruminal	29
3.6. Análisis estadísticos	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. Caracterización de la composición química de los residuos de cosecha	31
4.1.1. Comparación de acuerdo a las zonas de disponibilidad y estaciones de año de los residuos de cosecha	31
a. De acuerdo a las zonas de disponibilidad de los residuos de	

cosecha	31
b. De acuerdo a las estaciones del año (invierno y verano)	32
4.1.2. Composición química específica del componente fibroso	33
4.2. Efecto de la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de los residuos de cosecha	35
4.2.1. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca y la fibra detergente neutra	35
4.2.2. Producción de gas <i>in vitro</i>	37
4.2.3. Concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) en el fluido ruminal	40
V. CONCLUSIONES	43
VI. RECOMENDACIONES	45
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46
VIII. ANEXOS	60

INDICE DE TABLAS

1.	Composición química porcentual de la broza de espárrago (base seca), según diferentes autores	5
2.	Composición química porcentual de la panca de maíz (base seca), según diferentes autores	6
3.	Composición química porcentual de la cáscara de maní (base seca), según diferentes autores	8
4.	Análisis de varianzas entre los niveles de enzimas	30
5.	Composición de la composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los residuos de cosecha de acuerdo a las zonas de disponibilidad	31
6.	Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los residuos de cosecha a las estaciones del año (invierno y verano)	33
7.	Composición química específica del componente fibroso en base seca (%)	34
8.	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%) aplicando celulasas o xilanasas a los residuos de cosecha a 48 h de incubación	37
9.	Producción de gas <i>in vitro</i> (mL/g.MO) aplicando celulasas o xilanasas a los residuos de cosecha	39
10.	Concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt, ácido acético, propionico y butírico después de la digestibilidad <i>in vitro</i> a 48 h en residuos de cosecha aplicando celulasas o xilanasas	42

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Estructura de la pared celular de los vegetales	10
2.	Producción de gas <i>in vitro</i> (mL/g.MO) en panca de maíz (3 h) y cáscara de maní (6 h) aplicando celulasas	38
3.	Producción de gas <i>in vitro</i> (mL/g.MO) en broza de espárrago (12 h) aplicando xilanasas	39

INDICE DE ANEXOS

1. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para la broza de espárrago (*Asparragus officiliaris*) 60
2. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para la panca de maíz (*Zea mays*) 61
3. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para la cáscara de maní (*Arachis hypogaea*) 62

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
AGVt	Ácidos grasos volátiles totales
BE	Broza de espárrago
Ca	Calcio
Cen	Cenizas
CM	Cáscara de maní
DIVCEL	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la celulosa
DIVFDA	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la fibra detergente ácida
DIVFDN	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la fibra detergente neutra
DIVHEM	Digestibilidad <i>in vitro</i> de las hemicelulosas
DIVMO	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica
DIVMS	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca
EC	Comisión de enzimas
EE	Extracto etéreo
EEM	Error estándar de la media
EFE	Enzimas fibrolíticas exógenas
ELN	Extracto libre de nitrógeno
EN ₁	Energía neta de lactancia
eq a CO ₂	Equivalente a dióxido de carbono
FC	Fibra cruda
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
g. MO	Gramos de materia orgánica
has	Hectáreas
Kg.MS	Kilogramos de materia seca
LDA	Lignina detergente ácida
Mcal	Megacalorías
MO	Materia orgánica
MS	Materia seca
PC	Proteína cruda
PM	Panca de maíz
PNA	Polisacáridos no amiláceos
PSI	Libra por pulgada cuadrada
TM	Toneladas métricas
UI	Unidades Internacionales
μmol	Micromoles

I. INTRODUCCIÓN.

Algunos autores han reportado que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) producen un incremento en la digestibilidad de forrajes y subproductos fibrosos que consumen los rumiantes (Beauchemin et al., 1995; Meale et al., 2013; Adesogan et al., 2014). Las EFE pueden mejorar la palatabilidad mediante la hidrólisis de un alimento, que resulta en liberación de los hidratos de carbono solubles y modificación de las fibras mediante la reducción de sus barreras estructurales (McAllister y Cheng, 1996; Colombatto et al., 2003). Recientes investigaciones *in vitro* e *in vivo* indican una mayor producción lechera, ganancia de peso, eficiencia en conversión alimenticia (Holtshause et al., 2011) y reducción de gases de efecto invernadero por cada kilogramo de leche o carne (Flachowsky y Kamphues, 2012; Mendoza, et al., 2014) al suministrar EFE en la dieta. Sin embargo, también existen resultados inconsistentes, sobre todo al evaluar alimentos con alto contenido fibroso (Sutton et al., 2003; Beauchemin y Holtshausen, 2010; Adesogan et al., 2014).

En el Perú se han establecido empresas agroindustriales dedicadas principalmente a la exportación de espárragos (*Asparagus officinalis*) que generan apreciables volúmenes de residuos de cosecha y subproductos de la agroindustria, que han sido evaluados con resultados exitosos especialmente en vacunos para la producción lechera (Carrasco, 1994). De la misma forma el cultivo de maíz duro (*Zea mays*), es el tercer cultivo de importancia a nivel nacional, pero solo cubre el 40% de la demanda de alimentos para cerdos y aves. La disponibilidad de broza de espárrago fue de un millón y panca de maíz diez millones de toneladas métricas en el Perú en el año 2013 respectivamente. (MINAGRI, 2014). En Ecuador el maní (*Arachis hypogaea*), es un cultivo tradicional, su producción se destina específicamente al consumo interno y para la industria de aceite comestible. En el año 2012 la disponibilidad de cáscara de maní se estimó en de 8400 toneladas métricas (FAO, 2013).

Una de las principales justificaciones para realizar este trabajo es dar alternativas al uso de residuos de cosecha como alimentación para la ganadería bovina, entre ellos el uso de broza de espárrago, panca de maíz y cáscara de maní, como fuentes alimenticias no convencionales de alta disponibilidad en la alimentación para rumiantes. Además, por cultura de manejo los ganaderos utilizan los residuos de cosecha como fuente forrajera para el aporte de fibra necesaria en vacunos en época de escasez o sequías, convirtiéndose en la solución de los problemas presentes (FAO, 2010). Por otro lado, al no utilizarse los residuos de cosecha, el agricultor procede a la quema, motivo por el cual crea un impacto negativo ya que genera miles de toneladas de equivalente (eq) a CO₂. Para el año 2009, según la actualización del inventario nacional de gases de efecto invernadero, en el Perú se generó 138 toneladas métricas (TM) de eq CO₂, de las cuales 26,6 TM eq CO₂, corresponde a la agricultura (19%) donde incluye la quema (Gómez et al., 2013 b).

En América Latina existe limitada información respecto al uso de las EFE. Recientemente se ha evaluado aditivos químicos y biológicos en la mejora de la digestibilidad y consumo voluntario de los alimentos (Aranda et al., 2010; Carreón et al., 2010). La disponibilidad y bajos costos de residuos de cosecha, como la panca de maíz, la broza de espárrago y la cáscara de maní, entre otros, determina que los hatos ganaderos se racionen con residuos de cosecha con altos contenidos de fibras. Este trabajo tuvo por objetivo evaluar la composición química por disponibilidad y estación del año, además el efecto de celulasas (EC 3.2.1.4) o xilanasas (EC 3.2.1.8) sobre la digestibilidad *in vitro* de la broza de espárrago, la panca de maíz y la cáscara de maní utilizadas en rumiantes, considerando la posibilidad de que tenga aplicación en el campo, con la expectativa de obtener un incremento en la productividad vacuna dentro de un marco amigable con el medio ambiente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Disponibilidad de residuos de cosecha y su uso en la alimentación de rumiantes

Los residuos de cosecha son las partes de las plantas que quedan en el campo después de tirar el cultivo principal (por ejemplo panca de maíz, paja de cereales, bagazo de caña de azúcar, heno de maní). Los residuos pueden ser pastoreados, procesados como un alimento seco, o convertidos a ensilaje (Barrena et al., 2010), siendo algunas características generales de la mayoría de residuos las siguientes:

- Son alimentos baratos y voluminosos.
 - Son altos en fibra indigestible debido a su contenido alto de lignina.
 - Bajos en proteína cruda.
 - Requieren suplementación adecuada especialmente con proteína y minerales.
 - Deben ser picados antes de ser usados en la alimentación.
 - Pueden ser incluidos en las raciones de rumiantes de bajo nivel de producción.
- (Barrena et al., 2010)

En el campo o lugar de procesamiento de agroindustriales se generan importantes volúmenes de material vegetal que son utilizados como alimento para los rumiantes, siendo en otros casos desechado, a pesar que estos materiales pueden constituir importante fuente de alimento para el ganado (Klopfenstein, 1978). En Sudamérica se produce 380 millones de toneladas métricas al año y en el Perú, casi 16 millones de toneladas métricas de residuos de cosecha por año, de los campos y fábricas de los procesos agroindustriales (Barrena et al., 2010).

2.1.1. Broza de espárrago

El espárrago (*Asparragus officinalis*) es cultivado mayormente en la costa peruana. En la actualidad el Perú es el primer exportador de espárrago del mundo, habiendo logrado desplazar importantes países productores como China y Estados Unidos, y ser reconocido mundialmente por la calidad de su producto. En las regiones de La Libertad, Ica y Lima, son las de mayor producción, por tal razón se han establecido empresas agroindustriales dedicadas principalmente a su cultivo para exportación generando apreciables volúmenes de residuos de cosecha y subproductos, los mismos que han sido evaluados y actualmente se utilizan en la alimentación ganadera principalmente en vacunos para la producción lechera con resultados exitosos (Egure, 2003; Chávez, 2007).

La broza verde de espárrago es la parte aérea de la planta que está compuesta por un conjunto de ramas delgadas y cilíndricas que proceden de un conglomerado de yemas, lo que a su vez se origina de un conjunto de raíces denominada corona. Estas yemas al crecer dan origen a los tallos suculentos que inicialmente no se ramifican y cuando se cosechan tiernos, son los turiones. La broza de espárrago (BE) como forraje en la alimentación de bovinos puede utilizarse de tres formas distintas: como broza verde, heno y ensilaje (Fung, 1994; Landeo, 1992).

Según las estadísticas del Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI, 2013) en el 2013 se produjo un millón de TM de broza de espárrago aproximadamente según un estudio de Morillo (2010). La BE tiene una composición química muy cercana a la de la alfalfa, valores de proteína superior a la chala de maíz y con una buena cantidad de extracto libre de nitrógeno (carbohidratos solubles) y fibra cruda. El alto nivel de fibra se debe principalmente al estado de madurez de la planta al momento de la cosecha comercial de los turiones. Los meses de mayores cosecha son de marzo a junio (invierno) y de octubre a diciembre (verano), que son las épocas de mayor demanda (Chávez, 2007; López, 2010).

Tabla 1: Composición química porcentual de la broza de espárrago (base seca), según diferentes autores.

Componentes	Krüger (1968)	Landeo (1992)	Lindo (1993)	Carrasco (1994)	Fung (1994)	Promedios
Proteína cruda %	17,4	15,2	15,2	14,1	11,0	14,6
Fibra cruda %	33,0	39,8	39,8	46,4	51,1	42,0
Extracto etéreo %	2,7	1,3	1,3	3,7	1,3	2,1
ELN %	37,4	39,1	39,1	28,1	29,6	34,7
Cenizas %	9,3	4,6	4,6	7,7	7,0	6,6

ELN= Extracto libre de nitrógeno.

La composición química de la BE en base seca en promedio de acuerdo a varios autores para proteína cruda fue 14,6 % y 42,0 % de fibra cruda, siendo una buena cantidad de fibra necesaria para los rumiantes para la actividad microbiana en el rumen y un promedio de cenizas 6,6%, que aporta minerales necesarios para cubrir los requerimientos nutricionales (tabla1). La BE es utilizada en forma limitada en la alimentación de rumiantes por su bajo valor nutricional y palatabilidad (López, 2010). Según Carrasco (1994) en un estudio de composición química, degradabilidad y digestibilidad de la broza de espárrago encontró una digestibilidad *in vivo* de 70% para la materia seca, variando de 63,6 a 79,6 % en sus diferentes componentes químicos como la proteína, grasa, fibra y extracto libre de nitrógeno. Así mismo, la degradabilidad ruminal a las 48 h de incubación de la BE fue de 60%, tanto para materia seca y materia orgánica y de 41% para la fibra cruda.

La evaluación en respuesta animal según Pebe (1997) utilizó tres niveles de heno de BE sobre engorde de vacuno, llegó a indicar que las mayores ganancias de peso diario, rendimiento a la canal y mejor rédito económico fue durante la fase experimental de 120 días y correspondieron en aquellos que consumieron 24% de heno de BE en la dieta con un costo más económico. Meza (2007), también realizó un estudio sobre el uso de la BE en ganadería lechera en la Cuenca de Región La Libertad, encontrando que la BE verde con un 20% de materia seca aproximadamente se puede ofrecer 43 a 46 kg/vaca/día, si la producción de leche está cerca de los 30 kg/día. De igual manera ese autor recomienda suministrar en terneras de levante de acuerdo a su edad, entre 8 a 14 kg/ternera/día.

2.1.2. Panca de maíz

El maíz (*Zea mays*) es una planta monoica capaz de reproducirse por sí sola, sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Si bien la planta es de rápido crecimiento que le permite alcanzar hasta los 2,5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido; algunas variedades silvestres alcanzan los 7 m de altura. El tallo está compuesto a su vez por tres capas: una epidermis exterior, impermeable y transparente, una pared por donde circulan las sustancias alimenticias y una médula de tejido esponjoso y blanco donde almacena reservas alimenticias, en especial azúcares. (Serratos, 2009).

Se denomina panca de maíz (PM), a la planta de maíz maduro (seca) del que se le han sacado las mazorcas. Este forraje es de gran valor celulolítico para los vacunos, especialmente si se usa picado y rociado con melaza diluida en agua. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que es un recurso fibroso, con bajo contenido de proteínas y aportes limitados de energía. Al cosechar el rastrojo de maíz, éste puede incluirse en raciones con niveles hasta el 20 y 60%. Según la dinámica agropecuaria de la Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos del Ministerio de Agricultura y Riego del Perú, para el 2013 se cultivó alrededor de 560 mil has a nivel nacional de maíz duro, con mayor cantidad en La Libertad, Cajamarca, Loreto, San Martín y Lima (MINAGRI, 2014).

Tabla 2: Composición química porcentual de la panca de maíz (base seca), según diferentes autores.

Componentes	Llamas et al. (1986)	Phiri et al. (1992)	Yesca et al. (2004)	Feedstuffs (2005)	Díaz et al. (2013)	Promedios
Materia seca (%)	90,7	87,0	92,7	85,0	-	88,9
Cenizas (%)	-	3,9	8,0	7,2	4,5	5,9
Proteína cruda (%)	5,5	4,0	6,2	5,9	3,1	4,9
Fibra detergente neutra (%)	73,4	-	69,2	-	85,6	76,0
Fibra detergente ácido (%)	43,0	30,0	48,0	-	45,6	41,7

Como se observa en la tabla 2, la composición química según el promedio reportado por algunos autores, la proteína cruda es de 4,9 %, cantidad baja en comparación con otros residuos de cosecha, pero tiene una cantidad considerable de fibra detergente neutra

también necesaria para los requerimientos nutricionales de rumiantes. La mayor concentración de azúcares disponible en el rastrojo de maíz se encuentra localizada en el tallo de la planta cuando está en etapa de floración, por tal motivo es la edad ideal para el ensilaje como métodos de conservación del mismo. En la etapa de madurez, estos azúcares son metabolizados por la planta o los microorganismos dejando sólo la pared celular, de esta forma las paredes celulares del tallo parecen ser menos digestibles que las paredes celulares de las hojas (Arriaran, 1989).

La PM se puede ofrecer en forma picada, con el fin de disminuir el rechazo de los animales y en este caso puede incluirse en niveles de 20-30% en raciones de vacas lecheras que produzcan 18-20 L/día, teniendo la ventaja de aportar la fibra necesaria para el funcionamiento del rumen y materia grasa de la leche, especialmente cuando las vacas reciben cantidades altas de concentrado. Asimismo, el uso aditivos como la urea y la melaza dan buenos resultados (Gómez et al., 2013a). Por ejemplo Arriarán (1989), determinó el efecto de la PM tratada con dos niveles de urea (3 y 5%) en la alimentación de vacas de raza Holstein sobre la producción y tenor de la grasa en la leche. El autor encontró un mayor porcentaje de grasa en aquellos que aplicó en ambos niveles de urea, comparado con un control.

2.1.3. Cáscara de maní

El maní (*Arachis hypogaea*), la segunda leguminosa en términos de producción a nivel mundial después de la soya, es una hierba fibrosa anual de verano, desparramada, de 25-50 cm de altura. La planta se cultiva mayoritariamente, para heno, ensilaje y pasto, principalmente en los suelos menos favorables (Navarro, 1993). El maní se cultiva muy extensamente en los trópicos. El agricultor lo produce para consumo de la familia y lo cosecha como fuente de ingreso económico, además es un complemento muy útil al cereal principal o a los tubérculos que conforman la alimentación de muchas familias pobres. Entre otras funciones, suministra grasa que es necesaria porque aporta alto contenido de energía y facilita la absorción del caroteno. Cuando se adiciona el maní a la alimentación de los niños, su alto contenido de proteína y energía ayuda a la prevención de la desnutrición.

Es un alimento muy consumido, teniendo mayor presencia en ciertas provincias costeras del Ecuador como Manabí, donde su uso es básico en la elaboración de platos típicos como el viche de mariscos, el corviche y otros platos a base de plátano verde (Chamba, 2006). La producción de maní en el Ecuador según el último censo agropecuario, es una de las actividades importantes en el sector agrícola, por tal razón los pequeños y medianos productores están ubicados en Loja, Manabí, El Oro y Guayas. Los niveles de siembra fluctúan entre 15000 y 20000 ha a nivel nacional, con una producción anual de 21000 TM de maní con cáscara que están distribuidas en 6000 unidades productoras (FAO, 2013).

La cáscara de maní (CM), es un subproducto de cosecha que se origina cuando se retira las semillas de la vaina, la cual tiene un alto contenido de fibra, muy baja en calorías y proteínas. La vaina leñosa que contiene de 2 a 3 semillas, es muy rica en grasa a diferencia de otras leguminosas; la CM representa aproximadamente el 30% del total de la vaina. En forma molida es utilizada en alimentación animal principalmente en rumiantes (Navarro, 1993).

Tabla 3. Composición química porcentual de la cáscara de maní (base seca), según diferentes autores.

Componentes		Toala (1981)	Cáceres et al. (2005)	Masenda (2005)	Feedstuffs (2005)	Promedios
Materia Seca	%	-	90,0	-	91,0	90,5
Proteína cruda	%	6,2	8,5	6,8	8,0	7,4
Calcio	%	-	0,3	-	0,2	0,3
Fósforo total	%	-	0,1	-	0,1	0,1
Fibra Cruda	%	45,8	63,6	48,2	63,0	55,2
Cenizas	%	-	-	7,1	5,0	6,1

Como se observa en la tabla 3, la composición química de la CM es pobre en contenidos nutricionales. Según los reportes de varios autores el nivel promedio de proteína cruda en base seca es bajo (7,4%), aunque presenta un buen contenido de materia orgánica que es en promedio 93,9 %, valor obtenido por diferencia de las cenizas. La cáscara y el rastrojo de maní como residuos de cosecha, se usan como estrategia en época de escasez de forraje como requerimiento de fibra necesaria en rumiantes especialmente si existe disponibilidad en la zona.

De la CM solo se utiliza para la alimentación de rumiante hasta un 10% y el resto es utilizado como combustible, abono orgánico, cama en avicultura o simplemente se desecha. Según Toala (1978) en un ensayo donde usó la CM en engorde de bovino, esta puede ser utilizada hasta en un 30% con justificación económica en reemplazo de determinados insumos fibrosos como el afrecho de trigo. En Republica Dominicana, se utiliza la CM como cama para pollos parrilleros en la fase de crecimiento y final, aprovechando la pollinaza más la cáscara como fuente de nitrógeno no proteico utilizado en toretes de engorde estabulados con resultados favorables en los parámetros productivos como ganancia de peso/día (Vargas, 2010).

2.2. Estructura y composición química de la fibra

Frecuentemente se conoce a la fibra como el tejido de las plantas que se utiliza con diferentes fines entre ellos para la alimentación de rumiantes. Desde los años 60 del siglo pasado se reconoció la importancia del análisis de la fibra total como una fracción de las plantas para entender los requerimientos para el normal funcionamiento de la microbiología ruminal y lograr una mayor eficiencia de la productividad animal. (Van Soest, 1982).

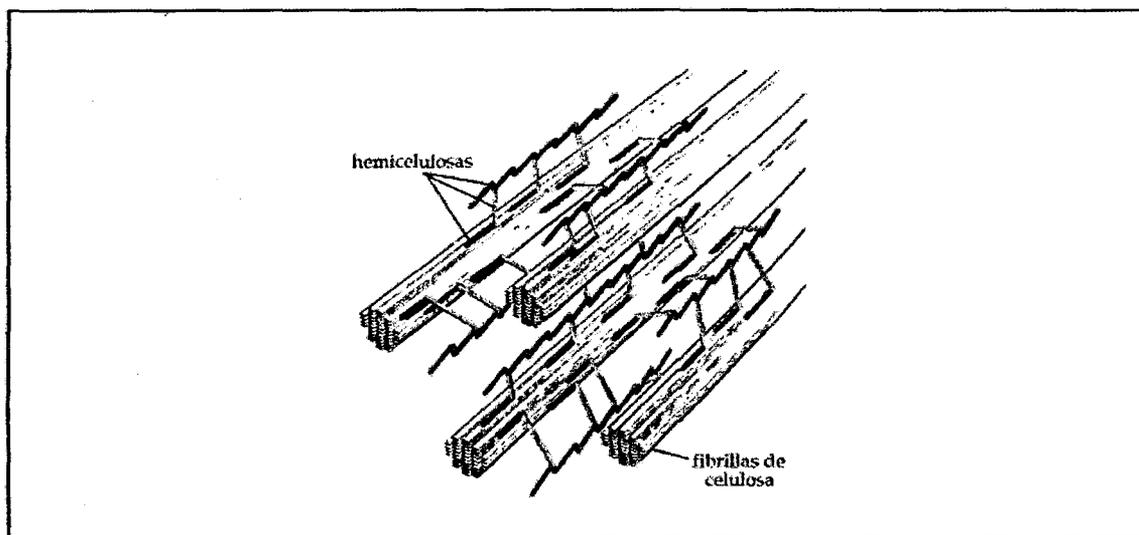
En las plantas, la celulosa es el principal componente, correspondiendo a un 50% de la materia orgánica de la biosfera. La pared celular de los vegetales se inicia como una membrana pectínica, que gradualmente va siendo sustituida por depósitos de celulosa, hemicelulosas y lignina (Van Soest, 1982). Los carbohidratos estructurales, principalmente hemicelulosas, celulosa y las pectinas, son degradadas por los microorganismos en el rumen, lo cual permite a los rumiantes utilizar fuentes de energía que no pueden ser utilizadas eficientemente por los monogástricos (Evert, 2006).

El conjunto de carbohidratos estructurales forma la pared celular vegetal que tiene un compartimiento dinámico metabólicamente activo con sus funciones específicas y esenciales para la absorción, transporte y secreción de sustancias, además de su papel en la defensa contra bacterias y hongos patógenos y a su vez estos contienen una alta proporción de fibra, más de 30% de fibra neutro detergente (Evert, 2006). El contenido de pared celular fibrosa es uno de los principales factores que determinan el proceso

metabólico, toda vez que sus estructuras son menos solubles y ocupan más espacio que el contenido celular (Akin, 1989).

Aproximadamente del 35 al 80% de la materia orgánica de los tejidos vegetales pertenece a la pared celular, lo cual es parte de la estructura rígida de las plantas, pero los rumiantes solo obtienen entre el 30 a 40% de la energía digestible a través de las mismas. Esto es evidente cuando los rumiantes consumen altos niveles de la pared celular, las mismas que vuelven más lenta su digestión y por consecuencia se obtiene poca energía (Valenciaga y Chongon, 2004). En este sentido Jung y Allen (1995), indican que la pared celular está constituida por dos fases: una fibrilar o esqueleto y otra amorfa o matriz. La fase fibrilar está formada por celulosas que combinan en una disposición muy ordenada (mediante puentes de hidrógenos) que le otorga propiedades cristalinas. La fase amorfa está formada por hemicelulosas, compuestas por péptidos y glucoproteínas como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Estructura de la pared celular de los vegetales.



Fuente: Chambi 2007

Las propiedades de la fibra y su estructura están influenciadas por varias condiciones como el crecimiento, clima, edad de la planta entre otras (Bledzki y Gassan, 1999). La maduración de la pared celular es un fenómeno que se le atribuye a la edad de la planta y el incremento de la lignina que está negativamente correlacionada con la digestibilidad

en comparación con otros compuestos de la pared celular (Jung y Casler, 1991; Cone y Engels, 1993).

2.2.1. Hemicelulosas

También conocidas como xilanos, son polisacáridos heterogéneos que se unen con la celulosa y la lignina de la pared celular de las plantas. Estos polisacáridos son insolubles en agua, pero pueden ser extraídos con álcalis diluidos y a su vez, tras la hidrólisis ácida, dan origen a azúcares (Van Soest, 1982). Las hemicelulosas contienen dos tipos de polisacáridos: de cadena corta llamados celulosanas que pueden consistir de pentosas y hexosas orientadas con una estructura micelar; y de cadena larga, llamados también polisacáridos amorfos incrustados que se asocian íntimamente con la lignina en la pared celular (Jung y Allen, 1995). El xilano está presente casi en todas las plantas unidas a las fibras de celulosas, es insoluble en agua y soluble en solución alcalina, encontrándose especialmente en los cultivos anuales, particularmente en residuos de cosecha en los tallos de maíz, vainas y pajas de cereales, representando el 15 al 30% (Chesson y Forsberg, 1997).

2.2.2. Celulosa

Es el principal componente de las plantas, jugando un papel principal no solo de mantenimiento estructural, sino que está presente también en las bacterias, hongos, algas, e incluso animales. Es un polímero lineal en la que a diferencia del almidón, las moléculas de D-glucosas en la celulosa están unidas por enlaces β -1,4-glicosídicos con alto peso molecular (McDonald et al., 1995). La principal enzima que degrada a la celulosa consta de dos unidades importantes como mínimo: C-1, que rompe los enlaces de hidrógeno, liberando cadenas de glucosa susceptibles a una posterior hidrólisis, y C-x, que hidroliza estas cadenas hasta celobiosa y glucosa. Cuando se somete a tratamiento con ácido sulfúrico al 72 %, ésta se hidroliza proporcionando alrededor de un 98% de glucosa (Beauchemin y Rode, 1996).

En función a los enlaces de hidrógeno, las cadenas de celulosa pueden ser muy ordenadas en algunas regiones para mantenerse unidas fuertemente como la “región

micelar cristalina”, mientras que las moléculas dispuestas vagamente forman las “regiones amorfas” por tal razón, en forma puras se digiere rápidamente en el rumen (Bhat y Hazlewood, 2001). Hay seis polimorfos de celulosa (I, II, III₁, III₁₁, IV₁, y IV₁₁) que se pueden interconvertir en cada uno de ellos y que a su vez se está estudiando su relevancia fisicoquímica con la finalidad de su mejor utilización. La forma que se encuentra en la naturaleza es la celulosa I y las otras formas se obtienen en condiciones experimentales. Celulosa II se obtiene a partir de celulosa I por regeneración; III₁ celulosa y III₁₁ se forman a partir de celulosa I y II, respectivamente, por tratamiento con amoníaco líquido; IV₁ celulosa y IV₁₁ se preparan calentando III₁ celulosa y III₁₁, respectivamente, a 206 °C en glicerol (Hatfield et al., 1997).

2.2.3. Pectina

La pectina es un principal componente de la pared celular vegetal, compuesto de varios polisacáridos ricos en ácido galacturónico agrupados en tres tipos principales, homogalacturónico, ramnogalacturónico-I y ramnogalacturónico-II (Willats et al., 2006). Estos polisacáridos pueden funcionar como agentes hidratantes y como material capaz de unir piezas (cementante) en la red celulósica y representan aproximadamente el 30% en las plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas (Hatfield et al., 1997; Faraco, 2013).

En la mayoría de las plantas, la pectina se deposita entre la pared celular primaria de las células vecinas, especialmente en los tejidos vegetales suaves de crecimiento rápido, con alto contenido de humedad y con la presencia de calcio más oxígeno a pH bajo, se degradan rápidamente durante la fermentación ruminal (Hatfield et al., 1997; Willats et al., 2006; Bansal et al., 2009). Cuando se forma la pectina como un gel es por la presencia de calcio más oxígeno a pH bajo (Willats et al., 2006) y se degrada rápidamente a partir de las matrices en la pared celular durante la fermentación ruminal (Hatfield et al., 1997).

2.2.4. Lignina

La lignina es una macromolécula fenólica compleja que después de la celulosa, es la sustancia orgánica más abundante en las plantas; se considera un polímero ramificado de

los grupos fenol-propanoides que desempeña funciones tanto primarias como secundarias (Van Soest, 1982). La estructura de la lignina no se reconoce con precisión, debido a la dificultad de extraerla de las plantas, ya que se encuentra covalentemente unida a la celulosa y otros polisacáridos de la pared celular y es responsable de la resistencia debido a la presencia de varios tejidos vasculares, conducción de solutos, agua y sales minerales necesarias en los procesos fisiológicos de la planta, además de la protección contra parásitos (Van Soest, 1982; Valenciaga y Chongon, 2004). La lignina está compuesta por tres monómeros fenólicos que varían en la extensión de la metoxilación del anillo aromático.

Estos monolignoles son:

- p-Hidroxifenil (no metoxilado)
- Guaicil (monometoxilado)
- Siringil (dimetoxilado)

Estas unidades se derivan de sus respectivos alcoholes p-hidroxicinamílicos (p-coumaril, coniferil y sinapil), por polimerización oxidativa por un acoplamiento al azar de radicales fenoxi libres, iniciado por la peroxidasa y peróxido de hidrógeno (Hatfield et al., 1997; Vanholme et al., 2010). Según Van Soest (1982) la lignina es el principal componente que limita la digestión del material de la pared celular en las plantas por los rumiantes, pero actualmente se ha discutido mucho este tema y se estima que depende de cómo esté constituida la pared secundaria que se digiere muy lenta por factores intrínsecos de su alta concentración (Jung y Vogel, 1986; Grabber et al., 1998). La importancia de los efectos relativos de la lignina es porque actúa como una barrera impidiendo la digestibilidad enzimática, o como un secuestrador de enzimas que no deja absorber específicamente, todavía no está clara, además, la lignina es un agente de relleno hidrófobo que reemplaza el agua en la pared celular (Faraco, 2013).

2.3. La digestión de la fibra en el rumen

2.3.1. La utilización de la fibra por microorganismos en el rumen

El rumen es un órgano altamente especializado del tracto digestivo que facilita el almacenamiento y procesamiento microbiano de una gran cantidad de material vegetal (Hungate, 1988). La degradación y utilización del material vegetal ingerido por los rumiantes son regulados por factores inherentes a las plantas, los animales y la población microbiana ruminal (Forsberg et al., 2000).

El mecanismo de acoplamiento y adhesión de los microorganismos a la pared celular vegetal se inicia con la asociación de las mismas por medio de un complejo proteico llamado *adhesinas* y luego seguido por la colonización de los microorganismos. La forma de colonización depende de cada especie de microorganismos, por ejemplo las bacterias celulolíticas se adhieren al sustrato por medio de cubiertas de glicocálix y posiblemente por protuberancias llamadas celulomas (Chambi, 2007).

La degradación y metabolismo de los componentes del alimento (celulosa, hemicelulosas, almidón, proteína) lo realiza la flora microbiana en el rumen, permitiendo suministrar el carbono, energía, aminoácidos y vitaminas requeridas por el rumiante huésped (Chesson y Forsberg, 1997). En algunos ecosistemas particularmente en aquellos que son dominados por el lento desarrollo de los microorganismos, se estudia el nivel de adaptabilidad de acuerdo a la especie de los mismos por su genética que los hace vulnerables a temperaturas y pH, ya que este ambiente comprende una muy diversa población de bacterias anaeróbicas estrictas, hongos y protozoos definidos por la intensa presión selectiva del ambiente ruminal (Stewart et al., 1997; Forsberg et al., 2000).

El ambiente ruminal es un ecosistema altamente complejo, donde la pared celular de las plantas es fuente de energía para los microorganismos que a su vez hacen simbiosis y pueden sobrevivir en condiciones de anaerobiosis, altos ritmos de dilución, altas densidades de células y la depredación protozoaria, especialmente cuando los animales son alimentados con alto contenido de forraje y han desarrollado la capacidad para la utilización eficiente de sus nutrientes. A pesar de su complejidad, la baja porosidad y la

variante capacidad de cristalización, los compuestos fibrosos de las plantas son en efecto digeridos por la actividad simultánea de todo el conjunto de enzimas microbianas presentes en el rumen (Chesson y Forsberg, 1997).

Las poblaciones más comunes de bacterias celulolíticas son *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*, que pueden encontrarse en cantidades de 0,3–4% de toda la población bacteriana (Forsberg et al., 2000). Estas bacterias a su vez producen diversas enzimas cuya actividad degradan los polímeros de las paredes celulares en las plantas (celulasas, xilanasas, β -glucanasas, pectinasas, entre otras como las amilasas, las proteasas y las fitasas). Según Doerner y White, 1990; Krause et al., 2003, la variedad de enzimas presentes en el rumen viene dada no sólo por la diversidad de su comunidad microbiana sino también por la multiplicidad de enzimas fibrolíticas producidas por microorganismos individuales. Las celulasas producida por *R. albus* degrada solamente la celulosa amorfa mientras que las producidas por *R. flavefaciens* pueden hidrolizar la celulosa cristalina (Trinci et al., 1994).

La flora microbiana produce una gran cantidad de enzimas que tienen interacciones complejas entre ellas, por ejemplo las hidrolasas cuya actividad también es diversa sobre los diferentes polímeros de la pared celular (celulasas, xilanasas, β -glucanasas, pectinasas) o también amilasas, proteasas, fitasas y las que degradan toxinas específicas como las tanasas (Doerner y White, 1990; Wang y McAllister, 2002). La eficiencia en el rumen requiere de actividades coordinadas y basadas en dos modelos que se han propuesto entre la síntesis y secreción de enzimas de microorganismos. En el primer modelo las enzimas actúan de forma individual y sinérgicamente por el efecto de la hidrólisis de las celulosas (Béguin y Aubert, 1994; Wang y McAllister, 2002) y de allí se generan las bases para las investigaciones en producción de enzimas exógenas a partir de hongos. En el segundo modelo, las enzimas se ensamblan en un complejo multi-enzimático como el celulosoma de las bacterias termófilas (Bayer et al., 1998). Estos complejos contienen numerosas celulasas con alto peso molecular que han sido ampliamente identificadas entre ellas *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* y hongos (Wang y McAllister, 2002).

Por otra parte, los hongos representan aproximadamente el 8% de la flora microbiana, y muchos de ellos excretan metabolitos dentro de ellos enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular (Infante et al., 2009). Los protozoarios en número de géneros limitado son importantes para la digestión de la pared celular de las plantas, pudiendo digerir del 5–21% de los materiales celulolíticos en dependencia de la ración (Dehority y Tirabasso, 1998). Adicionalmente los protozoarios ciliados anaeróbicos y varios de ellos únicos en el rumen, pueden proporcionar hasta el 40% de la biomasa ruminal que es fuente de proteína microbiana para el animal mismo, constituyéndose una endo-simbiosis (Flint, 1997).

La adherencia de bacterias y hongos en la celulosa de ecosistemas ruminales, puede ser divididas en 4 fases: La primera es el transporte de las bacterias no móviles hacia los sustratos de las plantas; segunda, adhesión no específica de bacterias sobre sitios disponibles en la pared celular de las plantas; tercera, adhesión específica con el sustrato, que puede ser facilitado por estructuras tales como el complejo celulomático con conexiones fibrilares, y por último, la cuarta fase, la proliferación de las bacterias adheridas en el tejido de las plantas potencialmente digestibles (McSweeney y Mackie, 2012),

La principal fuente de energía para los microorganismos se obtiene por medio de la fermentación de hidratos de carbono, con la liberación de ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno, dióxido de carbono, agua, gas metano entre otros. Los AGV más importantes son ácido acético, propionico y butírico; de los cuales el de mayor aprovechamiento energético es el ácido acético porque su presencia forma gran cantidad de metano. El animal utiliza los AGV como principal fuente de energía por medio de la absorción de los mismos, a través de la pared ruminal como parte del proceso energético de los microorganismos (Kreikemeier et al., 1990; Krueger, 2006). Los rumiantes tienen la facultad de sintetizar proteínas, vitaminas del complejo B y vitamina K en el ecosistema ruminal, utilizando dietas altamente fibrosas (forraje) y pobre en calidad proteica; también cumple funciones de desintoxicar cuando hay la presencia de fitotoxinas y micotoxinas (Preston y Leng, 1987).

Para la degradación de la fibra se requiere de acciones coordinadas de muchas enzimas polisacaridasas, por ejemplo, la degradación de los arabinoxylanos, un polisacárido estructural que se encuentra en las paredes celulares de los forrajes y en el endospermo de los cereales, requiere de un rango de enzimas trabajando secuencialmente. Esencialmente las enzimas que destruyen las cadenas de arabinosa, grupo acetyl, ácido ferúlico y ácido glucurónico actúan primero seguidas por las xilanasas que se encargan de fraccionar las principales cadenas de xilano. La descomposición de la celulosa también requiere una serie de enzimas las cuales incluyen endo-1,4 β -D-glucanasas, 1,4 β -D-glucan celobiohidrolasas y β -glucosidasas (Kreikemeier et al., 1990).

a. Celulasas (EC 3.2.1.4)

Las celulasas comercialmente utilizadas, se producen típicamente por un sistema de fermentación de las bacterias (*Bacillus spp.*) o por hongos (*Aspergillus spp.* y *Trichoderma spp.*) (Beauchemin y Holtshausen, 2010). Existen tres principales categorías de *celulasas* que actúan en forma sinérgica en la degradación de la celulosa: endoglucanasas, exoglucanasas y celobiasas. Las endoglucanasas descomponen los enlaces internos β -1,4 y así alteran la estructura cristalina de la celulosa y exponen las cadenas polisacáridas de celulosa individual. Las exoglucanasas parten de 2 a 4 unidades de glucosa desde los extremos de las cadenas expuestas producidas por la endoglucanasas, produciendo tetrasacáridos o disacáridos como la celobiosa. Finalmente, la celobiosasas hidrolizan estos productos, obteniendo los monosacáridos individuales de glucosa (White et al., 1993; Beauchemin et al., 1995).

b. Xilanasas (EC 3.2.1.8)

Las principales enzimas en este grupo son: xilanasas y β -1,4 xilosidasas (Bhat y Hazelwood, 2001). Xilanasas incluyen endoxilanasas, que son xilo-oligómeros con β -1,4-exoxilanasas. Además, otras enzimas hemicelulósicas pueden degradar las cadenas laterales de xilanos. Estas enzimas incluyen β -manosidasas, α -D-glucuronidasas, α -D-galatocidase, α -L-arabinosidase, la acetyl-xilano esterasas y ácido ferúlico esterasas (White et al., 1993; Bhat y Hazelwood, 2001).

2.3.2. El uso de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes

a. Modo de acción enzimática

El rumen degrada y fermenta los polisacáridos estructurales mediante la acción enzimática producida por los microorganismos. Este proceso empieza con los más simples sustratos amorfos (hemicelulosas) y termina con los más complejos como es el caso de celulosa cristalina hasta obtener los azúcares reductores necesarios para la fuente de energía de las bacterias (glucosa, celobiosa, xilosa etc), por lo que es un complejo de cooperación entre los microorganismos y sus enzimas. Estos aspectos característicos de los procesos fermentativos ruminales en su orden bioquímico y microbiológico, son de importancia primordial para entender mejor la eficacia que se tiene cuando se utilizan aditivos exógenos en el alimento (Chesson y Forberg, 1997; Caja et al., 2003).

Las enzimas fibrolíticas exógenas (EFEs) presentan dos mecanismos de acción a nivel de los sustratos: hidrólisis de un alimento, que resulta en liberación de los hidratos de carbono solubles que pueden mejorar la palatabilidad y modificación de las fibras mediante la reducción de sus barreras estructurales, que dificultan su digestión (McAllister y Cheng, 1996; Colombatto et al., 2003). Además las EFE pueden proporcionar efectos sinérgicos con los microorganismos ruminales (McAllister y Cheng, 1996; Morgavi et al., 2000) que pueden conducir a mejoras en la utilización de forrajes que pueden explicarse por la hidrólisis de la pared celular. Las enzimas en la pre-hidrólisis durante la digestión pueden liberar los azúcares reductores de los alimentos, pero esto a su vez depende del tipo de alimentación y el tipo de enzima utilizada (McAllister y Cheng, 1996).

b. Factores que afectan la acción de la enzima fibrolíticas exógenas sobre la digestión ruminal

Al principio de los años 60 se asumía que el impacto de aplicar EFEs sobre el proceso de la digestión mejoraría la velocidad de degradación de los sustratos, especialmente cuando se usaba enzimas que provenían de hongo, pero varios ensayos mostraron que

las actividades de las celulasas y xilanasas permanecían constantes durante las primeras 6 h de incubación con fluido ruminal e incluso hay reportes de que ocurría una disminución en su actividad (Hristov et al., 1998). Asimismo en otros estudios realizados sobre la actividad enzimática de EFEs que se mantienen dentro del rumen, los autores plantean una posible manipulación para mejorar el desempeño de las mismas (McAllister y Cheng, 1996). Sin embargo, el modo de acción de las EFEs es diferente de la enzimas fibrolíticas endógenas que están en contacto directo con el alimento y los microorganismos, esto se debe a que cada población bacteriana genera sus propias enzimas cumpliendo funciones específicas de acuerdo a la fuente de los microorganismos (hongos o bacterias) (Morgavi et al., 2001).

A pesar de las diferencias entre enzimas exógenas y endógenas, se ha demostrado que existe un sinergismo en pequeña proporción, debido a que la hidrólisis enzimática de los sustratos promueve la colonización microbiana, con resultados positivos especialmente en la colonización secundaria. Los casos en que no existe sinergismo entre las enzimas es debido a los cambios de poblaciones microbianas por un manejo de alimentación (alto contenido de almidón) que incrementa el pH, inhibiendo la acción y producción de las mismas, por lo que es recomendable usarlas en dietas con la cantidad de fibra requerida por los rumiantes (Morgavi et al., 2000; Wang y McAllister, 2002).

Otro factor importante a considerar es la alta fermentación de los azúcares producidos por la hidrólisis de la pared celular, la que causa una reducción del pH ruminal, que a su vez inhibe la hidrólisis enzimática de la pared celular. Tal suceso puede ser atribuido en parte a inhibición por retroalimentación negativa de la acción enzimática debido a la producción de concentraciones críticas de un producto de la interacción enzima-sustrato (Beauchemin et al., 1995). Además del factor pH, también es importante para una acción exitosa, la temperatura óptima que va de 38 a 42 °C. De acuerdo con Beauchemin et al. (1995) el suministro directo al rumen de enzimas constituye un problema complicado debido al entorno ruminal altamente proteolítico. Al aplicar directamente EFE, éstas son digeridas rápidamente en el rumen antes de que pueda aumentar la digestión de la fibra

del pienso ingerido, por lo que se necesitan altos niveles resultando poco práctico y antieconómico.

Por otro lado, las limitaciones de la digestión de la pared celular por los microorganismos ruminales se debe a que el alimento consumido por los rumiantes no solo comprende los nutrientes requeridos, sino también compuestos secundarios de las plantas como polifenoles y saponinas. En el caso de la pared celular, los ácidos fenólicos y sílice suelen tener efectos negativos sobre la actividad enzimática (Wang y McAllister, 2002).

c. Efecto de la utilización de las enzimas fibrolíticas exógenas

En varios trabajos de investigación realizados con EFEs para evaluar la hidrólisis de celulosa y xilanos como compuestos puros y sobre una mezcla de ambos; los resultados con dichas enzimas en pruebas digestibilidad *in vitro* e *in vivo* indicaron un aumento de liberación de azúcares reductores, velocidad de hidrólisis así como en el grado de la fermentación del sustrato (Colombatto et al., 2003).

En un estudio de Tang et al. (2008) sobre el efecto de la suplementación celulasas o xilanasas *in vitro* de paja de cereales de baja calidad, como la panca de maíz (PM) y ensilaje de PM, evaluando la producción de gas *in vitro* con dosis 0, 2.5, 5 y 7.5 g/Kg.MS, en que por razones de disponibilidad de información no se conoce la actividad enzimática para determinar la dosis aplicada en UI/kg.MS. Los resultados mostraron que en aquellos que se sometieron a 48 horas de fermentación *in vitro* aplicándole celulasas sobre la PM fue mayor ($p < 0.01$) la producción de gas (27.6 vs 26.8 mL/g.MO, respectivamente), de la misma manera sobre el ensilaje de PM fue mayor ($p < 0.01$) en los tratados (32.7 vs 29.9 mL/g.MO, respectivamente).

En referencia a la DIVMS de PM fue mayor al aplicar celulasas ($p < 0.01$) con 36,1 vs 28,8%, y de igual manera la DIVMS del ensilaje de PM fue superior ($p < 0.01$) aquellos tratados con celulasas (42,3 vs 33,0%, respectivamente). La suplementación de dichos aditivos incrementó la producción de gas *in vitro*, la tasa de producción, la digestibilidad

in vitro de la materia seca (DIVMS), y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO).

Recientemente en otro estudio de Romero et al. (2015) evaluaron el efecto de EFEs sobre la hidrólisis de la fibra, fermentación ruminal y digestibilidad *in vitro* del henolage del pasto bermuda, llegando a encontrar resultados muy positivos sobre el uso de las mismas. Las dosis aplicadas de EFEs fueron 3080, 14000 y 21000 UI/kg.MS. La DIVMS a las 24 h fue mayor ($p < 0.002$) en niveles donde se aplicó celulasas (50.4, 50.6 y 50.1 vs 48.6%, respectivamente). Igualmente, la DIVFDN se incrementó ($p < 0.002$) al usar dosis de EFEs (38.0, 38.9 y 38.0 vs 35.9%, respectivamente). Para la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) al aplicar celulasas se incrementó, especialmente el ácido propionico, mientras que en el ácido acético y ácido butírico se obtuvieron valores similares. El uso de celulasas también incrementa o mejora la digestibilidad de la fibra como alternativa para usar en forma más efectiva los recursos forrajeros.

Según Soltan et al. (2013) al aplicar EFEs sobre los pastos tropicales (gramíneas) en términos de degradación de nutrientes ruminales *in vitro* y metanogénesis observaron mejoras ($p < 0.05$) sobre la producción de gas, la velocidad de degradación de FDN, concentración de propionato y butirato durante las 24 h al aplicar celulasas sobre pastos tropicales (gramíneas). De la misma forma, al aplicar xilanasas solo tuvieron menores respuestas en la degradación de la materia seca. Ninguno de los tratamientos afectó la producción de metano en los dos tiempos evaluados, de igual manera el pasto guinea y King grass morado mostraron mayor contenido de hemicelulosas y proteína cruda, lo que produjo menor cantidad de metano. Según este trabajo el uso de productos enzimáticos mejora el aprovechamiento de los forrajes en la nutrición de rumiantes.

De igual manera, según Eun et al. (2007a) quienes usaron EFEs para mejorar la fermentación *in vitro* del heno de alfalfa y el ensilaje de maíz, utilizando dosis de celulasas de 112, 224 y 336 UI/kg.MS en tratamientos por 24 h. En el heno de alfalfa fue mayor la DIVMS a las 24 h cuando se aplicó celulasas ($p < 0.01$, 44.1 vs 41.3%, respectivamente), mientras que la producción de gas a las 12 y 24 h también fueron

mayores al usar celulasas. Por consiguiente se generó mayor aprovechamiento de la fibra total (81.8 vs 77.9 mL/g.MO y 142.6 vs 138.6 mL/g.MO, respectivamente).

En el ensilaje de maíz como fuente de fibra en ganaderías lecheras, también la DIVMS fue mayor al usar celulasas ($p < 0.01$, 45.1 vs 43.3%) y una producción de gas a las 12 h de 75.1 vs 62.4 mL/g.MO y a las 24 h de 149.8 vs 132.5 mL/g.MO. Estos estudios demostraron que las EFEs mejoran sustancialmente la fermentación de heno de alfalfa y ensilaje de maíz cuando se desarrolla la técnica *in vitro*.

Por otro lado Díaz et al. (2013) evaluaron *in vitro* el uso de EFEs para mejorar el valor nutritivo de forrajes de baja calidad, objetivos similares a este trabajo. Dentro de los forrajes de baja calidad, se evaluó también la panca de maíz, reportando resultados similares de producción de gas durante las 24 h a aquellos en los que se aplicó celulasas o xilanasas. De la misma forma no se obtuvo diferencia entre la concentración de AGVt e individuales. En conclusión, en parámetros de digestibilidad de fibra se observa una mejora en las primeras horas (9-12 h), pero mientras avanza el proceso (24 o 48 h) se mantienen los resultados similares.

En varias investigaciones antes citadas los autores manejaron diferentes niveles de enzimas, pero para éste trabajo se tomó como base una patente de Beauchemin et al. (2002) quienes recomiendan para los alimentos muy fibrosos (pastos muy groseros, pajas y residuos de cosecha) usar un rango de niveles entre 800 a 6000 UI/kg.MS de EFEs para rumiantes, obteniéndose mejores resultados de 900 a 3600 UI/kg.MS.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Hipótesis planteada

El uso de enzimas fibrolíticas exógenas sobre los residuos de cosecha altamente fibrosos como broza de espárrago, panca de maíz y cáscara de maní, mejora la digestibilidad *in vitro* en rumiantes.

3.2. Ubicación y duración de la investigación

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) Facultad de Zootecnia y en el Instituto de Biotecnología Industrial (ITB) Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. La duración de la primera etapa fue la recolección y caracterización de la composición química de muestras en Perú y Ecuador, duró 6 meses donde incluyó las estaciones de invierno y verano. En la segunda etapa, que duró 5 meses, se midió la actividad enzimática de las celulasas (EC 3.2.1.4) y xilanasas (EC 3.2.1.8) y evaluar el efecto de EFE sobre la digestibilidad *in vitro* de los residuos de cosecha en estudio.

3.3. Técnicas utilizadas

Todas las técnicas utilizadas son acreditadas por AOAC (Asociación de las comunidades analíticas, 2005):

- *Determinación de proteína cruda.*

La proteína cruda se determinó mediante la técnica de micro-Kjeldahl que es un proceso de análisis químico para determinar el contenido en nitrógeno de una sustancia química y se engloba en la categoría de medios por digestión húmeda.

El principal inconveniente de este método consiste en la posible valoración de nitrógeno no protéico (NNP), e incluso de sustancias tóxicas y sin ningún valor nutritivo.

El método se desarrolla por tres etapas:

-Digestión: conversión del nitrógeno (proveniente de las proteínas, por ejemplo) en ion amonio mediante calentamiento (a una temperatura de 400° C aproximadamente) en bloque de digestión con adición previa de ácido sulfúrico y catalizador (sulfato de cobre), que desencadenan la conversión del nitrógeno de la muestra en amonio.

-Destilación: separación por arrastre con vapor del amoníaco y posterior solubilización en una solución ácida de concentración conocida. En esta etapa se adiciona NaOH a la disolución de amonio obtenida previamente, generándose NH₃ y vapor de agua, que arrastra al mismo.

-Valoración: medición de la cantidad de ácido neutralizado por el amoníaco disuelto, lo que indica la cantidad de nitrógeno presente en la muestra inicial. Luego la cantidad de nitrógeno obtenido se multiplica por una constante de 6.25.

- Determinación de materia orgánica.

La determinación de la materia orgánica se calculó por la diferencia de la ceniza encontrada en las muestras que fueron tratadas en una mufla a 700 °C por 8 h.

- Determinación de fibra detergente neutra o fibra total.

Se determina mediante la digestión de la pared celular vegetal con una solución detergente neutra durante 1 h a 100 °C, para luego filtrarla y someterla al secado durante 12 h a 105 °C.

- Determinación de la fibra detergente ácida

La fibra detergente ácida se determinó mediante la digestión de la misma con una solución detergente ácida durante 1 hora a 100 °C, luego filtrada y secada a 12 h en una estufa a 105 °C.

- Determinación de la lignina detergente ácida

Al residuo de la fibra detergente ácida es sometido a la digestión en ácido sulfúrico al 72 % en un vaso de precipitado durante 4 h con movimientos circulares por diez minutos con intervalos de treinta minutos. Luego se procedió a enjuagar con agua destilada hasta quitar todo el residuo de ácido, posteriormente se sometieron al secado en una estufa a 105 °C durante 12 h.

-Determinación de la Energía Neta de lactancia

Se estimó usando ecuaciones de predicción con los valores de fibra detergente ácida (Robinson, 2005).

3.4. Caracterización de la composición química de los residuos de cosecha

Los residuos de cosecha que se evaluaron:

- Panca de maíz.- es la planta de maíz en estado maduro (seca) del que se le han sacado las mazorcas.
- Broza de espárrago.- es la parte verde de la planta, compuesta por un conjunto de ramas delgadas y cilíndricas que proceden de un conglomerado de yemas, las que a su vez se originan de un conjunto de raíces denominada corona.
- Cáscara de maní.- es la vaina a la cual se le ha extraído las semilla durante el proceso del descascarado.

Los residuos de cosecha se secaron durante 72 h a 60 °C para después proceder a la molienda usando un tamiz de 1 mm de diámetro con un molino de cuchillas de acero marca Willy.

La caracterización de la composición química se tomó en consideración dos evaluaciones:

3.4.1. Comparación de acuerdo a las zonas de disponibilidad y estaciones de año de los residuos de cosecha

Las variables fueron: proteína cruda (PC), materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y estimación de la energía neta de lactancia (EN_L).

a. De acuerdo a las zonas de disponibilidad de los residuos de cosecha

Estas zonas fueron:

- Trujillo y Lima para panca de maíz y broza de espárrago (Perú)
- Manabí, Loja y El Oro para cáscara de maní (Ecuador) (anexos 1, 2 y 3)

b. De acuerdo a las estaciones del año

Las estaciones del año evaluadas fueron las siguientes:

- Invierno (Junio- Julio)
- Verano (Enero- Febrero)

3.4.2. Composición química específica del componente fibroso

Las muestras de verano e invierno se mezclaron para obtener una representativa de ambas estaciones de cada residuo de cosecha (panca de maíz, broza de espárrago, y cáscara de maní). En ésta evaluación se caracterizó el componente de la pared celular debido a que pertenece a este grupo de alimentos. Las variables que se determinó: proteína cruda (PC), cenizas (Cen), materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina detergente ácida (LDA), hemicelulosas (Hem) y celulosa (Cel) mediante la técnica en bolsas filtrantes F57 (Ankom200 Fiber Analyzer, Macedon, NY) como lo describe Van Soest et al. (1991).

3.5. Efecto de la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas sobre la digestibilidad *in vitro* de los residuos de cosecha

3.5.1. Enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas

Las enzimas fibrolíticas exógenas utilizadas fueron: celulasas (EC 3.2.1.4) o xilanasas (EC 3.2.1.8) del laboratorio comercial Dyadic Internacional Inc. (Jupiter, FL-USA). La actividad enzimática de las celulasas se determinó usando como sustrato carboximetil celulosa (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) (Wood y Bhat, 1998); mientras que para las xilanasas se utilizó xilano de madera (Sigma Chemical Co.) como sustrato puro, con 10 mg/mL diluido en buffer fosfato-citrato 0.1 M con pH 6.6 a 39°C (Bailey et al., 1992). Los resultados de la actividad enzimática para celulasas fueron 566 UI/mL y xilanasas 635 UI/mL.

3.5.2. Niveles aplicados de enzimas fibrolíticas exógenas

Se aplicó tres niveles:

2000 UI/Kg.MS.

4000 UI/Kg.MS.

8000 UI/Kg.MS.

Comparado con un control (sin enzima).

UI= Unidades Internacionales = μmol de azúcares reductores/min/ml.

kg.MS = kilogramo de materia seca del residuo de cosecha.

Las enzimas se diluyeron 1:1000, 1:500 y 1:250, con buffer fosfato-citrato 0.1 M a pH 6,6, para luego ser aplicadas con una micropipeta en volúmenes que se describen a continuación, de acuerdo a los niveles evaluados:

- 43954

- Cantidad aplicada por cada g/ MS del residuo de cosecha

Celulasas (EC 3.2.1.4)

2000 UI/kg MS = (1:1000) = 3,53 ml/g.MS

4000 UI/kg MS = (1:500) = 3,53 ml/g.MS

8000 UI/kg MS = (1:250) = 3,53 ml/g.MS

Xilanasas (EC 3.2.1.8)

2000 UI/kg MS = (1:1000) = 3,15 ml/g.MS

4000 UI/kg MS = (1:500) = 3,15 ml/g.MS

8000 UI/kg MS = (1:250) = 3,15 ml/g.MS

Procedimiento de la aplicación de las enzimas:

Una vez pesada la muestra (0,5 g) en viales de vidrio transparente rotulado, se aplicó la respectiva dosis de enzimas diluidas directamente con la ayuda de una micropipeta una hora antes del proceso de llenado del medio de cultivo para el inicio de la fermentación microbiana anaeróbica. Los viales fueron colocados en una incubadora a 39 °C para mantener una temperatura adecuada al momento del llenado.

De otro lado, el licor ruminal se obtuvo de tres ovinos fistulados que fueron luego mezclados y filtrados para eliminar los residuos presentes usando gaza y lana de vidrio. El licor ruminal filtrado fue mezclado con saliva artificial (SA) en una proporción de 1:4 (100 mL de licor ruminal con 400 de SA), y a esta mezcla se la denominó "fluido ruminal". Después se procedió a gasear con CO₂ durante 10 minutos a una temperatura a 39 °C. Concluido el gaseado, se transfirió el fluido ruminal a los viales de vidrio que contenían el sustrato (0,5 g de residuo de cosecha) más enzima aplicada (celulasas o xilanasas), en un volumen de 50 mL con ayuda un dosificador manual. Terminado el llenado nuevamente se procedió a gasear con CO₂ por 10 segundos y a sellar los viales herméticamente. Se registró el tiempo de inicio del proceso de la fermentación, también se estableció la presión

existente como el nivel cero con ayuda de un transductor de presión para así calcular la producción de gas *in vitro* a los diferentes tiempos (3, 6, 12, 24 y 48 h).

a. Determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca y sus componentes de la pared celular

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), fibra detergente neutra (DIVFDN), fibra detergente ácida (DIVFDA) y de la materia orgánica (DIVMO) se midió a las 48 h de incubación. El licor ruminal se obtuvo de tres ovinos fistulados. La metodología utilizada fue de Goering y Van Soest (1970) y acreditado por la AOAC (2005).

b. Medición de producción de gas en digestibilidad *in vitro*

Simultáneamente cuando se realizaba la digestibilidad *in vitro* se midió la producción de gas a diferentes tiempos (3, 6, 12, 24 y 48 h) utilizando un transductor de presión (PSI) adaptado a una aguja n° 23 (0,6 mm), modelo T443A (Bailey y Mackey, Birmingham, UK) y conectado a un dispositivo visual. Los valores reportados fueron en mL/g.MO del sustrato, estimándose mediante la ecuación cuadrática (Mauricio et al., 1999).

Volumen de gas = $0,18 + 3,697 \times \text{presión de gas (PSI)} + 0,0824 (\text{presión de gas})^2$.

c. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) en el fluido ruminal

Una vez terminada la determinación de la digestibilidad *in vitro* se procedió a filtrar el fluido ruminal usando papel Whatman N° 541 después de 48 h de incubación. A 10 mL del filtrado, se midió el pH, inmediatamente se añadió 100 µL de H₂SO₄ a 9,0 M y después se procedió a almacenarlas en congelación (-25 °C) para su posterior análisis. Previo al análisis se descongelaron las muestras y filtraron con dispositivos de 22 micrones de diámetro, para ser llenados en sus respectivos viales adecuados para la cromatografía líquida de alto rendimiento con un detector de matriz de fotodiodos 2996 (HPLC-PAD) usando una columna X-terra R RP-C18 (5µm, 250 x 4,6 mm) Waters, Milford, MA. Se utilizó estándares de ácidos grasos volátiles (ácido acético, propionico

y butírico) con un estándar interno en mezclas de concentración de 10 a 1000 (mg/L) de cada uno (Erwin et al., 1961).

3.6. Análisis estadístico.

- Para la comparación de la composición química y energía neta lactancia de los residuos de cosecha de acuerdo a su disponibilidad y estación del año, se utilizó la prueba de comparación de “t” student ($p < 0,05$).

- Para el efecto de la aplicación de las EFE sobre la digestibilidad *in vitro*, producción de gas *in vitro* y concentración de AGVt, se evaluó mediante el diseño completamente al azar, donde se comparó el efecto de 4 niveles en cada residuo de cosecha por separado, con 6 repeticiones. Para las comparaciones de media se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0,05$). El análisis se realizó mediante el uso del PROC GLM (SAS Institute, 2001)

El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y = observaciones para las variables dependientes

μ = media general

t_j = efecto de niveles (1,2,3,4)

ε_{ij} = error experimental

Tabla 4: Análisis de varianzas entre los niveles de enzimas

Fuente de variación (FV)	Grados de Libertad (GL)
Niveles de enzimas (t_i)	3
Error experimental (ε_{ij})	20
Total	23

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la composición química de los residuos de cosecha

4.1.1. Comparación de acuerdo a las zonas de disponibilidad y estaciones de año de los residuos de cosecha

a. De acuerdo a las zonas de disponibilidad de los residuos de cosecha

Al comparar las zonas de disponibilidad de los residuos de cosecha en todos los parámetros evaluados como proteína cruda (PC), materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente acida (FDA) y energía neta de lactancia (EN_L) se encontró que no hubo diferencias entre las zonas de disponibilidad de los residuos, esto indicaría un similar manejo agronómico tanto en Trujillo y Lima (Perú) para maíz y espárrago, como de Manabí, Loja y El Oro (Ecuador) en maní (tabla 5).

Tabla 5. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los residuos de cosecha de acuerdo a las zonas de disponibilidad.

Zonas	¹ PC %	² MO %	³ FDN %	⁴ FDA %	⁵ EN _L *Mcal/kg.MS
Panca de maíz					
Trujillo	6.1 ±1.4	89.6 ±4.8	83.4 ±7.2	47.5 ±3.8	810.4 ±67.2
Lima	5.1 ±0.5	91.1 ±1.5	77.9 ±4.4	46.9 ±3.0	866.1 ±74.7
Prob. Estad.	ns	ns	ns	ns	ns
Broza de espárrago					
Trujillo	11.2 ±1.5	86.8 ±2.6	64.0 ±4.7	42.7 ±2.7	963.5 ±62.6
Lima	8.8 ±2.1	85.1 ±4.2	63.7 ±17.6	43.7 ±7.3	926.0 ±171.0
Prob. Estad.	ns	ns	ns	ns	ns
Cáscara de maní					
Manabí	6.6 ±1.3	96.0 ±0.7	93.6 ±4.1	75.2 ±5.8	334.1 ±104.5
Loja	6.3 ±1.1	96.0 ±1.0	90.6 ±1.3	76.5 ±3.7	325.7 ±48.9
El Oro	7.0 ±1.3	96.4 ±0.4	94.9 ±3.7	78.4 ±0.1	273.5 ±25.7
Prob. Estad.	ns	ns	ns	ns	ns

1= proteína cruda; 2= Materia orgánica; 3= Fibra detergente neutra; 4= Fibra detergente acida; 5= Energía neta de lactancia;
* estimado mediante la ecuación de Robinson, 2005.; ns= >0.05.

De acuerdo con la convención de la clasificación de los alimentos los residuos de cosecha evaluados pertenecen al grupo de “alimentos fibrosos” porque contienen más del 15% de fibra bruta (FB), menos del 18% de proteína cruda (PC) y su disponibilidad está en forma fresca, ensilada, henificada o sub-producto derivado de la agroindustria (Crampton y Harris, 1974; Caravaca et. al., 2003). Como se observa en la tabla 5, los rangos en promedio de FDN y FDA son elevados (63-93% y 42-78%, respectivamente), pero nótese la CM fue el residuo de cosecha de mayor contenido fibrosos, encontrándose valores de FDN en promedio de 93% y FDA con 77%, si se estimara su FB mediante la división del FDA entre 1,15 se obtendrían rangos de 67%.

Respecto al contenido de proteína cruda (PC) en base seca, es importante notar las diferencias de los resultados para PM y CM frente a la BE, donde las dos primeras tienen como promedio 6,2%, valor cercano al límite crítico en el requerimiento del ecosistema ruminal; mientras que la BE mostró 10% siendo este valor aceptable dentro del rango de requerimiento en la nutrición de rumiantes (tabla 5). Según NRC (2001) los requerimientos de PC en una vaca seca en el alimento como mínimo de 9%, caso contrario las flora microbiana se deprime por no tener adecuada provisión de nitrógeno para la normal síntesis de enzimas fibrolíticas.

b. De acuerdo a las estaciones año (invierno y verano)

La evaluación por diferentes estaciones del año determinó en la PM que el verano tuvo una mayor cantidad ($p < 0.05$) de MO y EN_L frente el invierno (92,2 vs 88,6% y 890,9 vs 801,4 Mcal/kg.MS, respectivamente). A lo contrario en la FDA, en invierno incrementó ($p < 0.05$) frente al verano (48,7 vs 45,5%, respectivamente), cabe señalar que en PC y FDN fueron similares para ambas estaciones. En el caso de BE ningún parámetro evaluado de su composición química fue diferente, pero en CM solo la MO fue mayor en verano ($p < 0.05$) que de invierno (96,7 vs 95,7%, respectivamente), y el resto de los parámetro fueron similares para ambas épocas (tabla 6).

Tabla 6. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los residuos de cosecha de acuerdo a las estaciones del año (invierno y verano).

Estaciones	¹ PC %	² MO %	³ FDN %	⁴ FDA %	⁵ EN _L *Mcal/kg.MS
Panca de maíz					
invierno	5.7 ±1.0	88.6 ^b ±3.1	79.1 ±1.7	48.7 ^a ±2.2	801.4 ^b ±42.8
verano	5.2 ±0.9	92.2 ^a ±2.0	80.6 ±8.2	45.5 ^b ±3.2	890.9 ^a ±74.9
Prob. Estad.	ns	*	ns	*	*
Broza de espárrago					
invierno	10.9 ±2.7	86.3 ±1.7	66.0 ±7.6	44.0 ±3.9	924.2 ±101.5
verano	10.2 ±0.5	86.3 ±4.0	61.9 ±8.4	41.9 ±3.4	983.3 ±65.4
Prob. Estad.	ns	ns	ns	ns	ns
Cáscara de maní					
invierno	6.9 ±0.9	95.7 ^b ±0.4	94.9 ±3.4	74.5 ±4.2	336.6 ±90.9
verano	6.3 ±1.4	96.7 ^a ±0.1	90.7 ±1.4	79.1 ±0.9	284.8 ±11.5
Prob. Estad.	ns	*	ns	ns	ns

1= proteína cruda; 2= Materia orgánica; 3= Fibra detergente neutra; 4= Fibra detergente acida; 5= Energía neta de lactancia; * estimado mediante la ecuación de Robinson, 2005. Ns=>0.05; *= <0.05.

Según Van Soest (1982) en la época verano por la alta temperatura y luminosidad solar, existe un efecto de acelerar las funciones fisiológicas de las plantas, por tal razón es más rápida la madurez de la fibra en las paredes celulares de las plantas e incluso aumenta el proceso de lignificación. Nótese en la tabla 6, particularmente la PM, tuvo un mayor valor de energía de lactancia (Mcal/kg.MS) en época de verano, y se presume una mayor disponibilidad de hemicelulosas ya que fue más baja el FDA en referencia de la fibra total.

4.1.2. Composición química específica del componente fibroso

Como se observa en la tabla 7 los resultados del contenido PC en BE, PM y CM fueron 10,5%, 5,3% 6,1%, respectivamente, en otros trabajos encontraron resultados similares como es el caso de BE un 13% (Fung, 1994; Lindo, 1993), PM 5,1% (Gómez et al., 2013a) y CM un 6,8 % (Masenda, 2005). La FDN y FDA en la BE fueron 59 y 40%, en PM 75 y 40% y en CM 86 y 72% respectivamente. Cabe indicar existe limitada información de resultados sobre FDN y FDA en BE y CM por lo tanto no son posibles los niveles de discusiones específicas.

Tabla 7. Composición química específica del componente fibroso en base seca (%).

	Proteína cruda (%)	Cenizas (%)	M.O. (%)	FDN (%)	FDA (%)	LDA (%)	HEMI (%)	CEL (%)
Broza de espárrago	10,5 ±0,2	13,8 ±0,4	86,2 ±0,4	59,0 ±1,1	40,4 ±0,8	12,8 ±0,5	18,4 ±1,3	27,5 ±0,7
Panca de maíz	5,3 ±0,2	8,3 ±0,2	91,7 ±0,2	75,8 ±1,1	40,4 ±1,0	2,9 ±0,5	33,7 ±0,9	37,5 ±1,1
Cascara de maní	6,1 ±0,3	3,9 ±0,2	96,1 ±0,2	86,0 ±1,4	71,9 ±1,5	33,5 ±1,5	13,2 ±1,6	38,4 ±1,5

MO= Materia orgánica; FDN= Fibra detergente neutra; FDA= Fibra detergente acida; LDA= Lignina detergente acida; HEMI = Hemicelulosa; CEL= Celulosa.

La pared celular es una capa rígida que se localiza en el exterior de la membrana plasmática en las células de plantas, cuya implicancia muchos autores relacionan con el consumo voluntario de alimento y la digestibilidad de la materia seca. Según Van Soest (1982) el índice del valor nutricional es el resultado relativo del consumo y digestibilidad de los forrajes donde explica que para un alimento con mayor nivel de lignocelulosa (FDA) se puede predecir bajo consumo y menor porcentaje de digestibilidad.

El parámetro de FDN es importante para predecir el consumo voluntario de la materia seca, por lo que existen varias ecuaciones para ello y esto explica que a mayor contenido de FDN menor será el consumo de la materia seca (Mertens, 1987; Allen, 1996). Como se puede observar en la tabla 7 la CM tiene el mayor porcentaje en base seca de FDN comparado con PM y BE (86 vs 76 y 59%, respectivamente). Por otro lado, con los valores de FDA y LDA utilizados en ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia seca de los forrajes, se explica también que a mayor FDA será menor la digestibilidad (Briceno et al., 1987; Garcia et al., 2003). Basado en lo que se muestra, algunos de éstos residuos van a tener un mayor impacto en disminuir la digestibilidad debido a que existe una relación estrecha con el alto contenido de FDA, sin embargo éste efecto será más notorio en la CM por su alto contenido de LDA (33,5 %)

4.2. Efecto de la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas sobre la digestibilidad in vitro de los residuos de cosecha

4.2.1. Digestibilidad in vitro de la materia seca y la fibra detergente neutra

Uso de celulasas

Como se observa en la tabla 8, la DIVMS de la PM fue mayor ($p < 0,001$) al aplicar celulasas en niveles de 4000 y 8000 UI/kg.MS en comparación con el control. Los resultados concuerdan con los de Eun y Beauchemin (2007), quienes encontraron mayor DIVMS en aquellos tratamientos aplicando celulasas a 690, 1030 y 1370 UI/kg.MS sobre ensilaje de maíz. De la misma manera, Tang et al. (2008), quienes aplicaron celulasas sobre la PM, también observaron mejoras frente al control, sin embargo, existe una limitante al comparar la dosis de este trabajo porque no está disponible información sobre la actividad enzimática empleada. La DIVFDN de la PM también fue mayor en los niveles tratados (2000, 4000 y 8000 UI/kg.MS) que el control ($p < 0,001$) en el presente trabajo. En ensayos similares con pasto bermuda, Romero et al. (2015) encontraron incremento en DIVFDN ($p < 0,05$) en aquellos en los que se aplicó celulasas en dosis de 3000 y 4000 UI/kg.MS de la misma manera, Titi and Tabbaa (2004) también encontraron aumento en DIVFDN ($p < 0,01$) sobre paja de cebada y trigo. Esto hace presumir que existiría una mayor degradabilidad de la fibra total por parte de los animales en función de las dosis de celulasas aplicadas.

Para la broza de espárrago (BE), la DIVMS y DIVFDN no se modificaron al comparar los grupos tratados y el de control. Respecto a la cáscara de maní (CM), únicamente existió diferencia ($p < 0,001$) en DIVMS con el nivel 8000 UI/ kg.MS, que fue superior al control (24,9 % vs. 22,3 %, respectivamente), pero en la DIVFDN fueron similares los tratamientos con el control. Estos resultados coinciden con Malik y Bandla (2010), quienes encontraron mayor DIVMS en aquellos tratamientos en que se usó celulasas en dosis de 4000 y 8000 UI/kg.MS sobre paja de trigo. Sin embargo, al contrario, Eun et al. (2007b) y Holtshausen et al. (2011) indicaron respuestas similares al aplicar celulasas sobre ensilaje de maíz y alfalfa. Cabe señalar que estos forrajes tienen mejor digestibilidad que los residuos de cosecha evaluados, así como menor contenido de

lignina, por lo parecería que las EFEs mejora la digestibilidad estos tipos de sustratos y no así en alimentos con mayor contenido de fibra, sin embargo, dado que hay limitados trabajos sobre residuos de cosecha, esto ameritaría confirmarse.

Uso de xilanasas

La DIVMS de la PM se incrementó ($p < 0,001$) al aplicar xilanasas en los niveles de 4000 y 8000 UI/kg.MS. De modo semejante, Moreno et al. (2007) y Avellaneda et al. (2007) encontraron mejoras al aplicar xilanasas para heno de alfalfa y *Brachiaria sp.*, respectivamente, aunque con menores dosis (200 y 100 UI/kg.MS). Por el contrario, Dean et al. (2005) reportaron similares respuestas al aplicar xilanasas sobre ensilaje de pasto bermuda en dosis de 2600, 5200 y 10400 UI/kg.MS. La DIVFDN de la PM fue mayor ($p < 0,001$) en los grupos tratados con 4000 y 8000 UI/kg.MS vs. el grupo de control (tabla 8). Estos resultados concuerdan con los de Moreno et al. (2007), quienes indicaron diferencias ($p < 0,01$) sobre heno de alfalfa al aplicar xilanasas en dosis de 200 UI/kg.MS. Pero, por el contrario, Holtshausen et al. (2011) y Dean et al. (2005) encontraron niveles similares para la DIVFDN al aplicar xilanasas sobre ensilaje de alfalfa y pasto bermuda, con dosis también similares a las utilizadas en este trabajo.

Para la BE la aplicación de xilanasas no cambió la DIVMS y DIVFDN, por lo tanto, no existió efecto en este residuo. En el caso de la CM, en la DIVMS fue mayor ($p < 0,001$) al aplicar xilanasas con los niveles de 2000, 4000 y 8000 UI/kg.MS, pero en el caso de la DIVFDN fueron similares las dosis de xilanasas comparadas con las del grupo de control (tabla 8). Trabajos similares, como el de Elwakeel et al. (2007), quienes aplicaron xilanasas sobre cáscara de soya y ensilaje de maíz en dosis de 112, 560, 1680 y 3360 UI/kg.MS, indicaron mayores efectos de digestibilidad *in vitro*, a diferencia de Dean et al. (2005), quienes al aplicar xilanasas señalaron resultados iguales de la DIVMS sobre ensilaje de pasto bermuda en dosis de 5200 y 10400 UI/kg.MS.

Tabla 8. Digestibilidad *in vitro* (%) aplicando celulasas o xilanasas a los residuos de cosecha a 48 h de incubación.

Tratamientos	Celulasas (EC 3.2.1.4)					Xilanasas (EC 3.2.1.8)				
	Panca de maíz (PM)					Panca de maíz (PM)				
	DIVMS ²	DIVFDN ³	DIVHEM ⁴	DIVCEL ⁵	DIVMO ⁶	DIVMS ²	DIVFDN ³	DIVHEM ⁴	DIVCEL ⁵	DIVMO ⁶
0 UI/kg. MS (control)	61,8 ^c	50,1 ^b	48,5 ^b	56,4	61,9 ^c	61,8 ^c	51,6 ^c	50,0	58,1	61,9 ^c
2000 UI/kg.MS	63,0 ^{bc}	51,1 ^{ab}	49,6 ^{ab}	58,4	63,1 ^{bc}	63,4 ^b	52,0 ^{bc}	51,6	59,0	63,6 ^b
4000 UI/kg.MS	63,6 ^{ab}	51,8 ^{ab}	50,3 ^{ab}	58,7	63,7 ^{ab}	64,4 ^{ab}	53,4 ^{ab}	52,2	59,2	64,6 ^{ab}
8000 UI/kg.MS	64,4 ^a	53,0 ^a	51,9 ^a	58,6	64,5 ^a	64,6 ^a	53,5 ^a	51,7	59,1	64,7 ^a
Probabilidad estadísticas	***	***	*	ns	***	***	***	ns	ns	***
EEM ¹	0,158	0,264	0,331	0,527	0,163	0,203	0,169	0,371	0,428	0,128
	Broza de espárrago (BE)					Broza de espárrago (BE)				
0 UI/kg. MS (control)	58,2	32,5	28,3	38,9 ^b	55,9	58,2	31,1	23,8	42,5	55,9
2000 UI/kg.MS	59,8	34,0	29,8	40,3 ^{ab}	57,5	59,0	32,7	26,6	43,3	56,7
4000 UI/kg.MS	59,5	33,7	29,9	41,0 ^a	57,3	59,1	33,0	27,1	44,8	56,8
8000 UI/kg.MS	60,3	35,0	31,5	41,9 ^a	58,1	59,2	33,1	29,0	45,0	56,9
Probabilidad estadísticas	ns	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns
EEM ¹	0,354	0,400	0,435	0,207	0,393	0,462	0,418	0,851	0,439	0,511
	Cáscara de maní (CM)					Cáscara de maní (CM)				
0 UI/kg. MS (control)	22,3 ^b	6,4	3,3	9,6	21,6 ^b	22,3 ^b	9,5	6,4	11,2	21,5 ^b
2000 UI/kg.MS	22,8 ^b	7,0	3,6	11,8	22,0 ^b	24,3 ^a	10,6	5,3	13,4	23,5 ^a
4000 UI/kg.MS	23,5 ^b	7,9	3,9	11,7	22,7 ^b	23,9 ^{ab}	10,1	5,3	13,6	23,1 ^{ab}
8000 UI/kg.MS	24,9 ^a	9,6	3,9	11,8	24,1 ^a	24,6 ^a	11,1	4,6	13,8	23,9 ^a
Probabilidad estadísticas	***	ns	ns	ns	***	***	ns	ns	ns	*
EEM ¹	0,147	0,479	0,108	0,318	0,182	0,206	0,377	0,247	0,437	0,244

¹Error estándar de la media. El número de observaciones usadas fue n=24; ² DIVMS= Digestibilidad *in vitro* de la materia seca; ³DIVFDN = Digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutra; ⁴DIVHEM= Digestibilidad *in vitro* de la hemicelulosa; ⁵DIVCEL= Digestibilidad *in vitro* de la celulosa; ⁶DIVMO= Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica; ***P<0.001; **P<0.01; *P<0.05 y ns=no significativo. BE=Broza de espárrago; PM= Panca de maíz; CM= Cáscara de maní.

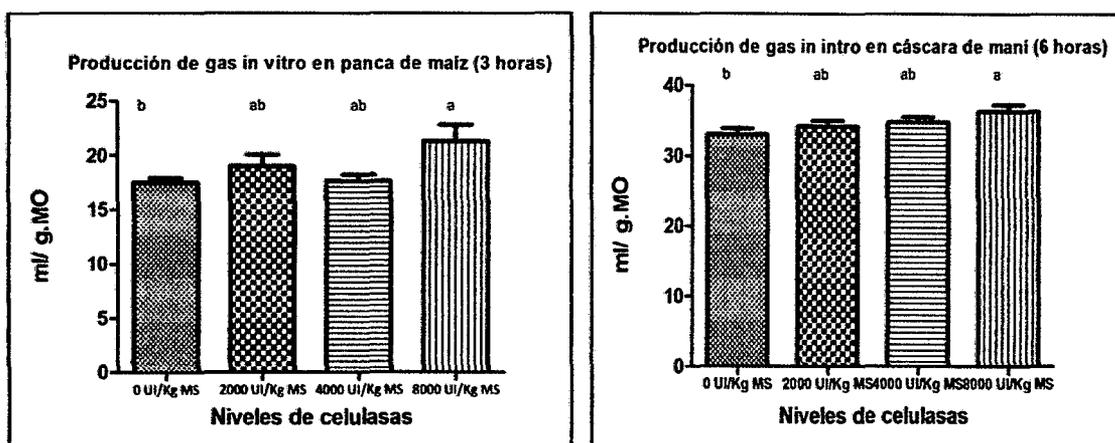
4.2.2. Producción de gas *in vitro*.

Uso de celulasas

En la PM durante las 3, 6, 12, 24 y 48 h de medición de gas, solo a las tres horas fue mayor (p< 0,05) en los niveles tratados (tabla 9 y figura 2), mientras que para el resto de los tiempos de medición la producción de gas fue similar, resultado que coincide con el de Wang et al. (2004), quienes reportaron una mayor producción de gas en el nivel tratado con 4190 UI/kg.MS de celulasas sobre paja de trigo a las dos horas. En el caso de la BE no hubo diferencias al comparar el control en ninguno de los tiempos de medición. En cambio, en la CM la producción de gas *in vitro* fue mayor a las seis horas de incubación (p< 0,05) en los grupos tratados con celulasas a 2000, 4000 y 8000 UI/kg.MS

(tabla 9 y figura 2). Asimismo, Jalilvand et al. (2008) y Colombato et al. (2003) reportaron mayor producción de gas a las seis horas ($p < 0,001$) en los grupos tratados con celulasas con dosis de 12600 y 25200 UI/kg.MS, a diferencia de Wang et al. (2004), quienes reportaron resultados similares sobre la paja de trigo con dosis de 4190 UI/kg.MS, también a las seis horas.

Figura 2. Producción de gas *in vitro* (mL/g.MO) en panca de maíz (3 h) y cáscara de maní (6 h) aplicando celulasas.



Uso de xilanasas

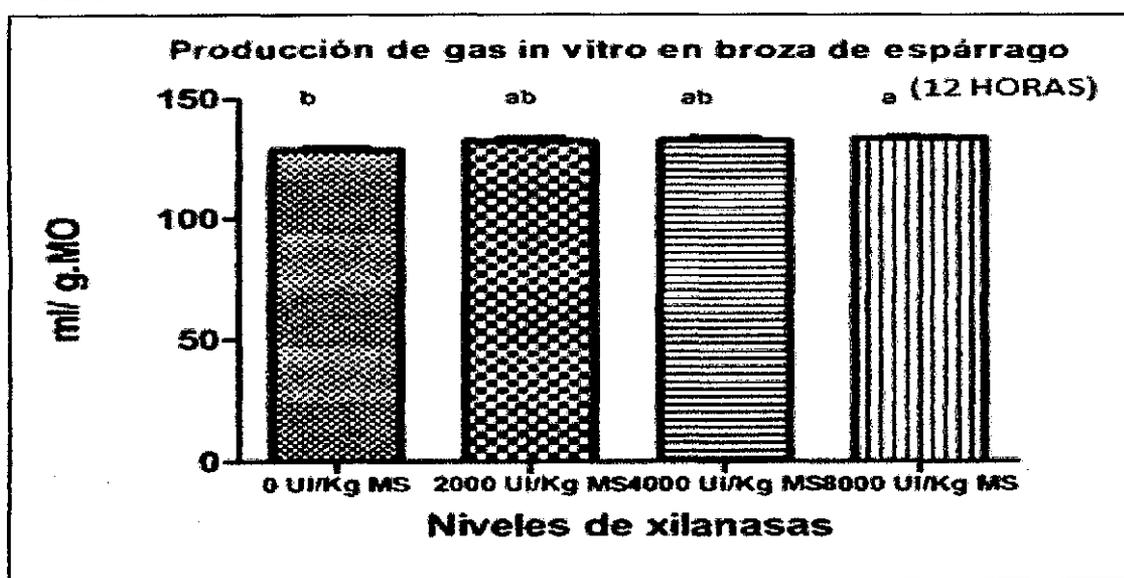
En el caso de la PM, la producción de gas fue similar en todos los tiempos de medición (3, 6, 12, 24 y 48 h). Estos resultados coinciden con los de Jalilvand et al. (2008), quienes al aplicar xilanasas sobre heno de alfalfa en dosis de 12600 y 25200 UI/kg.MS no encontraron diferencias. Para la BE, la producción solo fue mayor al aplicar xilanasas a las 12 h ($p < 0,05$) en los niveles de 2000, 4000 y 8000 UI/kg.MS (tabla 9). Igualmente, Colombato et al. (2003), Wang et al. (2004) y Eun et al. (2007b), al aplicar xilanasas sobre ensilaje de maíz y ensilaje de cebada, reportaron también mayor producción de gas *in vitro* a las 12 h. Jalilvand et al. (2008), por el contrario, indicaron que la producción de gas no demostró ningún efecto a dosis de 12600 y 25200 UI/kg.MS sobre heno de alfalfa. En el caso de la CM, la producción de gas fue similar en todos los tiempos de medición (3, 6, 12, 24 y 48 h) durante el desarrollo de la investigación (tabla 9 y figura 3).

Tabla 9. Producción de gas *in vitro* (mL/g.MO) aplicando celulasas o xilanasas a los residuos de cosecha.

Tratamientos	Celulasas (EC 3.2.1.4)					Xilanasas (EC 3.2.1.8)				
	Panca de maíz					Panca de maíz				
	3 HORAS	6 HORAS	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	3 HORAS	6 HORAS	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
0 UI/kg. MS (control)	17,3 ^b	33,7	95,0	357,4	749,0	20,8	37,2	97,2	373,9	742,1
2000 UI/kg.MS	19,0 ^{ab}	36,1	96,7	363,8	753,5	20,7	38,8	99,6	386,0	769,3
4000 UI/kg.MS	17,9 ^{ab}	35,0	96,6	362,1	753,2	22,4	39,3	99,9	388,9	767,8
8000 UI/kg.MS	21,4 ^a	39,6	98,8	371,6	755,1	23,5	40,2	100,2	383,0	756,4
Probabilidad estadísticas	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
EEM ¹	0,511	1,094	2,364	4,023	6,133	0,357	1,145	2,253	6,542	7,964
	Broza de espárrago					Broza de espárrago				
0 UI/kg. MS (control)	34,0	65,2	126,6	306,4	494,3	34,0	66,5	128,9 ^b	311,8	480,2
2000 UI/kg.MS	36,0	68,0	131,3	307,4	501,6	35,3	67,4	132,2 ^{ab}	314,4	484,1
4000 UI/kg.MS	37,7	69,5	132,7	315,5	495,1	36,2	67,9	132,8 ^{ab}	315,7	488,2
8000 UI/kg.MS	38,0	70,3	134,1	315,2	502,3	36,2	67,9	133,6 ^a	315,5	485,3
Probabilidad estadísticas	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
EEM ¹	0,912	0,965	1,000	3,577	2,813	1,337	1,172	0,521	3,000	3,487
	Cáscara de maní					Cáscara de maní				
0 UI/kg. MS (control)	19,4	32,7 ^b	51,9	89,6	125,2	19,0	34,5	51,3	86,9	127,6
2000 UI/kg.MS	21,4	34,2 ^{ab}	54,0	91,2	127,6	22,6	35,6	58,7	96,3	131,2
4000 UI/kg.MS	20,3	35,0 ^{ab}	53,5	92,1	129,7	21,2	36,7	57,3	93,7	128,9
8000 UI/kg.MS	21,8	36,2 ^a	54,1	92,8	128,4	21,3	36,6	55,5	92,7	130,0
Probabilidad estadísticas	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
EEM ¹	0,496	0,411	1,247	1,289	2,833	0,464	0,338	1,539	1,566	2,672

¹Error estándar de la media. El número de observaciones usadas fue n=24; ***P<0.001; **P<0.01; *P<0.05 y ns=no significativo. BE=Broza de espárrago; PM= Panca de maíz; CM= Cáscara de maní.

Figura 3. Producción de gas *in vitro* (mL/g.MO) en broza de espárrago (12 h) aplicando xilanasas.



4.2.3. Concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) en el fluido ruminal

Uso de celulasas

En la PM, BE y CM, la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt) al aplicar celulasas no fue diferente, de la misma manera que entre las concentraciones en forma individual (acético, propiónico y butírico) (tabla 10). Wang et al. (2004), Eun et al. (2007a), Giraldo et al. (2008a) y Romero et al. (2013) también encontraron repuestas similares en el uso de *celulasas* al hacer comparaciones con un control sobre heno de cebada, pasto bermuda, paja de trigo o heno de alfalfa, con dosis un poco similares; pero, al contrario, Medina et al. (2006) y Elwakeel et al. (2007) indicaron una mayor concentración de AGVt cuando se aplicaba *celulasas* sobre harina de nopal, cáscara de soya y ensilaje de maíz destinados a la alimentación de vacas lecheras.

Uso de xilanasas

El uso de *xilanasas* sobre la PM no modificó la concentración de AGVt, pero al analizar en forma individual la concentración de ácido propionico fue mayor ($p < 0,05$) con las dosis de 2000 y 4000 UI/kg.MS frente al nivel de 8000 UI/kg.MS (15,8, 15 y 16,7 vs. 14,8 mM, respectivamente). De la misma manera, Giraldo et al. (2008a) reportaron mayor concentración de propiónico al aplicar xilanasas en dosis de 40 y 80 UI/g.MS de heno de pasto guinea. Pero, a diferencia de Medina et al. (2006), Arriola et al. (2011) encontraron concentraciones de propiónico similares al aplicar xilanasas sobre ensilaje de maíz, heno de alfalfa o harina de nopal.

En el caso de la BE, la concentración de AGVt e individuales (acético, propionico y butírico) fue similar a la concentración luego de la aplicación de xilanasas en las diferentes dosis. Para la CM presentó diferencias en la concentración de AGVt ($p < 0,01$), y fueron mayores los niveles de 0 y 2000 versus los de 4000 y 8000 UI/kg.MS. De modo similar, Arriola et al. (2011) reportaron mayor concentración de AGVt al usar xilanasas sobre ensilaje de maíz y heno de alfalfa con dosis de 12342 UI/kg.MS. La concentración de AGVt en forma individual, en el caso del acético, fue mayor ($p < 0,001$) en los niveles de 0 y 2000 en comparación con los de 4000 y 8000 UI/kg.MS (tabla 10), al contrario

que Arriola et al. (2011). Romero et al. (2015) reportaron concentraciones similares al aplicar xilanasas sobre ensilaje de maíz, heno de alfalfa y henolaje del pasto bermuda. La concentración de ácido propiónico en la CM fue mayor ($p < 0,05$) en los tratamientos de 0, 2000 y 4000 frente 8000 UI/kg.MS en este ensayo. Giraldo et al. (2008b) también encontraron diferencia en las concentraciones de propionico al aplicar xilanasas sobre heno de pasto guinea en dietas de vacas lecheras. A diferencia de Arriola et al. (2011), indicaron concentraciones similares de propionico al aplicar xilanasas y compararlo con el testigo sobre ensilaje de maíz y heno de alfalfa. Estos resultados indican que en la mayoría de los casos en la CM al aplicar xilanasas la concentración de AVGt, el control es más alta que en los grupos tratados, hecho que no tiene explicación pero concuerda con que el efecto de las EFEs son inconsistentes (Beauchemin y Holtshausen, 2010; Meale, et al., 2013), por lo que las cantidades aplicadas varían en función del sustrato evaluado y el tipo de enzima (tabla 10).

Tabla 10. Concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVt, ácido acético, propionico y butírico) después de la digestibilidad *in vitro* a 48 h en residuos de cosecha aplicando celulasas o xilanasas.

Tratamientos	Celulasas (EC 3.2.1.4)					Xilanasas (EC 3.2.1.8)				
	Panca de maíz Individual (mM)					Panca de maíz Individual (mM)				
	³ AGVt (mM)	ACETICO	PROPIONIC	BUTIRICO	RELACION ² A:P	³ AGVt (mM)	ACETICO	PROPIONIC	BUTIRICO	RELACION ² A:P
0 UI/kg. MS (control)	64,3	43,7	14,2	6,5	3,1	71,3	47,3	15,8 ^{ab}	8,2	3,0
2000 UI/kg. MS	63,8	43,3	14,0	6,5	3,1	69,5	46,7	15,0 ^{ab}	7,8	3,1
4000 UI/kg. MS	65,3	43,8	14,7	6,8	3,0	75,3	50,2	16,7 ^a	8,3	3,0
8000 UI/kg. MS	60,8	41,0	13,5	6,3	3,0	67,3	44,8	14,8 ^b	7,7	3,0
Probabilidad estadísticas	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
EEM ¹	0,968	0,631	0,231	0,138	0,014	1,119	0,786	0,228	0,147	0,024
	Broza de espárrago					Broza de espárrago				
0 UI/kg. MS (control)	58,5	40,0	11,5	7,0	3,5	49,8	34,3	10,0	5,5	3,4
2000 UI/kg. MS	62,5	45,0	11,5	6,0	3,9	52,2	35,8	10,3	6,0	3,5
4000 UI/kg. MS	61,2	43,8	11,3	6,0	3,8	50,2	34,7	10,0	6,0	3,5
8000 UI/kg. MS	56,2	38,7	11,5	6,0	3,4	50,3	34,8	10,0	5,5	3,5
Probabilidad estadísticas	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
EEM ¹	2,128	1,867	0,110	0,194	0,134	1,263	0,857	0,271	0,137	0,028
	Cáscara de maní					Cáscara de maní				
0 UI/kg. MS (control)	38,0	26,2	7,3	4,5	3,6	43,7 ^a	29,3 ^a	8,0 ^a	6,3	3,7
2000 UI/kg. MS	39,8	27,3	7,5	5,0	3,6	41,5 ^{ab}	28,2 ^{ab}	7,8 ^{ab}	5,5	3,6
4000 UI/kg. MS	39,8	27,3	7,5	5,0	3,6	40,7 ^b	27,5 ^b	7,3 ^{ab}	5,8	3,8
8000 UI/kg. MS	40,0	26,8	7,7	5,5	3,5	39,5 ^b	26,8 ^b	7,2 ^b	5,5	3,8
Probabilidad estadísticas	ns	ns	ns	ns	ns	**	***	*	ns	ns
EEM ¹	0,715	0,443	0,109	0,188	0,032	0,315	0,207	0,102	0,122	0,042

¹Error estándar de la media. El número de observaciones usadas fue n=24; ²(A. acético, P. propionico) ***P<0.001; **P<0.01; *P<0.05 y ns= P>0.05; mM= milimoles; ³AGVt= ácidos grasos volátiles totales.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se desarrolló el estudio, se concluye:

1. Al aplicar celulasas o xilanasas sobre la panca de maíz se mejoró la digestibilidad *in vitro* de la materia seca y de la fibra detergente neutra, mientras que con la cáscara de maní solo la digestibilidad *in vitro* de la materia seca fue mayor. En broza de espárrago no hubo mejora en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca.
2. De acuerdo a las zonas de disponibilidad de los residuos de cosecha, la panca de maíz y la broza de espárrago proveniente de Trujillo y Lima (Perú), y la cáscara de maní de Manabí, Loja y El Oro (Ecuador) fueron similares en su composición química y energía neta de lactancia.
3. De acuerdo a las estaciones del año en el verano, la panca de maíz muestra mayores valores en materia orgánica, fibra detergente neutra y energía neta de lactancia; mientras que en la cáscara de maní solo hay un aumento en materia orgánica.
4. Los tratamientos con celulasas o xilanasas no tuvieron efectos en la producción de gas *in vitro* a 48 horas en los tres residuos de cosecha. Sin embargo, en panca de maíz y cascara de maní al aplicar celulasas la producción de gas fue mayor a los 3 y 6 h de incubación, mientras que en broza de espárrago las xilanasas incrementaron la producción de gas a las 12 h.
5. La concentración de ácidos grasos volátiles totales (ácido acético, propionico y butírico) fue similar al aplicar celulasas en los tres residuos de cosecha, mientras que con xilanasas en cáscara de maní fue menor en los tratamientos con niveles de 4000 y 8000 UI/kg.MS.

6. Considerando la concentración de ácidos grasos volátiles en forma individual, el uso de xilanasas sobre la panca de maíz a nivel 8000 UI/kg.MS produjo una menor producción de ácido propiónico que en las no tratadas. En el caso de la cáscara de maní, las concentraciones observadas de ácido acético y propionico fueron menores cuando se usaron niveles de enzima de 4000 y 8000 UI/kg.MS.

VI. RECOMENDACIONES

1. Medir la degradabilidad *in situ* y digestibilidad *in vivo* en ensayos usando animales para evaluar el efecto de la aplicación de celulasas o xilanasas sobre panca de maíz y cáscara de maní.
2. Extender este estudio para evaluar mediante la técnica de la digestibilidad *in vitro* en forma combinada los efectos de las celulasas, xilanasas y esterases del ácido ferúlico. Estos estudios permitirían medir el efecto de su sinergia sobre los residuos de cosecha.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADESOGAN, A. T.; MA, Z. X.; ROMERO, J. J. AND ARRIOLA, K. G. 2014. Ruminant nutrition symposium: Improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. *J. Anim. Sci.* 92: 1317-1330.
- ALLEN, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forage by ruminants. *J. Animal science.* 74: 3063-3075.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMIST (AOAC). 2005. *Official Methods of Analysis.* Washington D.C. 125 p.
- AKIN, D. E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agron. J.* 81:17-25.
- ARANDA, E. M., MENDOZA, G. D., RAMOS, J. A., DA SILVA, I. C. AND VITTI, A. C. 2010. Effect of fibrolitic enzymes on rumen microbial degradation of sugarcane fiber. *J. Ciencia Animal Brasileña.* Goiania. Vol. 11. N° 3. p 488-495.
- ARRIARÁN, Q. J. 1989. Efecto de la panca de maíz (*Zea mays*) tratada con dos niveles de urea en la alimentación de vacas Holstein sobre la producción y tenor graso de leche. Tesis de Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.
- ARRIOLA, K. G., KIM, S. C., STAPLES, C. R. AND ADESOGAN, A. T. 2011. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94:832-841.

- AVELLANEDA, J. H., GONZALES, S. S., PINOS-RODRÍGUEZ, J. M., HERNÁNDEZ, A., MONTANEZ, O. Y OSEGUERA, J.A. 2007. Enzimas fibrolíticas exógenas en la digestibilidad in vitro de cinco ecotipos de brachiaria. Revista Agronomía Mesoamericana. Vol. 18; N° 001. Costa Rica, p. 11-17.
- BAILEY, M. J., BIELY, P. AND POUTANEN, K. 1992. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. J. Biotech. 23: 257-270.
- BANSAL, P., HALL, M., REALFF, M. J., LEE, J. H. AND BOMMARIUS, A. S. 2009. Modeling cellulose kinetics on lignocellulosic substrates. J. Biotechnology Advances. 27: 833-848.
- BARRENA, V., GRANELA, J., GARCÍA, H., FLORES, N, RUBÍN, E., OCAÑA, J. y GUILLEN, R. 2010. Análisis biomásico leñoso y de residuos para uso de combustible. Disponible en www.fao.org/docre.
- BAYER, E. A., CHANZY, H., LAMED, R. AND SHOHAM, Y. 1998. Cellulose, cellulases and cellulo-somes. Current Opinion in Structural Biology 8:548–557.
- BEAUCHEMIN, K.A., AND RODE, L.M. 1996. Use of feed enzymes in ruminant nutrition. En: Animal Science Research Development. Meeting Future Challenges. Proceedings of the Canadian Society of Animal Science Meeting. Ed. L.M. Rode. Lethbridge, Alberta, pp. 103-130
- BEAUCHEMIN, K. A., RODE, L. M. AND SEWALT, V. J. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. Can. J. Anim. Sci. 75: 641-644.
- BEAUCHEMIN, K. A., RODE, L. AND SEWALT, J. 2002. Patente de aditivos enzimáticos para piensos de rumiantes. Oficina Española de Patentes y Marcas.
- BEAUCHEMIN, K. A. AND HOLTSHAUSEN, L. 2010. Developments in Enzyme Usage in Ruminants. Enzymes in Farm Animal Nutrition. 2nd Edition. Edited by Bedford M. and Partridge G. USA. p. 206-225.

- BÉGUIN, P. AND AUBERT, J. P. 1994. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Rev.* 13: 2558.
- BHAT, M. K. AND HAZELWOOD, G. P. 2001. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. p 11-60. In: *Enzymes in farm animal nutrition*. M. R. Bedford and G. C. Partridge (Eds.). CABI Publishing, New York, NY.
- BLEDZKI, A. K. AND GASSAN, J. 1999. Composites reinforced with cellulose based fibres. *J. Progress in Polymer Science.* 24: 221- 274.
- BRICENO, J. V., VAN HORN, H. H., HARRIS, B. AND WILCOX, C. J. 1987. Effects of Neutral Detergent Fiber and Roughage source on Dry matter intake and Milk Yield and Composition of dairy cows. *J. Dairy Science.* 70: 298-308.
- CARAVACA, F. P., COSTEL, J. M., GUZMAN, J. L., DELGADO, M., MENA, Y., ALCALDE, M. J., y GONZALEZ, P. 2003. *La clasificación de los alimentos: Bases de la producción animal*. 1er edición, editorial Sevilla. Sevilla-España.
- CARRASCO, R. R. 1994. Composición química, degradabilidad y digestibilidad de la broza de espárrago (*Asparogus officinalis*). Tesis Ingeniero Zootecnista Facultad de Zootecnia. Universidad Nacional Agraria La Molina..Lima-Perú.
- CÁCERES, O., OJEDA, F., SANTANA, H., MILERA, M., REMY, V., LAMELA, L., MESA, A., PEREIRO, M. Y ROSETE, A. 2005. Tablas de valor nutritivo y requerimientos para el ganado bovino. *Rev. Pastos y Forrajes.* 32(2):3. Estación Experimental de pastos y forrajes Indio Hatuey. Cuba.
- CAJA, G., GONZALES, E., FLORES, C., CARRO, M. O. Y ALBANELL, E. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: prebióticos, enzimas y asidos orgánicos. XIX Curso de especialización FEDNA. Madrid- España.
- CARREÓN, L., PINOS-RODRIGUEZ, J. M., BARCENA, R., GONZALEZ, S. S., AND MENDOZA, G. 2010. Influence of fibrolytic enzymes on ruminal disappearance and fermentation in steers fed diets with short and long particle length of forage. *Italian Journal of Animal Science.* Vol. 9: e17: 83-87.

CHAMBA, D. 2006. Análisis de la cadena de maní en el Cantón Palta–Loja. Fundación de apoyo comunitario y social del Ecuador- FACES- Loja-Ecuador.

CHAMBI, E. 2007. Optimización de las condiciones de cultivo adecuadas para la producción de biogás mediante la digestión anaerobia de la paja de quinua (*Chenopodium quinua wildenou*) y cáscara de arroz (*Oryza sativa*) como residuos agrícola. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz- Bolivia.

CHÁVEZ, A. 2007. Producción de espárragos en el Perú. Trabajo monográfico disponible en: www.monografias.com.

CHESSON, A. Y FORSBERG, C.W. 1997. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson, P. and Stewart, C. (eds) *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2nd edn. Chapman & Hall Ltd, Andover, UK, pp. 329–381

COLOMBATTO, D., HERVÁS, G., YANG, W. Z. AND BEAUCHEMIN, K. A. 2003. Effects of enzyme supplementation of a total mixed ration on microbial fermentation in continuous culture, maintained at high and low pH. *J. Anim. Sci.* 81: 2617–2627.

CONE, J. W. AND ENGELS, F. M. 1993. The influence of ageing on cell wall composition and degradability of three maize genotypes. *J. Animal Feed Science and Technology.* 40: 331-342.

CRAMPTON, E. Y HARRIS, L. E. 1974. *Nutrición animal aplicada: El uso de alimentos para formulación de raciones para el Ganado.* De Acribia. Zaragoza- España.

DEAN, D. B., ADESOGAN, A. T., KRUEGER N. AND LITTELL, R. C. 2005. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. *J. Dairy Sci.* 88:994–1003.

DEHORITY, B. A. AND TIRABASSO, P. A. 1998. Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on in situ digestion of forage cellulose. *J. Anim. Sci.* 76:2905–2911.

- DÍAZ, A., CARRO, M. D., SARO, C., MATEOS, I. ODONGO, E. AND RANILLA, M. J. 2013. In Vitro Evaluation of Commercial Fibrolytic Enzymes for Improving the Nutritive Value of Low-Quality Forages. *J. Animal Nutrition and Feed Technology*. 13: 461-474.
- DOERNER, K. C. AND WHITE, B.A. 1990. Assessment of the endo- β -1,4-glucanase components of *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1844-1850.
- EGURE, F. 2003. La agricultura de la Costa Peruana. *Debate agrario*. 35, 1-58.
- ELWAKEEL, E. A., TITGEMEYER, E. C., JOHNSON, B. J., ARMENDARIZ, C. K. AND SHIRLEY, J. E. 2007. Fibrolytic Enzymes to increase the Nutritive Value of Dairy Feedstuffs. *J. Dairy Science*. 90: 5226-5236.
- ERWIN, E. S., MARCO, G. J. AND EMERY, E. M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768–1771.
- EUN, J. S. AND BEAUCHEMIN, K. A. 2007. Enhancing *in vitro* degradation of Alfalfa hay and corn silage using feed enzymes. *J. Dairy Science*. 90:2839-2851.
- EUN, J. S., BEAUCHEMIN, K. A. AND SCHULZE, H. 2007a. Use of exogenous fibrolytic enzymes to enhance *in vitro* fermentation of Alfalfa hay and corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:1440-1451.
- EUN, J. S., BEAUCHEMIN, K. A. AND SCHULZE, H. 2007b. Use of an *in vitro* fermentation biossay to evaluate improvements in degradation of alfalfa hay due to exogenous feed enzymes. *J. Animal Feed Science and Technology* 135: 315-328.
- EVERT, R. F. 2006. Esau's plant anatomy, meristem, cell, and tissues of the plant body: Their structure, function and development. Third edition. Editorial Wiley. Printed in the USA.
- FARACO, V. 2013. Lignocellulose Conversion: Enzymatic and microbial tools for Bioethanol Production. Editorial Springer. N.Y.

FEEDSTUFFS. 2005. September 15, Volume 76. Number 38. The Feedstuffs Reference Issue and Buyers Guide. Cargill Animal Nutrition. USA.

FLACHOWSKY, G. AND KAMPHUES, J. 2012. Carbon-footprints for food of animal origin: What are the most preferable criteria to measure animal yields?. *Journal Animals*. 2: 108-126.

FLINT, H. J. 1997. The rumen microbial ecosystem- some recent developments. *Reviews*. Rowett Research Institute. Bucksburn, Aberdeen. UK.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2010. Bioenergía y seguridad alimentaria "BEFS" para el Perú. Compendio Técnico. Volumen II. Metodología. 180 p. Disponible en: www.fao.org/docrep/013/i1708s.pdf.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2013. FAO.STAT. Disponible en: www.faostat.fao.org. Revisado 15 de enero 2014.

FORSBERG, C. W., FORANO, E., AND CHESSON, A. 2000. Microbial adherence to the plant cell wall and enzymatic hydrolysis. *Ruminant Physiology Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, 79-98.

FUNG, P. R. 1994. Determinación del consumo voluntario y digestibilidad del heno de broza de espárrago entero y picado en caprinos. Tesis de Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú.

GARCIA, A., THIEX, N., KALSCHEUR, R. AND TJARDES. K. 2003. Interpreting Hay and Haylage Analysis. *Rev. Extension Extra* 4002. Dairy science.

GIRALDO, L. A., TEJIDO, M. L., RANILLA, M. J., RAMOS, S. AND CARRO, M. D. 2008a. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet. *J. Anim. Sci.* 86: 1617-1623.

GIRALDO, L. A., TEJIDO, M. L., RANILLA, M. J. AND CARRO, M. D. 2008b. Effects on exogenous fibrolytic enzymes on in vitro ruminal fermentation of substrates ratios. *J. Animal Feed Science and Technology*. 141: 306-325.

GOERING, H y VAN SOEST P. 1970. Análisis de Fibra de Forrajes. Universidad Nacional Agraria La Molina. Programa de Forrajes. Traducción de "Forage fiber analyses" Misión agrícola de la Universidad de Carolina del Norte- USAID. Lima-Perú.

GÓMEZ, C., GAMARRA, J., SÁNCHEZ, E., RIVERA, R Y CASTELLANOS, S. 2013a. Tratamiento físico químico de panca de maíz como estrategias para mejorar su uso durante la escasez de Forraje (Parte I). Art. Técnico. *Revista Actualidad Ganadera*. Edición 11. Año 2013. Lima- Perú. p. 8-9.

GÓMEZ, C., MERCADO, W., FERNÁNDEZ, M. Y GÓMEZ, H. 2013b. Mitigación de gases de efecto invernadero en el sector Agricultura del Perú. *Rev. Agro-enfoque*. Año XXVIII. N° 189. Lima-Perú.

GRABBER, J. H. HATFIELD, R. D. RALPH, J. 1998. Diferulate cross-links impede the enzymatic degradation of non-lignified maize walls. *J. Sci. Food Agric*. 77: 193-200.

HATFIELD, R. D., MANDEBVU, P. AND WEST, J. W. 1997. A comparison of Tifton 85 and coastal bermudagrass cell walls. *U.S. Dairy Forage Research Center Summaries*. Madison. WI: 49-50.

HOLTSHAUSEN, L., CHUNG, Y. H., GERARDO-CUERVO, H., OBA, M. AND BEAUCHEMIN, K. A. 2011. Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive. *J. Dairy Sci*. 94:899-907.

HRISTOV, A. N., McALLISTER, T. A. AND CHENG, K-J. 1998. Stability of exogenous polysaccharide degrading enzymes in the rumen. *J. Animal feed science and technology*. 76: 161-168.

- HUNGATE, R.E. 1988. Introduction: the ruminant and the rumen. En: Hobson P.N. (ed) The Rumen Microbial Ecosystem, pp 1-19. Elsevier Applied Science, New York.
- INFANTE, D., MARTINEZ, B., GONZALES, N. Y REYES, Y. 2009. Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Vegetal. Vol. 24. N° 1: 14-21.
- JALILVAND, G., ODONGO, N., LÓPEZ, S., NASERIA, A., VALIZADEH, R., EFTEKHAR, F., KEBREAB, E. AND FRANCE, J. 2008. Effects of different level of an enzyme mixture on in vitro gas production parameter of contrasting forage. J. Animal Feed Science and Technology. 146: 289-301.
- JUNG, H. G. AND CASLER, M. D. 1991. Relationship of lignin and esterified phenolics to fermentation of smooth bromegrass fiber. J. Animal feed science and technology. 32: 63-68.
- JUNG, H.G. AND ALLEN, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. J. Anim. Sci., 73:2774-2790.
- JUNG, H.G. AND VOGEL, K. P. 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. J. Anim. Sci. 62: 1703-1712.
- KLOPFENSTEIN, T. 1978. Chemical Treatment of Crop Residues. J. Anim. Sci. 46: 841-848.
- KRAUSE, D. O., DENMAN, S. E., MACKIE, R. I., MORRISON, M., RAE, A. L., ATTWOOD, G. T. AND McSWEENEY, C. S. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. J. Microbiology Reviews. 27: 663-693.
- KRUGER, J. L. 1968. Estudio de la composición química del esparrago durante un ciclo de crecimiento y efecto del momento de chapodo bajo 2 condiciones de riego sobre su rendimiento. Tesis UNALM. Lima-Perú.

- KRUEGER, N. A. 2006. Effect of fibrolytic enzymes on the nutritive value of tropical forages and performance of beef steers. Thesis of Master of Science. University of Florida.
- KREIKEMEIER, K. K., HARMON, D. L., PETERS, J. P., GROSS, K. L., ARMENDARIZ, C. K. AND KREHBIEL, C. R. 1990. Influence of dietary forage and feed intake on carbohydrase activities and small intestinal morphology. *J. Anim. Sci.* 68:2916.
- LANDEO, L. A. 1992. Evaluación de tres niveles de heno de broza de esparrago (*Asparragus officinalis*) en dietas de engorde de cuyes. Tesis UNAL. Lima- Perú.
- LINDO, C. 1993. Evaluación de tres niveles de broza henificada de espárrago (*Asparragus officinalis*) en dietas para conejos. Tesis UNALM. Lima-Perú. 58p.
- LLAMAS, G., SANTA CRUZ, I. Y GÓMEZ, R. 1986. Respuesta de esquilmos de cereales y leguminosas y de subproductos de algodón al tratamiento alcalino con amonio o Na (OH). *Técnica Pecuaria en México* 51: 68- 80.
- LÓPEZ, F. I. 2010. Evaluación de dos niveles de energía y proteína en el concentrado suministrado a vacas lecheras, alimentadas con broza y turión de espárrago. Tesis Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima- Perú.
- McDONALD, P., EDWARDS, R. A., GREENHALGH, J. F. D., MORGAN, C. A. 1995. *Nutrición Animal* (5ta Edición). Addison Wesley Longman Limited. London, UK.
- MALIK, R. AND BANDLA, S. 2010. Effect of source and dose of probiotics and exogenous fibrolytic enzymes (EFE) on intake, feed efficiency and growth of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *J. Animal Health Production*. DOI 10.1007/s 11250-010-95559-5. Springer science.
- MASENDA, E. 2005. Cáscara de maní en cultivo de hongos ostra. Manual del cultivador de hongos. Cap. 5. Aidabase Technology. Zimbabwe.

- MAURICIO, R. M., MOULD, F. L., DHANOA, M. S., OWEN, E., CHANNA, K. S. AND THEODOROU, M. K. 1999. Asemi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79:321–330.
- McALLISTER, T. A. AND CHENG, K-J. 1996. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grain. *J. Animal feed science technology.* 62: 29-36.
- McSWEENEY, C. AND MACKIE, R. 2012. Micro-organisms and ruminant digestion: state of knowledge, trends and future prospects. Commission on genetic resources for food and agriculture. Background study paper N° 61. FAO.
- MEALE, S.J.; BEAUCHEMIN, K.A.; HRISTOV, A.N.; CHAVES, A.V. AND McALLISTER, T.A. 2013. Board-Invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. *J. Anim. Sci.* 92:427-442.
- MEDINA, M., TIRADO, G., MEJÍA, I., CAMARILLO, I. Y CRUZ-VÁSQUEZ, C. 2006. Digestibilidad in situ de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas. *Rev: Pesq. Agropec.* Vol. 41, N° 7, p: 1173-1177. Brasilia, Brasil
- MENDOZA, G. D., LOERA-CORRAL, O., PLATA-PÉREZ, F., HERNÁNDEZ, P., RAMÍREZ, M. 2014. Considerations on the Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Forage Utilization. Review Article. *The Scientific World Journal.* Vol. 2014, Art. ID 247437, 9 p.
- MERTENS, D. R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. ASAS Symposium “Factors Influencing forage utilization in the Ruminant. *J. Animal Sci.* 64: 1548-1558.
- MEZA, A. 2007. Uso de sub-productos agroindustriales derivados del espárrago en la ganadería lechera en la cuenca de La Libertad. Tesis UNALM. Lima-Perú.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO (MINAGRI). 2013. Oficina de Estudios Económicos. Disponible en [http:// www.minag.gov.pe/portal/herramientas/estadisticas](http://www.minag.gov.pe/portal/herramientas/estadisticas). Perú.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO (MINAGRI). 2014. Oficina de Estudios Económicos. Disponible en [http:// www.minag.gob.pe/portal/herramientas/estadisticas](http://www.minag.gob.pe/portal/herramientas/estadisticas). Perú.

MORGAVI, D. P., BEAUCHEMIN, K. A., NSEREKO, V. L., RODE, L. M., IWAASA A. D., YANG, W. Z., McALLISTER, T. A. AND WANG, Y. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *J. of Dairy Sci.* 83: 1310-1321.

MORGAVI, D. P., BEAUCHEMIN, K. A., NSEREKO, V. L., RODE, L. M., McALLISTER, T. A., IWAASA A. D., WANG, Y. AND YANG, W. Z. 2001. Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganismos and gastrointestinal proteases. *J. Animal Science.* 79: 1621-1630.

MORENO, R., PINOS-RODRÍGUEZ, J. M., GONZÁLES, S., ÁLVAREZ, G., GARCÍA, J. C., MENDOZA, G. Y BÁRCENA, R. 2007. Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación ruminal *in vitro* de dietas para vacas lecheras. *J. Interciencia.* Vol. 32. N° 12. 850-853.

MORILLO, T. C. 2010. Disponibilidad de residuos agrícolas en Valles de la costa del Perú para su uso en la alimentación animal. Tesis de Grado. Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. Requirements of Dairy Cattle. 7th Edition. Washington, D.C. USA.

NAVARRO, A. 1993. Notas sobre el cacahuete y la avellana en Andalucía. Pdf. Estudios de Lingüística. Universidad de Alicante. Revisado el 6 de abril de 2012.

PEBE, J. L. 1997. Evaluación de tres niveles de heno de broza de espárrago (*Asparagus officinalis*) en el elgorde de vacunos. Tesis UNALM. Lima-Perú.

PHIRI, D. M., COULMAN, B., STEPLER, H. A., KAMARA, C. J. AND KWESIGA, F. 1992. The effect of browse supplementation on maize husk utilization by goats. *Agroforestry Systems* 17: 153-158-

PRESTON, T. R. AND LENG, R. A. 1987. Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-Tropics. Penambul Books, Armidale, Australia.

ROBINSON, P. H. 2005. Estimating Alfalfa Hay and Corn Silage Energy Levels. US. Davis Equations using NDF and ADF. Cooperative Extension.

ROMERO, J. J., ZARATE, M. A. AND ADESOGAN, A. T. 2015. Effect of the dose of exogenous fibrolytic enzyme preparation on preingestive fiber hydrolysis, ruminal fermentation, and *in vitro* digestibility of bermudagrass haylage. J. Dairy Science. 98:406-417

ROMERO, J. J., ZARATE, M., QUEIROZ, O., HAN, J., SHIN, J., STAPLES, C., BROWN, W. AND ADESOGAN, A. 2013. Fibrolytic enzyme and ammonia application effects on the nutritive value, intake, and digestión kinetics of bermuda grass hay in beef cattle. J. Animal Science. 91: 4345-4356.

SAS INTITUTE. 2001. The SAS System for Microsoft Windows, release 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC

SERRATOS, J. A. 2009. El origen y diversidad del maíz en el continente Americano. Greenpeace. México. DF.

SOLTAN, Y. A., ABDALLA, A. L., SILVA, L. R. F., NATEL, A. S., MORSY, A. S. AND LOUVANDINI, H. 2013. Response of different tropical pasture grass species to treatments with fibrolytic enzymes in terms of *in vitro* ruminal nutrient degradation and methanogenesis. J. Animal Nutrition and Feed Technology. 13: 551-568.

SUTTON, J. D., PHIPPS, R. H., BEEVER, D. E., HUMPHRIES, D. J., HARTNELL, G.F., VICINI, J. L. AND HARD, D. L. 2003. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. J. Dairy Sci. 86:546-556.

STEWART, C. S., FLINT, H. J. AND BRYANT, M. P. 1997. The rumen microbial ecosystem. Springer Science and Buiness.

43954

- TANG, S. X., TAYO, G. O., TAN, Z. L., SUN, Z. H., SHEN, L. X., SHOW, C. S., XIAO, C. S., REN, G. P., HAN, X. F. AND SHEN, S. B. 2008. Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on *in vitro* fermentation characteristics of low-quality cereal straws. *J. Animal Science*. 86:1164-1172.
- TITI, H. H. AND TABBAO, M. J. 2004. Efficacy of exogenous *cellulase* on digestibility in lambs and growth of dairy calve. *J. Livestock production science*. 87: 207-214
- TOALA, G. M. 1981. Uso de la cáscara de maní (*Arachis hipogea*) en engorde de bovinos. Tesis de Grado. Med. Vet. Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo-Ecuador.
- TRINCI, A. P. J., DAVIES, D. R., GULL, K., LAWRENCE, M. I., NIELSEN, B. B., RICKERS, A. AND THEODOROU, M. K. 1994. Anaerobic fungi in herbivorous animals. *Mycological Research* 98:129–152.
- VALENCIAGA, D., Y CHONGO, B. 2004. La pared celular. Influencia de su naturaleza en la degradación microbiana ruminal de los forrajes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 38(4), 343-350.
- VANHOLME, R., VAN ACKER, R., BOERJAN, W. 2010. Potential of Arabidopsis systems biology to advance the biofuel field. *J. Trend Biotechnology* 28: 543-548.
- VAN SOEST, P.J. 1982. En: *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O & B Books, Inc., Corvallis, OR.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B. AND LEWIS, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci*. 74:3583–3597.
- VARGAS, M. D. 2010. Uso de subproductos en la alimentación animal en República Dominicana. Disponible en la web: [http// www.fao.org/ag](http://www.fao.org/ag) revisado, septiembre 16, 2011.

WANG, Y. AND McALLISTER, T. A. 2002. Rumen microbes, Enzymes and Feed digestion—Rev. Asian-Aust. J. Animal Science. Vol. 15 N° 11: 1659-1676.

WANG, Y., SPRATLING, B. M., ZOBELL, D. R., WIEDMEIER, R. D. AND McALLISTER, T.A. 2004. Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes. J. Animal Science. 82: 198-208.

WHITE, B. A., MACKIE, R. I. AND DOERNER, K. C. 1993. Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. p 455-484. In: Forage cell wall structure and digestibility. H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield and J. Ralph (Eds.). ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI.

WILLATS, W. G., KNOX, P. AND MIKKELSEN, J. D. 2006. Pectin: New insights into and old polymer are starting to gel. J. Trends in Food Science and Technology. 17: 97-104.

WOOD, T. M. AND BHAT, K. M. 1998. Methods for measuring cellulose activities. Pages 87-112 in W.A. Wood and S.T. Kellogg, eds. Methods in enzymology, vol. 160. Academic Press Inc., London, UK

YESCA, R., BÁRCENA, R., MENDOZA, G. D., GONZÁLES, S. S, COBOS. M. Y ORTEGA. M. E. 2004. Digestibilidad *in situ* de dietas con rastrojo de maíz o paja de avena con enzimas fibrolíticas. Agrociencia 38: 23-31.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para la broza de espárrago (*Asparragus officiliaris*).

Lugar	Fundo	Épocas	¹ PC %	² MO %	³ FDN %	⁴ FDA %	⁵ EN _L *Mcal/kg.MS
Trujillo	Green Perú	Invierno	13.68	85.50	57.73	39.82	1030.52
Trujillo	Mocherita - 1	Invierno	12.20	87.39	63.87	41.97	982.97
Lima	Italia (Lurín)	Invierno	7.46	88.04	76.10	48.80	805.98
Trujillo	Mocherita - 2	Invierno	10.21	84.44	66.09	45.30	877.37
Lima	Italia (Lurín)	Verano	10.06	82.13	51.26	38.48	1047.85
Trujillo	Láctea Perú	Verano	10.37	91.72	70.96	44.87	945.48
Trujillo	Green Perú	Verano	10.80	86.15	65.36	44.73	911.20
Trujillo	Mocherita	Verano	9.64	85.36	59.71	39.29	1028.61
PROMEDIO			10.55	86.34	63.89	42.91	953.75
⁶ DESV. ESTAN.			± 1.83	± 2.83	± 7.76	± 3.60	± 85.15
⁷ C. V. %			17.31	3.28	12.14	8.39	8.93

Fuente: Datos de Tesis

1= proteína cruda; 2= Materia orgánica; 3= Fibra detergente neutra; 4= Fibra detergente acida; 5= Energía neta de lactancia; * estimado mediante la ecuación de Robinson, 2005. 6= Desviación estándar; 7= Coeficiente de variación

Anexo 2. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para panca de maíz (*Zea mays*).

Lugar	Fundo	Épocas	¹ PC %	² MO %	³ FDN %	⁴ FDA %	⁵ ENL *Mcal/kg.MS
Trujillo	Mocherita -1	Invierno	7.70	86.18	76.37	51.15	740.50
Lima	Alfredo Vidal (Cañete)	Invierno	4.94	91.07	81.13	51.96	758.94
Lima	El comedero (Cañete)	Invierno	5.64	90.13	79.44	47.63	834.78
Lima	Establo UNALM -1	Invierno	4.43	92.95	78.57	48.11	863.21
Lima	Establo UNALM -2	Invierno	5.80	89.08	77.37	48.20	822.59
Lima	Italia (Lurin)	Invierno	5.59	88.78	80.61	48.71	793.72
Trujillo	Mocherita -2	Invierno	5.91	83.63	80.18	45.40	796.46
Lima	Italia (Lurin)	Verano	4.89	90.84	72.54	43.84	940.66
Lima	El Comedero (Cañete)	Verano	5.02	92.38	72.25	43.66	968.61
Lima	Establo UNALM - 1	Verano	4.84	91.34	75.21	42.67	959.67
Lima	Alfredo Vidal (Cañete)	Verano	4.70	92.86	83.92	47.18	852.31
Trujillo	Láctea Perú -1	Verano	6.41	91.00	81.28	52.09	755.03
Trujillo	Láctea Perú -2	Verano	3.95	96.22	95.25	44.11	890.41
Trujillo	Green Perú	Verano	6.43	90.81	83.96	44.90	869.53
PROMEDIO			5.45	90.49	79.86	47.12	846.17
⁶ DESV. ESTAN.			± 0.97	± 3.03	± 5.74	± 3.15	± 74.74
⁷ C. V. %			17.87	3.35	7.18	6.68	8.83

Fuente: Datos de Tesis

1= proteína cruda; 2= Materia orgánica; 3= Fibra detergente neutra; 4= Fibra detergente ácida; 5= Energía neta de lactancia * estimado mediante la ecuación de Robinson, 2005.; 6= Desviación estándar; 7= Coeficiente de variación;

Anexo 3. Composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) en base seca de los lugares de disponibilidad y estaciones del año para la cáscara de maní (*Arachis hypogaea*).

Lugar	Fundo	Épocas	¹ PC %	² MO %	³ FDN %	⁴ FDA %	⁵ EN _L *Mcal/kg.MS
Manabí	UTM	Invierno	8.1	96.0	92.4	68.8	454.7
Manabí	Los Mieles	Invierno	6.2	95.4	98.1	76.8	276.0
Loja	Sr. Oñate	Invierno	7.0	95.3	91.5	73.9	360.3
El Oro	El Tesoro	Invierno	6.1	96.1	97.5	78.5	255.3
Loja	Sr. Oñate	Verano	5.5	96.7	89.6	79.1	291.1
Manabí	UTM	Verano	5.6	96.7	90.2	80.0	271.5
El Oro	El tesoro	Verano	7.9	96.6	92.3	78.3	291.7
PROMEDIO			6.6	96.1	93.1	76.5	314.4
⁶ DESV. ESTAN.			± 1.1	± 0.6	± 3.4	± 3.9	± 70.3
⁷ C. V. %			16.0	0.6	3.6	5.1	22.4

Fuente: Datos de Tesis

1= proteína cruda; 2= Materia orgánica; 3= Fibra detergente neutra; 4= Fibra detergente ácida; 5= Energía neta de lactancia * estimado mediante la ecuación de Robinson, 2005; 6= Desviación estándar; 7= Coeficiente de variación.