

# Contenido de lignina como estimador de la degradabilidad ruminal en gramíneas<sup>a</sup>

## Lignin content as an estimator of rumen degradability of grasses

Recibido: 10/01/97 Aceptado: 05/07/98

Jouve, V.V.<sup>1</sup>; N.P. Stritzler<sup>1,2</sup>; C.M. Ferri<sup>1</sup> y H.J. Petruzzi<sup>1,2</sup>

### Resumen

El objetivo de este estudio fue establecer la relación existente entre el contenido de lignina con la fracción degradable en gramíneas perennes de crecimiento estival. Se tomaron 120 muestras provenientes de parcelas implantadas con *Eragrostis curvula* cv Tanganyka (Ec), *Panicum virgatum* cv Pathfinder (Pv), *Panicum coloratum* cv Selection 75 (Pc) y *Tetrachne dregei* (Td) cortadas durante dos inviernos, en 1990/91. En las muestras, previa división en las fracciones lámina y tallo+vaina, se determinó el contenido de lignina (L) y fueron incubadas en bolsitas en el rumen de tres novillos. A partir de la información obtenida en la incubación se estimó la asíntota de la hipérbola (Dmax) y, a través de un modelo no lineal, los valores de materia seca rápida (a) y lentamente (b) degradable. Los contenidos de L fueron relacionados con  $y_1=(a+b)$  e  $y_2=Dmax$ . Para diferenciar entre gramíneas se utilizaron pseudovariables, Ec (Pv, Pc y Td=0); Pv (Pv=1; Pc y Td=0); Pc (Pc=1; Pv y Td=0); Td (Td=1; Pv y Pc=0). Las ecuaciones obtenidas fueron,  $y_1 = 102,6 - 6,97L + 21,57Pv + 7,70Pc - 1,82L*Pc$ ;  $R^2 = 0,68(P<0,01)$ ;  $EE = 7,8$ ;  $y_2 = 73,10 - 3,72L + 43,72Pv - 5,55L*Pv + 26,76Pc - 2,85L*Pc + 25,69Td - 3,44L*Td$ ;  $R^2 = 0,77(P<0,01)$ ;  $EE = 5,8$ . Se concluye que conociendo el contenido en lignina, para gramíneas perennes de crecimiento estival, puede estimarse la fracción degradable

Palabras clave: Gramíneas estivales, degradabilidad ruminal, lignina, rumen.

### Summary

The objective of this study was to establish the relationship between lignin content and the degradable fraction of warm-season grasses. The 120 samples used came from plots of the following species, *Eragrostis curvula* cv. Tanganyka (Ec), *Panicum virgatum* cv. Pathfinder (Pv), *Panicum coloratum* cv. Selection 75 (Pc) and *Tetrachne dregei* (Td). The samples were obtained during two consecutive winters, in 1990/91. The forage obtained was divided into its fractions, blade and stem+sheath, on which lignin content (L) was determined. Each fraction was incubated within nylon bags, in the rumen of three fistulated steers. The information

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa, C.C. 300, 6300. Santa Rosa, La Pampa.

<sup>2</sup> EEA Ing.Agr. Guillermo Covas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, C.C. 11, 6326. Anguil, La Pampa.

<sup>a</sup> Trabajo presentado en el 20º Congreso Argentino de Producción Animal, junio de 1996, Río Hondo, Santiago del Estero.

obtained from incubations was mathematically processed to estimate the asymptote of the hyperbole (Dmax), and, through a non-linear model, the rapidly (a) and slowly (b) degradable dry matter values were determined. The contents of L were related to the values obtained by rumen incubation  $y_1 = (a+b)$  and  $y_2 = Dmax$ . Pseudovariables were used to discriminate between grass species: Ec (Pv, Pc and Td=0); Pv (Pv = 1; Pc and Td=0); Pc (Pc = 1; Pv and Td=0); Td (Td=1; Pv and Pc=0). The equations obtained were,  $y_1 = 102.6 - 6.97L + 21.57Pv + 7.70Pc - 1.82L*Pc$ ;  $R^2 = 0.68(P<0.01)$ , SE = 7.8;  $y_2 = 73.10 - 3.72L + 43.72Pv - 5.55L*Pv + 26.76Pc - 2.85L*Pc + 25.69Td - 3.44L*Td$ ;  $R^2 = 0.77(P<0.01)$ , SE = 5.8. The results demonstrate that, the degradable fraction of warm-season grasses can be estimated by the lignin content of the forage source.

**Key words:** Warm-season grasses, rumen degradability, lignin, rumen.

## Introducción

El conocimiento y manejo de los procesos digestivos que ocurren en el rumen, así como su descripción matemática, han sido motivo de numerosos estudios, involucrando gran cantidad de métodos y enfoques diferentes (Sauvant y Ramangasoavina, 1991). Todos ellos implican la utilización de técnicas *in vitro*, *in vivo* o *in sacco* (también conocida como *in situ*), solas o combinadas entre sí. El método *in sacco* se basa en la incubación de bolsitas, hechas con fibras artificiales, suspendidas en el rumen de animales canulados. Este procedimiento presenta una serie de ventajas, entre las que pueden incluirse que no modifica el ambiente ruminal y permite un íntimo contacto entre el alimento que se desea testear y el contenido del rumen.

Uno de los parámetros más importantes que pueden ser obtenidos utilizando la técnica *in sacco*, es la degradabilidad potencial o máxima del alimento, que puede ser obtenida a partir de la medición de la pérdida de materia seca de las muestras incubadas en bolsitas en el rumen por varios espacios de tiempo. La degradabilidad máxima es una característica intrínseca del alimento, y no depende, por lo tanto, de la situación particular en que cada

ensayo o utilización productiva del alimento sean realizados. Se ha encontrado una alta correlación entre la degradabilidad máxima del alimento y el consumo de materia seca ( $r = 0,83$ ;  $p<0,01$ ), el consumo de materia seca digestible ( $r = 0,86$ ;  $p<0,01$ ) y la ganancia de peso de novillos ( $r = 0,84$ ;  $p<0,01$ ) (Orskov *et al.*, 1988).

La técnica *in sacco* presenta la desventaja de necesitar una cierta infraestructura, incluyendo corrales, alimento, etc., que permita el mantenimiento de, al menos, tres animales canulados de rumen (Mehrez y Orskov, 1977); el procesamiento de muestras es caro y requiere considerable tiempo (Madsen y Hvelplund, 1985). Resulta, por lo tanto, importante buscar parámetros de más sencilla medición, que tengan estrecha relación con la degradabilidad del alimento en rumen.

La determinación de la degradabilidad máxima de un alimento implica conjuntamente la medición de la fracción absolutamente indigestible, fracción que completa el 100% de la muestra (Orskov y Ryle, 1990). El componente de los forrajes más íntimamente relacionado con esta última fracción es la lignina. Esta restringe la degradabilidad máxima del alimento, protegiendo 1,4 veces su propio peso a los carbohidratos estructurales de la

fermentación microbiana (Van Soest, 1981).

Dada la estrecha relación mencionada entre la lignina y la fracción indegradable del alimento (y por lo tanto con la potencialmente degradable), podría utilizarse a la primera como una medida indirecta de la degradabilidad máxima o potencial del alimento. El objetivo de este estudio fue establecer la relación existente entre el contenido de lignina, parámetro de sencilla determinación en laboratorio, con la fracción degradable en gramíneas perennes de crecimiento estival.

### Materiales y métodos

El trabajo se realizó en las instalaciones pertenecientes al Área de Producción Animal, de la Facultad de Agronomía (UNLPam). Se tomaron 120 muestras, provenientes de parcelas implantadas dentro de un diseño de parcelas divididas, con tres repeticiones, con las siguientes especies (parcela mayor), *Eragrostis curvula* cv Tanganyka (**Ec**), *Panicum virgatum* cv Pathfinder (**Pv**), *Panicum coloratum* cv Selection 75 (**Pc**) y *Tetrachne dregei* (**Td**) y cinco épocas de corte (subparcela). Las cuatro especies fueron implantadas en parcelas de 4,20x2,40 m, comprendiendo cuatro líneas espaciadas a 0,60 m; cada línea contenía 14 plantas. Las parcelas fueron cortadas durante dos inviernos sucesivos, en 1990/91. Se colectó todo el forraje acumulado desde el inicio de la temporada de crecimiento previa al corte. Las muestras fueron separadas manualmente en las fracciones lámina y vaina+tallo+inflorescencia. Con las repeticiones se constituyeron muestras compuestas.

Sobre las fracciones se realizaron determinaciones químico-biológicas. Se determinó el contenido de lignina (**L**), por solubilización de la celulosa del residuo de fibra en detergente ácido (**FDA**), con  $H_2SO_4$  (Goering y Van Soest, 1970). Además, fueron incubadas en el rumen de tres novillos fistulados, en dos bolsitas de fibra artificial por animal/tiempo por 72, 48, 36, 24, 16, 12 y 8 horas, retiradas del rumen, lavadas en máquina de lavar por 1 hora, secadas ( $65^\circ C$ , 72 horas) y pesadas. Las bolsitas (tamaño de poro, 50  $\mu m$ ) contenían aproximadamente 1,60 g de materia seca (**MS**) de muestra, de manera de mantener una relación de 12,5 mg  $MS\ cm^{-2}$  de superficie de bolsa (NKJ, 1985).

La información obtenida de la incubación en rumen fue procesada para calcular la degradabilidad máxima (**Dmax**). Esta fue estimada a partir de la predicción de la asíntota de la hipérbola (Mertens y Van Soest, 1972), a través de la determinación del intercepto de la regresión doble recíproca,  $t^{-1}$  vs  $\log MS^{-1}$  no degradada ( $t$ , tiempo de incubación en rumen ( $h$ )). Los valores de materia seca rápida (**a**) y lentamente (**b**) degradables en rumen fueron obtenidos a través de un modelo no lineal (Orskov y McDonald, 1979),  $p = a + b(1 - e^{-ct})$ , donde  $p$ , degradación de **MS** a tiempo  $t$  ( $g\ 100g^{-1}\ MS$ ) y  $c$ , tasa de degradación de la fracción **b** ( $h^{-1}$ ). De la ecuación surge que  $(a+b)$ , fracción degradable potencial ( $g\ 100g^{-1}\ MS$ ).

Los valores de **L** fueron relacionados, mediante regresión lineal, con los obtenidos por incubación,  $y_1 = (a + b)$  e  $y_2 = Dmax$ . Para diferenciar entre gramíneas se utilizaron

seudovariables:  $E_c$  ( $P_v$ ,  $P_c$  y  $T_d = 0$ ),  $P_v$  ( $P_v = 1$ ;  $P_c$  y  $T_d = 0$ ),  $P_c$  ( $P_c = 1$ ;  $P_v$  y  $T_d = 0$ ) y  $T_d$  ( $T_d = 1$ ;  $P_v$  y  $P_c = 0$ ). Estas fueron incluidas en los modelos sólo si su aporte a la relación era significativo ( $p < 0,05$ ). La utilización de pseudovariables o variables dummy permite considerar, en un modelo de regresión, variables discretas (Berenson *et al.* 1983).

## Resultados y discusión

Los rangos de valores obtenidos para cada parámetro en cada especie forrajera evaluada, pueden verse en el Cuadro 1. Las ecuaciones obtenidas fueron las siguientes:  $y_1 = 102,6 - 6,97L + 21,57P_v + 7,70P_c - 1,82L*P_c$ ;  $R^2 = 0,675$  ( $P < 0,01$ );  $CV = 11,8$ ;  $EE = 7,75$ ;  $n = 227$ ;  $y_2 = 73,10 - 3,72L + 43,72P_v - 5,55L*P_v + 26,76P_c - 2,85L*P_c + 25,69T_d - 3,44L*T_d$ ;  $R^2 = 0,771$  ( $P < 0,01$ );  $CV = 10,0$ ;  $EE = 5,77$ ;  $n = 227$ . Los resultados se muestran gráficamente en la Figura 1a y b. La información obtenida demuestra la factibilidad de estimar ( $a+b$ ) y, sobre todo,  $D_{max}$  de recursos forrajeros a partir del contenido en  $L$ , con un buen grado de precisión.

La lignificación no es una característica de todas las células maduras, sino que se encuentra confinada a ciertos grupos celulares, con funciones especializadas, como la conducción de solutos y el soporte mecánico. La lignina, que puede ser descrita como una red tridimensional de unidades de fenilpropano, incrusta la matriz de la pared celular, otorgando mayor rigidez e hidrofobia a la estructura de la planta (Theander y Aman, 1979; Hartley, 1981). La lignina también cumple la función de proteger a

la planta del ataque de microorganismos, impidiendo la penetración de enzimas en la pared celular (Theander y Aman, 1979). De la misma manera, también impide el ataque de microorganismos ruminales, y por esta razón, la relación inversa entre  $L$  del forraje y digestión es muy alta (Demeyer, 1981; Jung y Deetz, 1993).

Dado que la lignina es un componente de la pared celular, el efecto de la lignina sobre la digestibilidad del forraje se ejerce sobre la digestión de la pared y no sobre el total del forraje. El contenido celular es considerado 100% digestible (Van Soest, 1993), y la lignina afecta progresivamente sólo la digestión de los componentes estructurales de la célula (Jung y Allen, 1995); a medida que avanza la unión lignina-carbohidratos estructurales, mayor proporción de éstos se hace resistente a la digestión ruminal. La relación entre  $L$  y la fracción degradable de los forrajes, por lo tanto, debe ser necesariamente estrecha, dada la importancia de la primera en la resistencia a la digestión.

En el presente trabajo, las relaciones de  $L$  con el parámetro ( $a+b$ ), que incluye las fracciones rápida y lentamente degradable y con el parámetro  $D_{max}$  de la materia seca del forraje fueron altamente significativas. Estos resultados son similares a los obtenidos por Smith *et al.* (1972) ( $R^2 = 0,78$ ) entre contenido de lignina y degradación a las 72 horas de incubación. Estos autores sugirieron que el efecto más importante de  $L$  sobre la digestión se ejerce a través de la limitación en la digestión ruminal.

El tratamiento por especie de la relación L:degradabilidad, mostró diferencias entre las mismas. En términos generales,  $P_v$ ,  $P_c$  y  $T_d$  presentan un valor de intercepto y una pendiente mayor que  $E_c$ . Esto indica, por un lado, que para valores bajos de L en términos relativos, tanto  $D_{max}$  como  $(a+b)$ , son más altas en  $P_v$ ,  $P_c$  y  $T_d$  que en  $E_c$ ; por otro lado, en las tres primeras se producen mayores cambios en la degradabilidad por cada variación en L.

Probablemente, estos resultados estén relacionados con la composición de la lignina de cada una de las especies evaluadas (Reeves, 1987). Los ácidos fenólicos de la pared celular son precursores de la lignina de los forrajes (Jung y Allen, 1995). Las ligninas de las gramíneas están formadas por unidades de *p*-hidroxifenil, guaiacil y siringil en distintas proporciones, dependiendo de la especie (Lapierre, 1993). Más aún, dentro de la misma especie, la composición de la lignina cambia, de rica en grupos guaiacil a lignina rica en grupos siringil, a medida que madura la pared celular (Jung y Allen, 1995). Dado que el aumento en la proporción de grupos siringil influye negativamente sobre la digestión de la pared celular (Jung y Deetz, 1993), no sólo la concentración sino también la composición de la lignina afectan la degradabilidad de los forrajes. Las diferencias entre especies forrajeras encontradas en el presente estudio podrían deberse, por lo tanto, a diferencias genéticas en la composición de la lignina, y también a distinto grado de maduración de las paredes celulares, que determinaría una relación diferente entre grupos guaiacil y siringil en cada una.

Dado que otros factores, además del contenido en lignina, afectan la digestión de los forrajes (Reeves, 1987), y que existen distintos métodos de determinación de concentración de lignina, con resultados no coincidentes (Reeves y Galletti, 1991), difícilmente puedan obtenerse relaciones más altas que las obtenidas por Smith *et al.* (1972) y en el presente estudio. Sin embargo, Chandler *et al.* (1980), llegaron a relaciones aún más altas ( $r = -0,94$ ) entre contenido de lignina y fracción biodegradable, utilizando la misma técnica que la del presente trabajo para la determinación de la concentración en lignina.

Nuestros resultados demuestran, por lo tanto, la potencialidad de la determinación del contenido de lignina como estimador de la degradabilidad de los alimentos en el rumen. Esta técnica puede ser utilizada fundamentalmente en programas de selección genética de especies y/o cultivares de importancia forrajera, dado que permite discriminar por degradabilidad ruminal en forma indirecta, a través de una técnica de muy sencilla determinación en laboratorio.

## Conclusiones

Los resultados demuestran que, en aquellos casos en que no resulte posible implementar la técnica *in sacco*, puede estimarse, para gramíneas perennes de crecimiento estival, la degradabilidad máxima o potencial conociendo su porcentaje de lignina.

## Bibliografía

BERENSON, M.L.; D.M.. LEVINE y M. GOLDZTEIN. 1983. Intermediate

- statistical methods and applications. Prentice. Hall, Inc. 326 p.
- CHANDLER, J.A.; W.J. JEWELL, J.M.GOSSETT, P.J. VAN SOEST y J.B. ROBERTSON. 1980. Predicting methane fermentation biodegradability. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 10: 93-107.
- DEMEYER, D.I. 1981. Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agric. Environm.* 6: 295-337.
- GOERING, H.K. y P.J. VAN SOEST. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agr. Handb.* 379, A.R.S., Dept. Agr. U.S.A. 21 p.
- HARTLEY, R.D. 1981. Chemical constitution, properties and processing of lignocellulosic wastes in relation to nutritional quality for animals. *Agric. Environm.* 6: 91-113.
- JUNG, H.G. y M.S. ALLEN. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forage by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2774-2790.
- JUNG, H.G. y D.A. DEETZ. 1993. Cell wall lignification and degradability. En: Forage cell wall structure and digestibility (H.G.Jung; D.R.Buxton; R.D. Hatfield y J. Ralph eds.), ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, U.S.A. pp. 315-346.
- LAPIERRE, C. 1993. Application of new methods for the investigation of lignin structure. En: Forage cell wall structure and digestibility (H.G. Jung; D.R. Buxton; R.D. Hatfield y J. Ralph eds.), ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, U.S.A. pp. 133-166.
- MADSEN, J. y T. HVELPLUND. 1985. Protein degradation in the rumen. A comparison between *in vivo*, nylon bag, *in vitro* and buffer measurements. *Acta Agric. Scand.* (Suppl.25): 103-124.
- MEHREZ, A.Z. y E.R. ORSKOV. 1977. The use of a dacron bag technique to determine rate of degradation of protein and energy in the rumen. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 88: 645-650.
- MERTENS, D.R. y P.J. VAN SOEST. 1972. Estimation of the maximal extent of digestion. *J. Anim. Sci.* 35: 286 (Abstract).
- NKJ, 1985. Introduction to the Nordic protein evaluation system for ruminants into practice and further research requirements. *Acta Agric. Scand.* (Suppl.25): 216-220.
- ORSKOV, E.R. y I. MCDONALD. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92: 499-503.
- ORSKOV, E.R.; G.W. REID y M. KAY. 1988. Prediction of intake by cattle from degradation characteristics of roughages. *Anim. Prod.* 46: 29-34.
- ORSKOV, E.R. y M. RYLE. 1990. Energy nutrition in ruminants. Elsevier Applied Science, Londres, New York. 149 p.
- REEVES, J.B. 1987. Lignin and fiber compositional changes in forages over a growing season and their effects on *in vitro* digestibility. *J. Dairy Sci.* 70: 1583-1594.
- REEVES, J.B. y G.C. GALLETI. 1991. Observations on lignin assays: what do they really determine? En: Production and utilization of lignocellulosics. (G.C. Galletti ed.), Elsevier Applied Science, London, New York. pp. 183-198.
- SAUVANT, D. y B. RAMANGASOAVINA. 1991. Rumen modelling. En: Rumen microbial metabolism and ruminant digestion (J.P. Jouany ed.), INRA, Paris, Francia. pp. 283-296.
- SMITH, L.W.; H.K. GOERING y C.H. GORDON. 1972. Relationships of

- forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. *J. Dairy Sci.* 55: 1140-1147.
- THEANDER, O. y P. ÅMAN. 1979. The chemistry, morphology and analysis of dietary fiber components. En: *Dietary fibers: Chemistry and nutrition* (G.E. Inglett y S.I. Falkehag eds.), Academic Press, U.S.A. pp. 215-244.
- VAN SOEST, P.J. 1981. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. *Agric. Environm.* 6: 135-143.
- VAN SOEST, P.J. 1993. Cell wall matrix interactions and degradation. Session synopsis. En: *Forage cell wall structure and digestibility* (H.G. Jung; D.R. Buxton; R.D. Hatfield y J. Ralph eds.), ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, U.S.A. pp. 315-346.

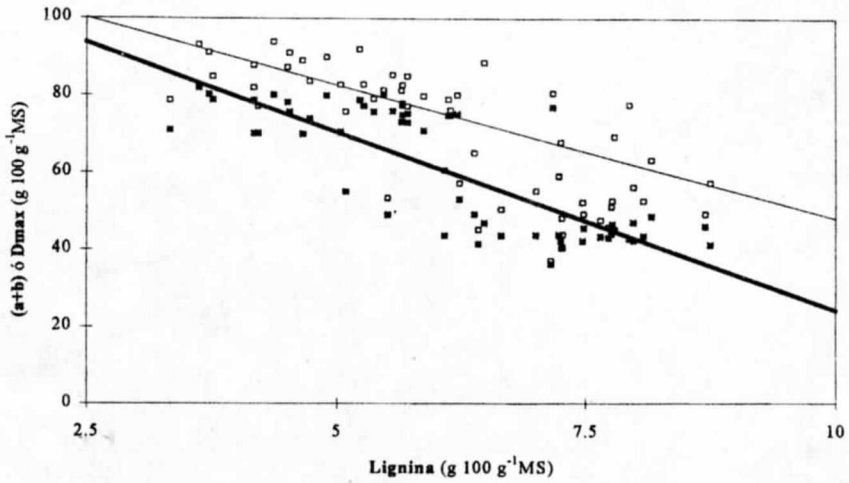


**Cuadro 1.** Promedio y rango de valores obtenidos de lignina (L), degradabilidad potencial (a+b) y degradabilidad máxima (Dmax), para cuatro gramíneas perennes de crecimiento estival.

Especie	L	(a+b)	Dmax
	-----	g 100 g <sup>-1</sup> MS	-----
<i>Eragrostis curvula</i>	6,46 (4,10-9,30)	56,80 (37,14-84,33)	49,10 (36,10-58,40)
<i>Panicum virgatum</i>	6,12 (3,33-8,75)	70,37 (37,11-93,90)	60,13 (36,30-82,10)
<i>Panicum coloratum</i>	5,76 (3,20-8,29)	70,16 (52,39-92,34)	62,04 (46,30-78,60)
<i>Tetrachne dregei</i>	5,63 (3,78-8,18)	64,07 (49,03-82,63)	58,5 (42,8-73,10)



*Panicum virgatum* cv Pathfinder



*Panicum virgatum* cv Pathfinder

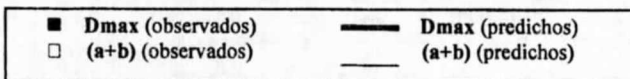
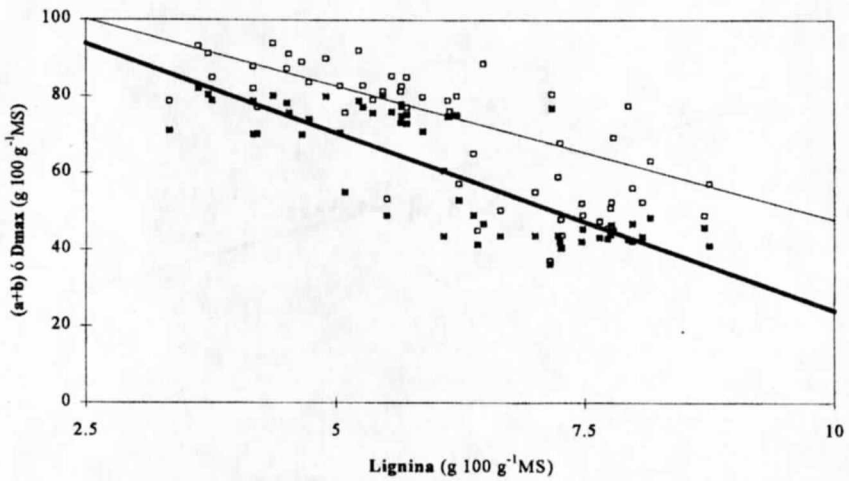
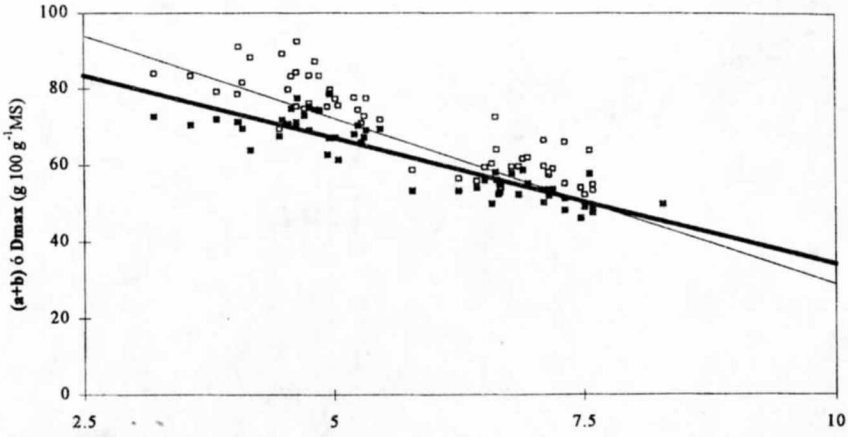


Figura 1a. Relación entre contenidos de lignina, valores de (a+b) y degradabilidad máxima (Dmax) en cuatro gramíneas perennes de crecimiento estival.

*Panicum coloratum* cv Selection 75



*Tetrachne dregei*

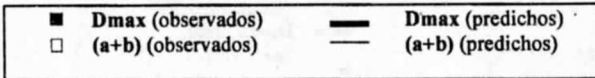
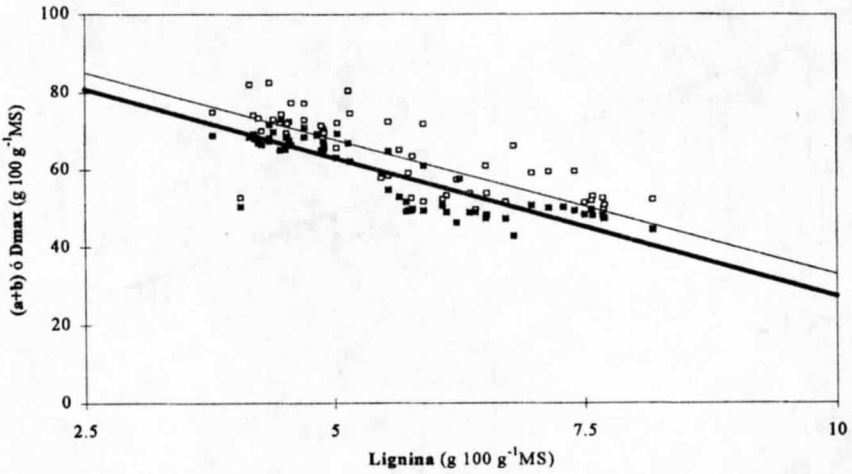


Figura 1b. Relación entre contenidos de lignina, valores de (a+b) y degradabilidad máxima (Dmax) en cuatro gramíneas perennes de crecimiento estival.