

# Tasas de digestión *in vitro* de seis gramíneas tropicales<sup>\*1/</sup>

D PEZO,\*\* K VOHNOUT\*\*\*

## ABSTRACT

*In vitro* digestion rates chemical composition were studied in six tropical grasses of three different cutting ages. Results indicate that in tropical grasses the stage of maturity seems to be more important than the differences between species to determine the digestion coefficients and rates. In addition, conventional chemical analyses were not reliable to predict the digestion rates — The authors

### Introducción

**L**A mejor medida del valor nutritivo de un forraje es la respuesta animal. Este parámetro es función del consumo, digestibilidad y eficiencia de utilización de los nutrimentos, siendo el consumo el factor más importante. A su vez, el consumo es una variable dependiente de la digestibilidad, entre otros factores (6, 9). Sin embargo, se ha observado que en algunas especies no hay una relación significativa entre ambos parámetros (24). Gill *et al* (12) mostraron que el consumo de materia seca digerible estaba relacionado a la tasa de digestión *in vitro* de la celulosa. Este resultado estaría de acuerdo con la hipótesis de "llenado del rumen" (5) como el mecanismo más importante de regulación del consumo en alimentos fibrosos. Según esta hipótesis, si un forraje es más rápidamente digerido demorará menos en el retículo-rumen, lo que permitiría mayor consumo. Por consiguiente, parecería que una evaluación que incluya la tasa de digestibilidad sería mejor que otra que sólo considere los coeficientes de digestibilidad. En especies de zona templada, Van Soest (26) ha encontrado diferencias debidas a especies en la velocidad de digestión y Smith *et al* (22) han observado diferencias debidas al estado de madurez, las que según los mismos autores (23) pueden ser explicadas por diferencias en proporción entre las fracciones químicas normalmente analizadas. No hay información para forrajes del trópico. Por consiguiente,

los objetivos del presente estudio fueron determinar en pastos tropicales las relaciones entre la velocidad de digestión y las diferentes fracciones químicas, según la especie y el estado vegetativo.

### Materiales y métodos

Se utilizaron muestras provenientes de 18 ensayos de consumo y digestibilidad (30), con 72 animales cuyos pesos oscilaban entre 150 y 450 kilos. Se usaron las muestras de forraje ofrecido y rechazado de seis gramíneas tropicales: pangola (*Digitaria decumbens*, Steud.) guinea (*Panicum maximum*, Jacq.) elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumach.), Pará (*Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf), alemán (*Echinochloa polytachya* (H.B.K.) Hitchc.) y gamalote (*Paspalum fasciculatum*, Willd.), cosechadas a 4, 8 y 12 semanas de edad. En las muestras de forraje ofrecido y rechazado en los ensayos *in vivo*, se determinó la digestibilidad de materia seca a 3, 6, 12, 24, 48 y 96 horas, usando la fase celulolítica del método de digestión *in vitro* de Tilley y Terry (28). Así mismo se determinaron los constituyentes de pared celular (FDN), la fibra detergente ácido (FDA), la hemicelulosa (H), celulosa (C), lignina permanganato (L) y sílice (Si), usando el sistema para el análisis de fibra de forrajes propuesto por Göering y Van Soest (13) y la proteína (P) por el método micro-Kjeldahl (3). Para el análisis de los solubles en agua (Sol) se pesó 0,5 g de muestra, se adicionó 10 ml de agua destilada y se mantuvo en estufa incubadora a 39°C por 18 horas, al cabo de las cuales se filtró el residuo en papel Whatman N° 54, previamente tarado. Se secó a 105°C por ocho horas y se pesó. Con este último procedimiento se trató de medir el material solubilizado en la etapa previa a la inoculación en el procedimiento de digestibilidad *in vitro*.

\* Recibido para la publicación el 5 de agosto de 1976

1/ Trabajo basado en parte de la tesis del Ing. Zoot. Danilo Pezo para optar el grado de *Magister Scientiarum* en el IICA, Turrialba, Costa Rica, 1974.

Los autores expresan su agradecimiento al Ing. Zoot. Carlos León-Velarde, Profesor de la Universidad de Costa Rica, por las facilidades y ayuda en los análisis químicos.

\*\* Dirección actual: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

\*\*\* Nutricionista, Departamento de Ganadería Tropical, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

La digestibilidad del forraje consumido se estimó mediante la relación:

$$\% Dc = [\% (Do \times Co - \% Dr \times Cr) / Co - Cr] 100 \dots [1]$$

donde: Dc = digestibilidad del forraje consumido, Do = digestibilidad del forraje ofrecido, Dr = digestibilidad del forraje rechazado, Co = cantidad ofrecida de forraje, Cr = cantidad rechazada de forraje. La misma relación se usó para estimar el por ciento de las diferentes fracciones químicas en el forraje consumido, a partir de la composición química del forraje ofrecido y rechazado.

La digestibilidad *in vitro* quedó definida por la función  $Y = 1/(a + b \exp. - cX) \dots [2]$ , donde: Y = por ciento de digestibilidad *in vitro* de la materia seca,  $1/a =$  digestibilidad potencial,  $1/(a+b) =$  digestibilidad inicial, c = tasa de aceleración de la digestión y X = tiempo de digestión, en horas.

Los parámetros de las tasas de digestión quedaron definidos al derivar la función [2],  $dY/dX = (c - acY) Y \dots [3]$  en que c = tasa de aceleración de la digestión y ac = tasa de inhibición de la digestión.

Los parámetros (c), (ac) y (1/a) se analizaron en un diseño jerárquico, de acuerdo al modelo  $Y_{ijk} = u + P_i + E_j(i) + Ak(ij) \dots [4]$ , donde  $Y_{ijk}$  = cualquier observación, u = media general,  $P_i$  = efecto del pasto "i",  $E_j(i)$  = efecto de la edad "j" dentro del pasto "i" y  $Ak(ij)$  = efecto del animal "k" dentro de la edad "j" del pasto "i" (error).

### Resultados y Discusión

La composición de los forrajes se muestra en el Cuadro 1. Los valores de FDN variaron entre 73 y 85 por ciento; los de FDA de 43 a 54 por ciento; los de celulosa, de 27 a 35 por ciento, los de lignina permanganato, de 4 a 13 por ciento; los de sílice, de 2 a 12 por ciento; y los de proteína, de 9 a 14 por ciento. En general, la variabilidad no es tan amplia como si se hubiera considerado especies leguminosas o se hubiera incluido muestras con menores edades de corte. Los valores de las fracciones fibrosas son bastante más altos que los encontrados por Johnson y Pezo (15) en especies similares.

En el Cuadro 2 se muestran las tasas de aceleración (c), de inhibición (ac) y la digestibilidad potencial (1/a) para los diferentes pastos y edades estudiados.

Cuadro 1.—Composición del forraje consumido.\*

Pasto		FDN	FDA	Hemi-celulosa	Celulosa	Lignina	Sílice	Proteína
Gamalote,	4 sem.	81	46	34	27	11	6	11
Gamalote	8 sem.	83	48	36	28	13	6	11
Gamalote,	12 sem.	80	48	32	30	12	5	10
Alemán,	4 sem.	74	43	30	31	7	5	13
Alemán,	8 sem.	79	44	35	34	5	5	12
Alemán,	12 sem.	76	44	32	33	6	5	9
Guinea,	4 sem.	84	47	38	31	9	5	11
Guinea,	8 sem.	81	48	33	33	9	5	9
Guinea,	12 sem.	81	46	35	31	10	5	9
Pará,	4 sem.	82	43	38	32	7	4	14
Pará,	8 sem.	85	46	39	35	7	2	13
Pará,	12 sem.	82	54	28	31	8	12	9
Elefante,	4 sem.	73	44	30	27	7	8	13
Elefante,	8 sem.	77	46	31	33	7	5	11
Elefante,	12 sem.	79	41	36	28	7	5	8
Pangola,	4 sem.	79	38	41	29	5	3	14
Pangola,	8 sem.	78	41	37	31	5	4	10
Pangola,	12 sem.	81	39	41	31	4	4	10

\* Datos expresados en base seca, por ciento

Para los valores de "c" y "ac" sólo resultaron significativas ( $p < 0,01$ ) las diferencias debidas a edades/pastos (Cuadro 3), sin una tendencia muy definida. Era de esperarse que "c" disminuyera con la edad y "ac" se incrementara. Quizás estas tendencias se podrían haber notado trabajando con cortes más tempranos, ya que las especies tropicales maduran rápidamente (14, 15). Así mismo, si en el trabajo se hubieran considerado especies más disímiles, por ejemplo gramíneas y leguminosas, las últimas probablemente habrían mostrado mayores valores de tasa de aceleración de la digestión y menores valores de tasa de inhibición (10). En relación con la digestibilidad potencial (1/a), ésta varió entre 40,2 y 63,2 por ciento para guinea y elefante de 12 semanas, respectivamente. Las diferencias entre especies y edades/especies resultaron significativas ( $P < 0,01$ ) (Cuadro 3). Hay que notar que en los pastos en estudio no se observó la tendencia esperada de reducción de la digestibilidad con el avance en edad del pasto (15). Sin embargo, el mismo problema fue observado en los ensayos de digestibilidad *in vivo* de los que se tomaron las muestras para el presente estudio (30). Posiblemente, puede haber un efecto confundido de edad de la planta con factores de

Cuadro 2—Parámetros de digestión.

Pasto		Fasa de aceleración de la digestión (c)	Fasa de inhibición de la digestión (ac) <sup>a</sup>	Digestibilidad potencial (1/a)
Gamalote,	4 sem	0,119	0,221	54,0
Gamalote,	8 sem	0,113	0,219	51,5
Gamalote,	12 sem	0,123	0,234	52,5
Alemán,	4 sem	0,221	0,469	47,1
Alemán,	8 sem	0,085	0,135	62,9
Alemán,	12 sem	0,065	0,100	64,6
Guinea,	4 sem	0,091	0,201	45,5
Guinea,	8 sem	0,108	0,258	41,9
Guinea,	12 sem	0,092	0,230	40,2
Pará,	4 sem	0,074	0,137	54,0
Pará,	8 sem	0,075	0,130	57,9
Pará,	12 sem	0,060	0,103	58,0
Elefante,	4 sem	0,071	0,124	57,1
Elefante,	8 sem	0,075	0,128	58,9
Elefante,	12 sem	0,080	0,128	63,2
Pangola,	4 sem	0,115	0,198	58,2
Pangola,	8 sem	0,086	0,151	57,1
Pangola,	12 sem	0,079	0,140	56,7

<sup>a</sup> Los valores de "ac" se presentan multiplicados por  $10^2(ac \times 10^2)$ 

Cuadro 3—Análisis de variancia para los parámetros de digestión.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados Medios		
		c	ac $\times 10^2$	1/a
Pastos	5	0,0057	3,430	479,104*
Edades/pastos	12	0,0052*	3,060*	78,529*
Animales/edades/pastos	54	0,0003	0,225	3,312

<sup>a</sup>  $P \leq 0,01$ 

clima y suelo, ya que los ensayos *in vivo* fueron conducidos en períodos diferentes y el forraje fue cosechado en potreros diferentes. Es importante resaltar que la variabilidad debida a edad, utilizada como error para el efecto de pastos, en los casos de las tasas de aceleración e inhibición de la digestión fue suficientemente grande como para enmascarar el efecto de los pastos en sí. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, esto implicaría que en gramíneas tropicales el estado de madurez es más importante que la especie misma, como determinante de la velocidad de digestión.

La digestibilidad *in vitro* en función del tiempo de incubación definida por la función [2] ( $R^2 = 0,920$  a  $0,998$ ), se puede observar en la Fig. 1. Cizek (8) y Smith *et al* (22) han preferido expresar la velocidad de digestión como una relación entre la digestibilidad de materia seca después de un tiempo dado, expresada como porcentaje de la digestibilidad potencial (Y) y el tiempo (X). Esta relación quedó definida por una función logarítmica de la forma  $Y = a + b \log X$ . En el presente estudio se ha considerado una función sigmoidea, ya que existe un período inicial de lenta digestión y de aceleración creciente (18). Según Arroyo Aguilú (2), esto es debido a un desequilibrio inicial en los microorganismos por el cambio del rumen del animal al sistema *in vitro*. Nótese que al humedecer la muestra 18 horas antes de la inoculación se produjo la solubilización de la mayor parte de los constituyentes solubles y suspendidos del protoplasma (29), dando origen al valor de digestibilidad a tiempo cero,  $Y = 1/a + b$ . Al correlacionar la digestibilidad inicial con el contenido de solubles en agua se obtuvo una correlación de  $r = 0,46$  ( $P \leq 0,01$ ). La solubilización inicial trajo como ventaja que se tuviera un buen índice de repetición en la digestibilidad a períodos cortos, en contraste a la alta variabilidad observada por Arroyo-Aguilú (2) y Neathery (20) en digestibilidad determinada en períodos menores a 12 horas de incubación.

Según la Fig. 1, el tiempo requerido para aproximarse a la digestibilidad potencial o máxima fue de 48 horas en la mayoría de las especies, lo cual es coincidente con lo observado por Smith *et al* (22) en especies de zona templada. Pasado este período casi no

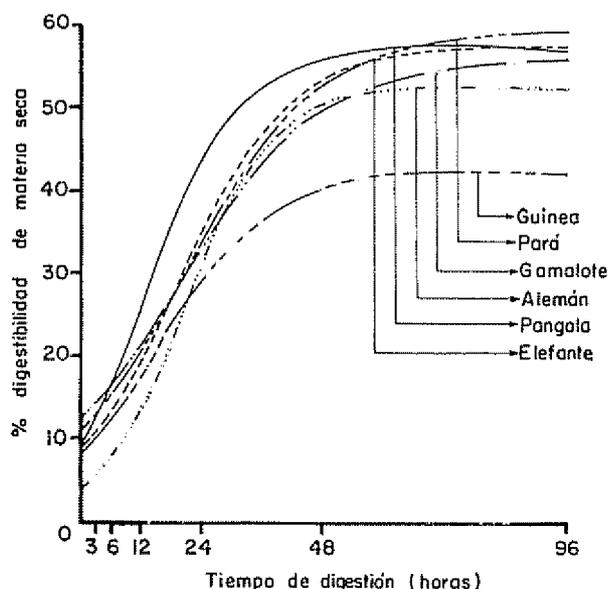


Fig. 1.—Tasa de digestión de la materia seca en seis gramíneas tropicales

hubo cambios, lo que implica la existencia de fracciones del forraje que son completamente indigeribles. Por consiguiente, 48 horas de incubación, el tiempo normalmente usado en los procedimientos *in vitro* para la fase celulolítica (28), es también adecuado para gramíneas tropicales.

En los Cuadros 4 y 5 se puede observar las relaciones entre "c" y "ac" y las fracciones químicas. Los valores del  $R^2$  fueron más altos dentro de especies que

cuando se consideraron todos los pastos. Esto sería consecuencia de que muchas de las fracciones químicas varían en estructura en las diferentes especies (11), lo que determina que la magnitud de la limitación de la digestibilidad por acción de una fracción química dada no sea la misma en todas las especies. Además, se observó que en la mayoría de las relaciones estudiadas, el modelo cuadrático presentó los valores más altos de  $R^2$ . Se puede observar que a nivel de especies individuales la fibra detergente ácido (FDA) pareció estar más relacionada con las tasas de aceleración e inhibición de la digestión que la fibra detergente neutro (FDN). Ambas fracciones difieren sólo en el contenido de hemicelulosa, la que según Van Soest (25) no es uniforme desde el punto de vista químico ni fisiológico. Esta sería la razón de la ventaja de la FDA sobre la FDN para explicar diferencias en las tasas de aceleración e inhibición de la digestión. De los componentes de la fibra detergente ácido, lignina y sílice fueron las fracciones más relacionadas con las tasas de aceleración e inhibición de la digestión. Las diferencias entre especies, para lignina, podrían deberse a que el análisis químico usado mide la concentración total de lignina, no considerando el carácter cualitativo del complejo lignina: celulosa-hemicelulosa (1) o el grado de lignificación (4).

En los Cuadros 4 y 5 se observa que en algunas especies también la proteína estuvo relacionada con las tasas de aceleración e inhibición de la digestibilidad. Sin embargo, esta relación no parece ser causal ya que los niveles de proteína observados en los pastos analizados no pueden considerarse limitantes de la actividad microbiana (17). Parece más bien una relación indirecta, pues a menor concentración de fracciones solubles hay un mayor contenido de carbohidratos estructurales (22) y por consiguiente menor digestibilidad.

Cuadro 4.—Valores de  $r^2$  de la predicción de la tasa de aceleración de la digestión (c) en función de diferentes fracciones químicas

Pasto	FDN	FDA	Hemicelulosa	Celulosa	Lignina	Sílice	Proteína
Gamalote	0,004 G	0,125 LN, C	0,431 C**	0,297 C	0,621 C**	0,410 C**	0,502 C**
Alemán	0,412 LG*	0,775 G**	0,277 C	0,854 C**	0,735 C**	0,549 C**	0,789 C**
Guinea	0,001 LN	0,196 C	0,045 C	0,156 C	0,271 C	0,201 C	0,213 C
Pará	0,042 LG, G	0,608 G, C**	0,675 C**	0,182 C	0,664 C**	0,569 C**	0,675 C**
Elefante	0,696 C**	0,596 C**	0,705 C**	0,041 C	0,320 C	0,196 C*	0,652 C**
Pangola	0,054 LN, C	0,700 C**	0,444 C*	0,401 LG, G*	0,170 C	0,712 C**	0,492 C*
Todos	0,079 C*	0,022 C	0,004 C	0,079 C*	0,064 G*	0,086 C*	0,081 C*

C = Modelo Cuadrático  
G = Modelo Geométrico  
LG = Modelo Logarítmico

LN = Modelo Lineal  
\*  $P < 0,05$   
\*\*  $P < 0,01$

Cuadro 5—Valores de  $r^2$  de la predicción de la tasa de inhibición de la digestión (ac) en función de diferentes fracciones químicas, en seis pastos tropicales.

Pasto	FDN	FDA	Hemicelulosa	Celulosa	Lignina	Sílice	Proteína
Gamalote	0,006 G	0,254 C	0,153 C*	0,081 C	0,662 C**	0,343 C*	0,364 C*
Alemán	0,428 LG*	0,773 G**	0,287 LG	0,348 C*	0,686 C**	0,578 C**	0,731 C**
Guinea	0,015 LN	0,123 C	0,061 C	0,836 LG**	0,112 C	0,137 C	0,225 C
Pará	0,036 G	0,683 C**	0,655 C**	0,163 C	0,526 C**	0,524 C**	0,707 C**
Elefante	0,128 G	0,083 C	0,201 C	0,090 C	0,228 C	0,155 C	0,265 C
Pangola	0,059 LN, C	0,652 C**	0,400 C*	0,046 C	0,152 C	0,671 C**	0,502 C**
Todos	0,052 C*	0,019 C	0,009 C	0,376 G**	0,137 G**	0,088 C*	0,039 C

C = Modelo Cuadrático

LN = Modelo Lineal

G = Modelo Geométrico

\*  $P < 0,05$ 

LG = Modelo Logarítmico

\*\*  $P < 0,01$ 

Al relacionar la digestibilidad potencial con la composición química (Cuadro 6) se pudo ver que las fracciones químicas explicaban las diferencias observadas en menos casos y en menor proporción que los anotados para las relaciones con la velocidad de digestión. Tal vez en este caso sea más crítica la falta de métodos químicos indicativos de la porción no digerible de la fracción fibrosa, lo que según Waldo *et al* (31) es más importante para fines de predicción del consumo y de interpretación de los mecanismos reguladores del mismo. Cabe anotar que la digestibilidad potencial es un estimado de la porción del forraje capaz de ser digerida por los microorganismos del rumen, independientemente del tiempo de permanencia en el mismo (27)

Si bien se probaron también regresiones múltiples entre las diversas fracciones químicas y las tasas de digestión, en el Cuadro 7 sólo se muestran algunas de las regresiones probadas considerando la tasa de inhibición de la digestión como variable dependiente. La inclusión de varias fracciones químicas al mismo tiempo en las ecuaciones de regresión mejoró el valor de las predicciones ( $R^2$ ), por lo que se entiende que son varias las fracciones que actúan al mismo tiempo inhibiendo o acelerando la digestión del forraje. Conviene resaltar que considerando la hemicelulosa, celulosa, lignina, sílice y proteína simultáneamente en una ecuación general para los seis pastos, si bien la regresión resultó significativa ( $P < 0,01$ ), el valor de  $R^2$  fue de sólo 0,25. Esto implica que el 75% de la variación

Cuadro 6—Valores de  $r^2$  de la predicción de la digestibilidad potencial *in vitro* (1/a) en función de diferentes fracciones químicas.

Pasto	FDN	FDA	Hemicelulosa	Celulosa	Lignina	Sílice	Proteína
Gamalote	0,001 LN, LG	0,103 C	0,075 C	0,055 C	0,133 C	0,146 C	0,251 C
Alemán	0,509 C**	0,754 LN**	0,399 C*	0,939 C**	0,837 C**	0,423 G*	0,834 C**
Guinea	0,071 LN, G	0,011 C	0,090 C	0,305 C	0,032 C	0,046 C	0,326 C
Pará	0,001 LN, LG, G	0,542 C**	0,194 C	0,370 C*	0,212 C	0,367 C*	0,709 C**
Elefante	0,760 G**	0,795 C**	0,775 C**	0,335 C*	0,424 C*	0,584 C**	0,864 LG, G, C**
Pangola	0,011 LN, LG	0,314 C	0,332 C*	0,184 C	0,180 C	0,352 C*	0,439 C*
Todos	0,067 C*	0,121 C**	0,020 C	0,096 C**	0,300 C**	0,056 C*	0,008 C

C = Modelo Cuadrático

LN = Modelo Lineal

G = Modelo Geométrico

\*  $P < 0,05$ 

LG = Modelo Logarítmico

\*\*  $P < 0,01$

Cuadro 7—Valores de  $R^2$  de la predicción de la tasa de inhibición de la digestión (ac) en función de varias fracciones químicas, usando modelos de regresión múltiple.

Pasto	H + C + L	H + C + L + Si	H + C + L + Si + P
Gamalote	0,188	0,555	0,714
Alemán	0,138	0,153	0,284
Guinea	0,579	0,579	0,919**
Pará	0,357	0,547	0,619
Elefante	0,652*	0,784*	0,791*
Pangola	0,623	0,623	0,827*
Todos	0,062	0,094	0,253**

C = Celulosa                      Si = Sílice  
 L = Lignina                        \*  $P < 0,05$   
 H = Hemicelulosa                \*\*  $P < 0,01$   
 P = Proteína

en la tasa de digestión fue producto de factores no considerados. Estos factores podrían ser fracciones, estructuras o enlaces químicos no identificados en el sistema de análisis empleado.

Valores bajos de correlación entre las fracciones químicas y parámetros de la digestión han sido encontrados también por Johnson y Pezo (15) con 213 muestras de gramíneas. Estos autores encontraron que la confiabilidad de la predicción de la digestibilidad en base a fracciones químicas era menor en gramíneas tropicales que en las subtropicales y de zona templada. Además, es importante enfatizar que para encontrar mejores valores de correlación, habría sido necesario incrementar la amplitud de las diferencias entre las muestras estudiadas.

#### Resumen

En el presente trabajo se estudiaron las velocidades de digestión en seis gramíneas tropicales: pangola (*Digitaria decumbens*, Stent.), guinea (*Panicum maximum*, Jacq.), elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumacher.), pará (*Brachiaria mutica*, (Forsk.) Stapf), alemán (*Echinochloa polystachia*, (H.B.K.) Hitchc) y gamalote (*Paspalum fasciculatum*, Willd.), cosechadas a 4, 8 y 12 semanas. Para este fin se determinó la digestibilidad de materia seca a 3, 6, 12, 24, 48 y 96 horas, usando la fase celulolítica de la técnica de digestión *in vitro* de Tilley y Terry. Así mismo, se determinaron las diferentes fracciones fibrosas usando

el método de análisis de forrajes propuesto por Van Soest y la proteína por el método micro-Kjeldahl. La digestibilidad en función del tiempo quedó definida como  $Y = 1/(a + b \exp -cX)$ , donde:  $1/a =$  digestibilidad potencial,  $1/(a+b) =$  digestibilidad inicial,  $c =$  tasa de aceleración de la digestión,  $X =$  tiempo. Al derivar esta función respecto al tiempo quedó definido "ac" como la tasa de inhibición de la digestión. El ajuste conseguido con esta función fue bastante alto ( $R^2 = 0,920$  a  $0,998$ ).

Las tasas de aceleración e inhibición de la digestión mostraron diferencias ( $P < 0,01$ ) debido a la edad del pasto, no así debidas a especies de pastos. La digestibilidad potencial varió entre 40,2 y 63,2% para guinea y elefante de 12 semanas, respectivamente; se encontraron diferencias ( $P < 0,01$ ) debidas a pastos y edades/pastos. Las predicciones de las tasas de aceleración e inhibición de la digestión y de la digestibilidad potencial, hechas en base a fracciones químicas no se pueden considerar confiables en ecuaciones generales, ya que en el mejor de los casos, cuando se consideraron simultáneamente la hemicelulosa, celulosa, lignina, sílice y proteína como variables independientes, se alcanzó un valor productivo bastante bajo ( $R^2 = 0,253$ ).

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir: 1) En gramíneas tropicales parece ser el estado de madurez más importante que la especie, como determinante del valor nutritivo. 2) Cuarenta y ocho horas de incubación es un tiempo adecuado para la digestión celulolítica *in vitro* en gramíneas tropicales. 3) Los métodos químicos disponibles para el análisis de forrajes no son suficientemente adecuados para la predicción del valor nutritivo de pastos tropicales.

#### Literatura citada

1. ALLINSON, D. W. y OSBOURN, D. F. The cellulose-lignin complex in forages and its relationship to forage nutritive value. *Journal of Agricultural Science* 74(1):23-36. 1970.
2. ARROYO-AGUILU, J. A. Estimation of digestibility from *in vitro* rumen fermentation data in some forages of Puerto Rico. *Journal of the University of Puerto Rico* 51(2):133-139. 1967.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11th ed. Washington, D. C., 1970. 1015 p.
4. BAILEY, R. W. y JONES, D. J. H. Pasture quality and ruminant nutrition. III. Hydrolysis of ryegrass structural carbohydrates in relation to rumen digestion. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 14(4): 847-857. 1971.
5. BALCH, C. C. y CAMPLING, R. C. Regulation of voluntary food intake in ruminants. *Nutrition Abstracts and Reviews* 23(3): 669-686. 1962.

6. BLAXIER, K. L., WAINMAN, F. W. y WILSON, R. S. The regulation of food intake by sheep. *Animal Production* 3(1): 51-61. 1961.
7. BOHMAN, V. R. y LESPERANCE, A. I. Methodology research for range forage evaluation. *Journal of Animal Science* 26(4): 820-826. 1967.
8. CIZEK, J. The rate of dry matter disappearance in some grasses and legumes. *In International Grassland Congress, 11th, Queensland, Australia, 1970. Proceedings Queensland, University of Queensland, 1970.* pp 701-703.
9. CONRAD, H. R., PRATT, A. D. y HIBBS, J. W. Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. *Journal of Dairy Science* 47(1): 54-62. 1964.
10. DEMARQUILLY, C. y CHENOST, M. Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon; liaisons avec le valeur alimentaire. *Annales de Zootechnie* 18(4): 419-436. 1969.
11. GAILLARD, B. D. E. Comparison of the hemicelluloses from plants belonging to two different plant families. *Phytochemistry* 4(4): 631-634. 1965.
12. GILL, S. S., CONRAD, H. R. y HIBBS, J. W. Relative rate of *in vitro* cellulose disappearance as a possible estimator of digestible dry matter intake. *Journal of Dairy Science* 52(10): 1687-1690. 1969.
13. GOERING, H. K. y SOEST, P. J. van. Análisis de fibra de forrajes. Trad. del inglés por D. Pezo. La Molina, Universidad Nacional Agraria-Programa de Forrajes y Misión Agrícola de la Universidad de Carolina del Norte. Boletín N° 10. 1972. 41 p.
14. JOHNSON, W. L., GUERRERO, J. y PEZO, D. Cell-wall constituents and *in vitro* digestibility of napier grass (*Pennisetum purpureum*). *Journal of Animal Science* 37(5): 1255-1261. 1973.
15. ——— y PEZO, D. Cell-wall fractions and *in vitro* digestibility of Peruvian feedstuffs. *Journal of Animal Science* 41(1): 185-197. 1975.
16. JONES, I. H. P. y HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy* 19: 107-149. 1967.
17. MILFORD, R. y MINSON, D. J. The feeding value of tropical pastures. *In DAVIES, W. and SKIDMORE, G. L., eds Tropical pastures. London, Faber & Faber, 1966.* 215 p.
18. MONSON, W. G., POWELL, J. B. y BURTON, G. W. Digestion of fresh forage in rumen fluid. *Agronomy Journal* 64(2): 231-233. 1972.
19. MOY, G. O. Forage evaluation techniques in perspective. *In National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization, Nebraska, 1969. Proceedings, Nebraska Nebraska Center for Continuing Education, 1970.* pp 11-10.
20. NEATHERY, M. W. Dry matter disappearance of roughages in nylon bag suspended in the rumen. *Journal of Dairy Science* 52(1):74-78. 1969.
21. RAYMOND, W. F. The nutritive value of forage crops. *Advances in Agronomy* 21:1-108. 1969.
22. SMITH, L. W., GOERING, H. K., WALDO, D. R. y GORDON, C. H. *In vitro* digestion rate of forage cell wall components. *Journal of Dairy Science* 54(1): 71-76. 1971.
23. ———, GOERING, H. K. y GORDON, C. H. Relationship of forage compositions with rates of cell-wall digestion and indigestibility of cell-walls. *Journal of Dairy Science* 55(8): 1140-1147. 1972.
24. SOEST, P. J. van. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *Journal of Animal Science* 24(3):834-843. 1965.
25. ———. The chemical basis for the nutritive evaluation of forages. *In National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization, Nebraska, 1969. Proceedings, Nebraska Nebraska Center for Continuing Education, 1970.* pp 11-19.
26. ———. The uniformity and nutritive availability of cellulose. *Federation Proceedings* 32(7): 1804-1808. 1973.
27. THORTON, R. F. y MINSON, D. J. The relationship between voluntary intake and mean apparent retention time in the rumen. *Australian Journal of Agricultural Research* 23(5):871-877. 1972.
28. TILLEY, J. M. A. y TERRY, R. A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of The British Grassland Society* 18(2):104-111. 1963.
29. ——— y TERRY, R. A. The relationship between the soluble constituents of herbage and their dry-matter digestibility. *Journal of the British Grassland Society* 24(4):290-295. 1969.
30. TURRIZA, I. Consumo por el ganado, digestibilidad y composición química de seis gramíneas tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1970. 35 p.
31. WALDO, D. R., SMITH, L. W. y COX, E. I. Model of cellulose disappearance from the rumen. *Journal of Dairy Science* 55(1):125-129. 1972.

## NOTAS Y COMENTARIOS

### Publicaciones

*Retos.* El Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Venezuela está publicando una revista científica juvenil, *Retos*, dedicada a fomentar entre los estudiantes de educación media el interés por la ciencia y la tecnología, sirviendo de órgano informativo sobre actividades científicas a nivel estudiantil, así como de medio de difusión de investigaciones de científicos venezolanos y de temas rela-

cionados con la enseñanza de la ciencia. Los artículos son variados, tiene noticias y comentarios, buena y lujosa presentación. Al parecer, los artistas tienen carta blanca en el tratamiento de los temas; algunas ilustraciones enfatizan interpretaciones ideológicas del artista más que las ideas del autor del texto. Así, en un artículo sobre el reto de la computación, la figura de la portada, y su leyenda, parecen destinadas a inculcar en las mentes juveniles una especie de "luddismo" en contra de las computadoras.

### *El paso acelerado de la evolución floral*

En los últimos años, Allan Wilson y sus colegas, en Berkeley, California, han estado realizando un ataque de dos pinzas a algunos problemas pendientes sobre el origen de las especies. Por un lado, han presentado evidencia de que la especiación procede más bien reorganizando cromosomas totales que cambiando genes individuales. Por otra parte, han sugerido la manera como las diferentes tasas de especiación en diferentes grupos pueden reflejar sus estructuras fitosociológicas. En 1974 y 1975 presentaron sus resultados para mamíferos y otros animales (Cf. *Turrialba* vol. 25: 109 y 357). Ahora producen un análisis similar para las plantas. El socio de Wilson en este proyecto es D. A. Levin de Austin, Texas (*Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 77, p. 2086).

Levin y Wilson compararon los números de cromosomas de unas 9000 especies en 237 géneros, y calcularon la frecuencia con que el número había cambiado durante la historia de cada género. Las fanerógamas herbáceas son las que más han sufrido cambios, a pesar de que son las más recientes en la escena vegetal. El número de cambios decrece conforme se estudian grupos más viejos: arbustos con flores, árboles, coníferas y cicadas. Las cicadas, así como también las palmeras, han estado en la Tierra unos 185 millones de años y sus cromosomas no han cambiado.

Al igual que en los animales, los cambios cromosómicos van exactamente a la par con la formación de nuevas especies. La tasa media del cambio cromosómico en un grupo es proporcional a la tasa media de especiación; y ambas tasas son más altas al comienzo de la historia del grupo. Así, el reordenamiento de los cromosomas puede ser la manera como se forman las nuevas especies.

¿Pero por qué las hierbas han evolucionado mucho más rápido que otros grupos? Según Levin y Wilson, toda la manera de vivir herbácea favorece una evolución rápida. Por ejemplo, la longitud de una generación es varias veces más corta que la de los árboles. Además, tienen mayor oportunidad de producir variantes, ya que tienden a vivir en habitats de cambios frecuentes, dentro de poblaciones que son pequeñas y endogámicas. Esta variación debe ser aún mayor en vista de la variedad de habitats en que sus semillas pueden caer. Los arbustos y árboles, en contraste, viven en bosques estables de su propia creación, y pueden permitirse la rutina genéticamente estabilizadora de la exogamia, en poblaciones efectivas grandes.

Así, la sugerencia es que las fanerógamas, al igual que los mamíferos, deben su progreso a sus poblaciones reproductoras pequeñas y rápidamente cambiantes.

### *Evolución molecular en el laboratorio*

Bacterias embotelladas en una sofisticada pieza de equipo de laboratorio han revelado algunas facetas fascinantes de lo que pasa en la rica vida microbiana del suelo cuando éste es empapado con productos herbicidas. La fertilidad del suelo, como se sabe, depende principalmente del trabajo de miles de microbios que descomponen la materia orgánica y la transforman en alimento para las plantas. Pequeñas comunidades de diferentes especies microbianas forman cadenas cooperativas, y cada una descompone los productos metabólicos de la anterior. E. Senior, con sus colegas A. J. Bull y J. H. Slater han aislado una de estas comunidades en un quimiostato, con el fin de encontrar la manera como se adapta al ampliamente usado herbicida degradable Dalapon (*Nature* vol. 263, p. 476).

La comunidad, que tiene siete especies miembros, fue aislada originalmente de un suelo tratado con Dalapon, del que fue trasladada al quimiostato para permanecer allí por

varios miles de horas. El quimiostato es una botella que suministra un ambiente químicamente controlado para el crecimiento microbiano, desarrollada para el estudio de la evolución de enzimas: dentro de su confines las bacterias pueden ser forzadas a crecer en condiciones en las que la presión selectiva favorecerá fuertemente las mutaciones en los genes que codifican ciertas enzimas metabólicas; por ejemplo, que la única fuente de algún compuesto esencial sea una sustancia que es descompuesta sólo muy deficientemente por las enzimas existentes en la célula.

Los microbios atrapados por Senior y sus colaboradores habían sufrido antes de su recolección una evolución adaptativa para enfrentarse al Dalapon; y como resultado después, tres miembros de la comunidad (dos bacterias y un hongo) eran lo que se conoce como "utilizadores primarios" del compuesto, esto es, eran capaces de crecer con el Dalapon como su única fuente de carbón y energía. Las otras cuatro (tres especies bacterianas y una levadura rosada gemípara) eran comensales, que vivían de los productos de descomposición del metabolismo del Dalapon de los tres utilizadores primarios, suplementados con los detritus de células muertas de todas las siete especies microbianas. Tal era la composición de la comunidad cuando se puso por primera vez en el quimiostato, para que viviera en armonía con una dieta de Dalapon.

Lo primero que notaron Senior y sus colaboradores fue la repentina desaparición de la levadura, que evidentemente no estaba bien ligada al resto de la comunidad. Después de esto, sin embargo, el pequeño grupo de microbios fue conspicuamente estable, y las proporciones de cada especie permanecieron constantes por meses.

Pero a pesar de esta estabilidad, resultó que en el transcurso de los meses, la comunidad en el quimiostato había estado evolucionando quietamente: después de 2000 horas de cultivo continuo, Senior encontró un cuarto utilizador primario de Dalapon. El microbio en cuestión fue identificado como *Pseudomonas putida* un microorganismo idéntico en todo a los utilizadores secundarios originales salvo uno: tenía una enzima deshalogenasa que le permitía aprovechar el Dalapon.

La evolución enzimática bacteriana en quimiostatos ha sido estudiada extensivamente antes, pero esta es la primera vez que alguien ha logrado demostrar la evolución de enzimas en una cadena cooperativa de microbios tal como aparece normalmente en la naturaleza, lo que muestra la manera como tiene lugar la evolución molecular en un ecosistema minúsculo.

### *Publicaciones*

*Journal of Power Sources*. Esta revista trimestral intenta juntar los trabajos de muchas disciplinas científicas relacionadas con las fuentes de energía eléctrica, no mecánica, un campo en cuya frontera están trabajando numerosos científicos, motivados por los altos precios del petróleo.

Dará cuenta de contribuciones originales, avances científicos, nuevos materiales y técnicas. El primer número, de fecha julio de 1976, tiene artículos sobre materiales para baterías de plomo y ácido, para células de altas temperaturas y para baterías de estado sólido; una batería de metal-aire; batería de electrolitos sólidos, posiblemente la fuente de energía portátil del futuro.

Para números futuros se anuncia trabajos sobre lo que pueden ser las baterías del futuro: baterías de sodio-azufre y metal-halógenos.

Publicada por Elsevier Sequoia, P.O. Box 851; 1001 Lausanne; Suiza, el editor es D. H. Collins, de Inglaterra. La suscripción es de 140 francos suizos al año (aproximadamente US\$ 54).