



Digestibilidad *in vitro* de gramíneas *Brachiaria* con líquido ruminal bovino y ovino como inóculo



Luis Carlos Vinhas Itavo ^{a*}

Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo ^a

Cacilda Borges do Valle ^b

Alexandre Menezes Dias ^a

Gelson dos Santos Difante ^a

Maria da Graça Morais ^a

Claudia Muniz Soares ^a

Camila da Silva Pereira ^a

Ronaldo Lopes Oliveira ^c

^a Federal University of Mato Grosso do Sul, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. Av. Senador Filinto Muller, 2443. Vila Ipiranga. CEP 79070-900 Campo Grande, MS, Brazil.

^b Brazilian Corporation of Agricultural Research - Embrapa Beef Cattle. Campo Grande, MS. 79106-550, Brazil.

^c Federal University of Bahia, Faculty of Veterinary Medicine. Salvador, BA 40170110, Brazil.

*Autor de correspondencia: luis.itavo@ufms.br

Resumen:

Se planteó la hipótesis de que es posible que el inóculo de diferentes especies de rumiantes con capacidades digestivas diferentes que se alimentan de un determinado forraje puede mostrar diferentes utilidades de alimento en comparación con otras especies de

rumiantes. Se evaluaron cinco gramíneas *Brachiaria*: *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. decumbens* acceso D70, *B. humidicola* cv. Tupi, *B. humidicola* cv. Común, y *B. ruziziensis* acceso R124, en dos edades de rebrote (21 y 42 d). Se analizó la producción, el contenido bromatológico, la digestibilidad de materia seca *in vitro* (DMSiv) y la digestibilidad de la fibra detergente neutro *in vitro* (DFDNiv) utilizando inóculos bovinos u ovinos. El experimento utilizó un diseño factorial de $5 \times 2 \times 2$ y encontró efectos significativos para la variedad de gramínea y la edad de rebrote. Además, se encontraron interacciones significativas de gramínea \times edad en la materia seca, la proteína cruda, la fibra detergente neutro y la fibra detergente ácido de la muestra total y lamina de la hoja. Hubo un efecto significativo de la variedad de gramínea y la edad de la gramínea en la masa del forraje, la relación lámina de la hoja/tallo, lámina de la hoja, tallo, material senescente y crecimiento. En los ensayos de la digestibilidad *in vitro*, el origen del inóculo mostró un efecto significativo en algunas variedades. Debido a las diferencias en los ensayos *in vitro*, se recomendó el uso de inóculos específicos de las especies para las evaluaciones de alimentos según el animal al que se destina. Asimismo, *B. decumbens* cv. Basilisk presentó la mejor digestibilidad *in vitro* (DMSiv y DFDNiv) en inóculo bovino, mientras que *B. humidicola* cv. Tupi tuvo mejor digestibilidad *in vitro* (DMSiv y DFDNiv) en inóculo ovino.

Palabras clave: *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria ruziziensis*, Digestibilidad, Inóculo ruminal.

Recibido: 16/03/2019

Aceptado: 22/02/2021

Introducción

Las gramíneas *Brachiaria* son importantes porque permiten la producción de rumiantes en suelos ácidos de baja fertilidad⁽¹⁾. Este género, principalmente de África tropical y subtropical, está compuesto por aproximadamente 100 especies, incluyendo *B. decumbens*, *B. humidicola* y *B. ruziziensis*, que son ampliamente utilizadas como fuentes de forraje en América tropical.

La evaluación y posterior recomendación de un forraje específico está determinada por su capacidad para soportar el pastoreo de determinados animales de diferentes especies o categorías y su valor nutricional. Uno de los métodos de los que se puede inferir su valor nutricional es someterlo a pruebas de digestibilidad *in vitro*. *In vitro* es una alternativa a las técnicas *in vivo* e *in situ*⁽²⁾, que requiere menos animales, reduce los costos y es un método confiable para evaluar la digestibilidad de los piensos.

Los componentes nutritivos están estrechamente correlacionados con la digestibilidad de los forrajes⁽³⁾. A través del análisis bromatológico es posible estimar los componentes nutritivos de los forrajes, así como el contenido celular y los componentes estructurales. Estos componentes incluyen proteína cruda (PC), contenido soluble y fibra detergente neutro (FDN).

La técnica de digestibilidad *in vitro* ha sido ampliamente utilizada en el análisis de diferentes tipos de piensos proporcionados a rumiantes. Sin embargo, puede verse afectado por la fuente del inóculo, así como por la dieta previa del animal donante, el tiempo de ayuno del animal antes del muestreo y, ocasionalmente, por fallas en la ejecución de la técnica⁽⁴⁾.

Es posible que diferentes especies de rumiantes muestren una digestibilidad diferente, y cuando se alimentan con un determinado forraje pueden mostrar una mejor utilización del alimento que otras especies de rumiantes. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar cinco gramíneas *Brachiaria* de dos edades de rebrote, sometidas a un ensayo de digestibilidad *in vitro* utilizando dos inóculos diferentes (bovino y ovino).

Material y métodos

Consideraciones éticas

Este estudio se llevó a cabo en estricta conformidad con las recomendaciones de la Guía del Consejo Nacional para el Control de Experimentación Animal de Brasil. El experimento fue aprobado por el Comité de Ética de Experimentación Animal de la Universidad Federal de Mato Grosso do Sul, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Número de protocolo: 367/2011).

Ubicación y campo experimental de los cultivares de *Brachiaria* spp.

Este estudio se llevó a cabo en la Universidad Federal de Mato Grosso do Sul en asociación con el Laboratorio de Biotecnología Aplicada a la Nutrición Animal de la Universidad Católica Dom Bosco y Embrapa Beef Cattle. Las gramíneas *Brachiaria* se evaluaron en parcelas experimentales en Embrapa Beef Cattle (latitud 20°27'S, longitud 54°37'W y 530 m de altitud, ubicada en Campo Grande, MS, Brasil). El tipo de suelo en el área de estudio fue latosol púrpura distrófico álico.

El clima según la clasificación de Köppen & Geiger⁽⁵⁾ es tropical lluvioso, subtipo AW, caracterizado por una ocurrencia bien definida de un período seco durante los meses más fríos del año (abril-septiembre) y una estación lluviosa durante los meses de verano (octubre-marzo) con una precipitación media anual de 1,469 mm y una temperatura media anual de 23 °C.

Los forrajes fueron evaluados durante dos veranos consecutivos (diciembre-febrero), que es la temporada de lluvias en el Cerrado brasileño, debido a la estacionalidad de los forrajes. El área experimental consistió en 20 parcelas (unidades experimentales, cuatro parcelas/cultivar), que midieron 4.0×4.0 m (16 m^2). Las parcelas se cortaron a 5 cm sobre el suelo con el fin de estandarizarlas para su evaluación.

Determinación de la masa y crecimiento del forraje

Después de que se tomaron muestras de los forrajes, cada una se envolvió en una bolsa de plástico y se identificó. En el laboratorio se pesaron y se dividieron en dos partes: una para ser procesada como muestra total y la otra separada en lámina de la hoja, tallo y material muerto⁽⁶⁾. La masa del forraje se estimó por el método del cuadro, con la cuantificación del forraje, en una base de materia seca, muestreado dentro del cuadro de 0.5×0.5 convertido a tonelada métrica (1,000 kg) por hectárea (t ha^{-1}).

La relación lámina de la hoja/tallo se obtuvo dividiendo la masa de las láminas de las hojas entre la masa de los tallos⁽⁷⁾. El crecimiento vegetativo del dosel se determinó en seis puntos diferentes en cada unidad experimental, que fueron marcados para su medición de acuerdo con las diferentes edades de crecimiento evaluadas⁽⁷⁾.

Composición química del forraje

Después del muestreo y la separación en muestra total, lámina de la hoja, tallo y material muerto, los materiales se presecaron a 55°C durante 72 h y se molieron a 1 mm con un molino Wiley (Tecnal, Ciudad de Piracicaba, São Paulo, Brasil) y luego se almacenaron en envases herméticos de plástico (ASS, Ciudad de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) hasta su análisis. Se determinó el contenido de materia seca (MS) (Método 967.03, AOAC⁽⁸⁾) y el contenido de PC (Método 981.10, AOAC⁽⁸⁾). Para la determinación del contenido de FDN y fibra detergente ácido (FDA) se utilizó la metodología de Van Soest *et al*⁽³⁾ con modificaciones propuestas en el manual del dispositivo ANKOM (ANKOM Technology Corporation, Macedon, Nueva York, EE. UU.).

Digestibilidad de materia seca *in vitro* (DMS_{iv}) y digestibilidad de fibra detergente neutro *in vitro* (DFDN_{iv})

Las muestras totales (todas las estructuras del dosel) de las diferentes variedades de gramíneas *Brachiaria* de dos edades de rebrote (21 y 42 días) se sometieron a pruebas *in vitro*, se incubaron con líquido ruminal bovino u ovino (inóculo). El inóculo bovino se recolectó de tres bovinos cruzados Nellore \times Angus y el inóculo ovino de cinco ovejas cruzadas Dorper \times Suffolk, ya equipadas con cánula ruminal de silicio y adaptadas a la dieta forrajera.

La digestibilidad *in vitro* de los nutrientes se determinó según la metodología de Tilley y Terry⁽⁹⁾ adaptada para el sistema ANKOM Daisy (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, EE. UU.) como describe Holden⁽¹⁰⁾. Se colocaron bolsas de tela no tejida que contenían muestras de gramíneas *Brachiaria* en frascos (con un límite de 30 bolsas por frasco, dos de ellos blancos) que contenían aproximadamente 1.6 L de solución tampón⁽¹¹⁾. Luego se agregó líquido ruminal bovino u ovino (400 ml) y se purgó el CO₂ en los frascos. Los frascos permanecieron incubados con agitación a una temperatura constante de 39 °C durante 48 h, después de eso se agregaron 40 ml de HCl (6 N) y 8 g de pepsina a cada frasco y se dejaron durante otras 24 h. Una vez finalizada la incubación, los frascos se escurrieron y las bolsas se lavaron con agua destilada y se secaron a 105 °C durante 16 h. Luego se pesaron para determinar la MS posterior a la incubación y se sometieron a análisis de FDN⁽³⁾ con adaptación del manual del dispositivo ANKOM (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, EE. UU.). Los coeficientes de digestibilidad *in vitro* (*Div*) para MS (*DMS_{iv}*) y FDN (*DFDN_{iv}*) se obtuvieron a través de la ecuación: $Div \text{ (g/kg)} = [(\text{nutriente incubado, g}) - (\text{nutriente residual, g} - \text{blanco, g})] / (\text{nutriente incubado, g}) \times 1,000$.

Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS® (SAS® Inst. Inc., Cary, NC, EE. UU.), y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0.05$, y la tendencia se consideró en $P < 0.10$.

Para evaluar la composición bromatológica, producción y rebrote de las gramíneas, se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + G_j + AG_k + e_{ijkl}$$

Donde:

μ es la media general,

I_i es el efecto de la *i*-ésima edad (21, 42), G_j es el efecto de la *j*-ésima gramínea (1, ..., 5),

IG_k es el efecto de la interacción de la *i*-ésima edad con la *j*-ésima gramínea,

e_{ijkl} es el error aleatorio.

Para comparar los valores de *Div* de MS y FDN realizados con diferentes inóculos, se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + I_i + G_j + IG_k + e_{ijkl}$$

Donde:

μ es la media general,

I_i es el efecto del *i*-ésimo inóculo ruminal (1, 2),

G_j es el efecto del *j*-ésimo cultivar (1, ..., 5),

IG_k es el efecto de la interacción del i -ésimo inóculo ruminal con el j -ésimo cultivar, e_{ijkl} es el error aleatorio.

Resultados

Determinación de la masa y el crecimiento del forraje

La masa y los parámetros de crecimiento del forraje se presentan en el Cuadro 1. Hubo un efecto significativo ($P < 0.05$) en la masa del forraje de la variedad y la edad, la relación lámina de la hoja/tallo, lámina de la hoja, tallo, material senescente y crecimiento. Además, hubo una interacción gramínea \times edad significativa ($P \leq 0.0001$) para todas las variables. La variedad que presentó la mayor masa de forraje a los 21 días fue *B. humidicola* cv. Común, y a los 42 días fue *B. ruziziensis* acceso R124 (8.86 y 12.81 g kg^{-1} , respectivamente; $P = 0.0001$).

Se observó una menor relación lámina de la hoja/tallo en *B. humidicola* cv. Común a los 21 y 42 días (0.51 y 0.30, respectivamente; $P = 0.0001$) con similitud entre las otras gramíneas. Sin embargo, la mayor relación lámina de la hoja/tallo a los 21 días se observó en *B. humidicola* cv. Tupi (relación 1.21; $P = 0.0001$), mientras que *U. decumbens* acceso D70 presentó la relación más alta a los 42 días de rebrote (1.51; $P = 0.0001$). Para los resultados del tallo, *B. humidicola* cv. Común tuvo valores significativamente altos a los 21 y 42 días de edad (448.8 y 656.8 g kg^{-1} , respectivamente; $P = 0.0001$).

En la producción de material senescente en las variedades estudiadas, la mayor cantidad se observó para *B. decumbens* acceso D70 con 42 días de rebrote (684.8 g kg^{-1} ; $P = 0.0001$), y a los 21 días *B. decumbens* cv. Basilisk tuvo numéricamente el valor más alto, cercano a *B. decumbens* acceso D70 (389.0 y 385.7 g kg^{-1} , respectivamente). En contraste, *B. humidicola* cv. Común y *B. humidicola* cv. Tupi tuvieron numéricamente el material senescente más bajo a los 21 días (220.2 y 276.3 g kg^{-1} , respectivamente).

El parámetro de crecimiento fue significativo ($P = 0.00001$) con el mayor crecimiento mostrado por *B. ruziziensis* acceso R124 a los 42 días (28.2 cm) y el más bajo por *B. humidicola* cv. Común a los 21 días (11.6 cm).

Composición química del forraje

En relación con la composición química, hubo un efecto significativo ($P < 0.05$) de la variedad de gramínea y la edad de crecimiento en MS, PC, FDN y FDA en todos los tipos de muestra (muestra total, lámina de la hoja y tallo; Cuadro 2). Además, hubo una interacción gramínea \times edad significativa ($P < 0.05$) para MS, PC, FDN y FDA en todas las muestras, excepto MS y FDN del material del tallo, que no mostró interacción significativa ($P > 0.05$), sino una tendencia para FDN ($P = 0.0985$).

Cuadro 1: Masa del forraje, relación lámina de la hoja/tallo (LH:T), tallo, material senescente y crecimiento de diferentes variedades de gramíneas *Brachiaria* en diferentes edades de corte

	<i>B. decumbens</i> cv. Basilisk		<i>B. decumbens</i> acceso D70		<i>B. humidicola</i> cv. Común		<i>B. humidicola</i> cv. Tupi		<i>B. ruzizensis</i> acceso R124		CV (%)	Valor P		
	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d		Gramínea	Edad	G×E
Masa, t ha ⁻¹	6.18	4.58	6.13	5.75	8.86	8.21	7.69	5.21	7.31	12.81	36.54	0.0001	0.0001	0.0001
Relación LH:T	0.81	1.21	1.11	1.51	0.51	0.30	1.21	1.11	0.91	1.01	24.31	0.0001	0.0001	0.0001
Lámina de la hoja, g kg ⁻¹	238.1	364.9	319.3	198.4	238.5	131.1	409.7	406.5	306.3	215.0	21.32	0.0001	0.0001	0.0001
Tallo, g kg ⁻¹	270.4	294.3	303.3	125.0	448.8	656.8	343.9	325.6	334.4	212.3	29.17	0.0001	0.0001	0.0001
Senescente, g kg ⁻¹	389.0	449.8	385.7	684.8	220.2	321.3	254.7	276.3	367.6	581.1	25.58	0.0001	0.0001	0.0001
Crecimiento, cm	20.7	24.2	15.1	17.1	11.6	18.2	12.1	14.1	20.7	28.2	25.90	0.0001	0.0001	0.0001

CV = Coeficientes de variación (%).

Cuadro 2: Composición química de muestras de planta total, lámina de la hoja y tallo de diferentes gramíneas *Brachiaria* en diferentes edades de rebrote (días, d)

	<i>B. decumbens</i> cv. Basilisk		<i>B. decumbens</i> acceso D70		<i>B. humidicola</i> cv. Común		<i>B. humidicola</i> cv. Tupi		<i>B. ruziziensis</i> acceso R124		CV (%)	Valor <i>P</i>		
	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d		Gramínea	Edad	P G×E
Planta total														
MST	299.1	480.6	324.7	398.4	444.3	564.6	402.9	433.2	398.3	424.8	0.19	0.0001	0.0001	0.0001
MO	941.2	925.9	940.4	922.7	943.6	907.2	939.3	902.7	929.9	922.5	0.29	0.9431	0.0347	0.8609
PC	59.8	47.53	67.8	54.9	49.4	42.6	47.2	31.3	58.3	61.9	9.01	0.0001	0.0001	0.0001
FDN	676.3	743.8	702.3	798.0	669.3	772.5	701.9	769.4	572.8	710.4	9.20	0.0001	0.0001	0.0465
FDA	437.0	498.4	483.8	541.5	505.8	510.8	497.5	557.7	425.5	542.9	3.29	0.0001	0.0001	0.0001
Lámina de la hoja														
MS	378.9	416.7	392.7	497.3	422.8	518.3	388.8	460.1	425.8	489.0	0.332	0.0001	0.0001	0.0009
MO	924.5	899.5	926.7	896.6	919.0	883.0	921.6	886.4	945.7	885.0	0.26	0.8885	0.0007	0.8312
PC	102.3	93.7	138.9	104.9	80.2	39.6	62.2	49.5	117.3	144.2	16.02	0.0001	0.0001	0.0001
FDN	513.0	608.0	600.0	668.4	580.3	624.3	726.9	810.9	652.2	700.7	3.71	0.0001	0.0001	0.0001
FDA	305.1	367.6	288.8	298.9	290.8	303.4	307.0	384.7	357.5	351.9	4.95	0.0001	0.0001	0.0001
Muestras de tallo														
MS	353.4	402.8	421.0	464.1	383.8	449.1	336.1	415.8	406.2	463.0	0.33	0.0001	0.0001	0.1240
MO	934.1	924.7	931.5	926.2	948.0	934.9	939.0	932.0	924.7	921.4	0.34	0.8324	0.4687	0.9986
PC	37.6	36.9	55.5	44.6	31.3	48.7	31.2	31.7	50.1	49.5	5.08	0.0001	0.0214	0.0001
FDN	798.2	804.1	766.9	788.5	821.3	811.9	822.4	884.6	774.4	821.99	1.32	0.0001	0.0074	0.0985
FDA	463.0	457.1	412.9	442.7	445.3	442.1	432.1	476.7	484.4	486.1	2.69	0.0001	0.0119	0.0089

CV= Coeficientes de variación (%).

Comparando las edades de rebrote de la muestra total, los forrajes a los 21 días de rebrote mostraron valores más bajos de MS, FDN y FDA ($P<0.05$); sin embargo, presentaron valores de PC más altos. Como se esperaba, la PC de las láminas de las hojas fue mayor que la de las muestras de tallo. La PC de las láminas de las hojas de *B. ruziziensis* R124 a los 42 días de rebrote mostró la mayor cantidad (144.2 g kg^{-1} ; $P<0.05$)

B. humidicola cv. Tupi presentó valores más altos de FDN y FDA para láminas de las hojas a los 42 días de rebrote (769.4 y 557.7 g kg^{-1} , respectivamente; $P<0.05$). Los valores más altos de FDN del tallo también los presentó *B. humidicola* cv. Tupi (884.6 g kg^{-1} ; $P<0.05$). También se observaron valores altos de FDA para *B. humidicola* cv. Tupi y *B. decumbens* cv. Basilisk (384.7 y 367.6 g kg^{-1} , respectivamente; $P<0.05$).

Digestibilidad de la materia seca *in vitro* (DMSiv) y digestibilidad de la fibra detergente neutro *in vitro* (DFDNiv)

No hubo interacción significativa ($P>0.05$) entre el inóculo y las gramíneas. Se observó que el inóculo ovino vs el inóculo bovino dio como resultado valores más altos de DMSiv para *B. decumbens* cv. Basilisk a los 21 días (611.2 vs 571.9 g kg^{-1} ; $P=0.0200$), *B. humidicola* cv. Tupi a los 21 días (631.8 vs 568.4 g kg^{-1} ; $P=0.0370$), y *B. ruziziensis* acceso R124 a los 21 días (548.8 vs 613.4 g kg^{-1} ; $P=0.0420$; Cuadro 3). Al evaluar únicamente el inóculo bovino, *B. humidicola* cv. Tupi y *B. ruziziensis* acceso R124 a los 42 días de rebrote mostraron los valores más bajos de DMSiv (544.3 y 542.0 g kg^{-1} , respectivamente; $P=0.0078$). Al evaluar sólo el inóculo ovino, *B. ruziziensis* acceso R124 también presentó la DMSiv más baja (535.0 g kg^{-1} ; $P=0.0184$) a los 42 días.

Cuadro 3: Digestibilidad de materia seca *in vitro* (DMSiv) de diferentes variedades de gramíneas *Brachiaria* en diferentes edades de rebrote incubadas con líquido ruminal bovino u ovino (g kg^{-1})

	Edad	Inóculo ruminal		CV (%)	Valor P
		Bovino	Ovino		
<i>B. decumbens</i> cv. Basilisk	21	571.9 ^{ABb}	611.2 ^{ABa}	0.96	0.0200
	42	612.9 ^{AB}	575.5 ^{ABC}	1.48	0.0520
<i>B. decumbens</i> acceso D70	21	583.4 ^{AB}	599.2 ^{AB}	2.85	0.1235
	42	558.6 ^{BC}	550.7 ^{BC}	2.12	0.1354
<i>B. humidicola</i> cv. Común	21	515.9 ^B	574.3 ^B	2.86	0.0650
	42	593.2 ^{ABC}	598.8 ^{AB}	1.30	0.1845
<i>B. humidicola</i> cv. Tupi	21	568.4 ^{ABb}	631.8 ^{ABa}	2.09	0.0370
	42	544.3 ^C	577.6 ^{ABC}	1.81	0.0820
<i>B. ruziziensis</i> acceso R124	21	548.8 ^{ABb}	613.4 ^{ABa}	3.30	0.0420
	42	542.0 ^C	535.0 ^C	0.07	0.2002
CV, %		2.564	1.972		
Valor-P		0.0078	0.0184		

Los valores medios con diferentes letras mayúsculas en la misma columna o letras minúsculas superíndices difieren ($P<0.05$) según la prueba de Tukey.

CV= Coeficientes de variación.

En cuanto a la DFDN_{iv}, tal como se presenta en el Cuadro 4, el inóculo ovino dio como resultado valores más altos que el bovino en *B. humidicola* cv. Común a los 21 días de rebrote (420.3 vs 369.5 g kg⁻¹; $P=0.0040$), y *B. humidicola* cv. Tupi a los 42 días (490.8 vs 452.4 g kg⁻¹; $P=0.0270$). Sin embargo, en *B. decumbens* cv. Basilisk a los 42 días, se observó lo contrario: el inóculo ovino resultó en valores de DFDN_{iv} más bajos que el bovino (413.9 vs 472.4 g kg⁻¹; $P=0.0150$).

Cuadro 4: Digestibilidad de fibra detergente neutro *in vitro* (DFDN_{iv}) de diferentes variedades de gramíneas *Brachiaria* en diferentes edades de rebrote incubadas con líquido ruminal bovino u ovino (g kg⁻¹)

	Edad	Inóculo ruminal		CV(%)	Valor-P
		Bovino	Ovino		
<i>B. decumbens</i> cv. Basilisk	21	436.8 ^A	439.1	9.75	0.3542
	42	472.4 ^{Aa}	413.9 ^b	1.64	0.0150
<i>B. decumbens</i> acceso D70	21	482.7 ^A	487.7	5.76	0.1423
	42	445.7 ^A	412.5	4.87	0.2540
<i>B. humidicola</i> cv. Común	21	369.5 ^{ABb}	420.3 ^a	0.84	0.0040
	42	443.4 ^A	458.7	1.30	0.1210
<i>B. humidicola</i> cv. Tupi	21	458.4 ^A	510.3	3.62	0.0970
	42	452.4 ^{Ab}	490.8 ^a	1.35	0.0270
<i>B. ruziziensis</i> acceso R124	21	212.2 ^B	455.7	70.20	0.4080
	42	427.6 ^A	424.0	15.53	0.0870
CV, %		25.333	4.622		
Valor-P		0.0044	0.1562		

Los valores medios con diferentes letras mayúsculas en la misma columna o letras minúsculas superíndices difieren ($P<0.05$) según la prueba de Tukey.

CV= Coeficientes de variación.

No hubo efecto ($P>0.05$) en DFDN_{iv} del cultivar y edad de rebrote cuando las muestras se incubaron con inóculo ovino; sin embargo, los valores más altos se observaron para *B. humidicola* cv. Tupi a los 21 y 42 días (510.3 y 490.8 g kg⁻¹, respectivamente). Cuando se utilizó el inóculo bovino sólo la variedad *B. ruziziensis* acceso R124 a los 21 días presentó valores de DFDN_{iv} por debajo de los demás ($P=0.0044$). A los 21 días de rebrote las variedades que presentaron los valores más altos ($P=0.0044$) fueron *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. decumbens* acceso D70, *B. humidicola* cv. Común y *B. humidicola* cv. Tupi, destacando numéricamente *B. decumbens* acceso D70, con el valor medio más alto. A los 42 días, *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. decumbens* acceso D70, *B. humidicola* cv. Común, *B. humidicola* cv. Tupi y *B. ruziziensis* acceso R124 tuvieron estadísticamente los valores más altos ($P=0.0044$), destacando numéricamente *B. decumbens* cv. Basilisk con la media más alta.

Discusión

El hábito estolonífero de *B. humidicola*, con nudos fuertes que se ramifican en nuevas plantas, favorece un alto residuo durante el corte estándar de forraje para la evaluación del rebrote⁽¹²⁾. El sistema radicular grande da como resultado más reservas de carbohidratos para un rebrote más vigoroso, como se observó en este estudio en el mayor peso de la lámina de la hoja en *B. humidicola* cv. Tupi y tallos en *B. humidicola* cv. Común (Cuadro 1). Es posible que un mayor rebrote de hojas se deba a la intensa renovación de nutrientes y a un aumento de PC en hojas jóvenes relacionado con una pared celular más delgada⁽¹³⁾. Sin embargo, el alto desarrollo del tallo en las gramíneas tropicales también se debe a otros dos factores principales: la baja frecuencia de defoliación y floración⁽¹⁴⁾. En respuesta a la necesidad de exponer las hojas más jóvenes al dosel superior, donde la luz es más abundante, puede presentarse una competencia por la luz entre los macollos obligándolos a alargar sus tallos^(15,16).

Las gramíneas *B. humidicola* presentaron menos material de senescencia (Cuadro 1), favoreciendo la evaluación positiva de las hojas verdes, que son de gran importancia en el valor nutricional de un forraje. Las láminas de las hojas de los cultivares de *B. humidicola* son morfológicamente más delgadas (0.5–0.8 cm de ancho) que las de *B. decumbens* (ancho promedio de 1.5 cm) y *B. ruziziensis* (ancho de 1.0 a 1.5 cm), proporcionando menos sombra (menos de 65 %). Por lo tanto, tienen menor senescencia o muerte de los macollos jóvenes y hojas viejas, como se reportó anteriormente en otros estudios^(6,16,17). Las láminas de las hojas en expansión, especialmente las intermedias en el macollo, recorren un camino más alto entre su punto de conexión con la región meristemática y el final de los pseudotallos y, en consecuencia, alcanzan un tamaño completo⁽⁶⁾. Comparando las edades de rebrote, las fechas de muestreo no afectaron significativamente el crecimiento vegetativo (Cuadro 1).

En cuanto a la producción de forraje, es posible sugerir que *B. humidicola* cv. Tupi mostró el mejor rendimiento, a pesar de que *B. decumbens* cv. Basilisk tiene una mayor producción de láminas de hojas, tallo y material senescente, pero menos láminas de hojas y material senescente más alto que los demás ($P < 0.05$), lo que puede interferir con el contenido de nutrientes.

Evaluando las composiciones químicas de las gramíneas *B. decumbens*, este estudio presentó un mayor contenido de PC a los 21 días de rebrote, pero a los 42 días *B. ruziziensis* tuvo un alto contenido de PC (Cuadro 2). Los hallazgos de un estudio⁽¹⁸⁾ que evaluó *B. decumbens* cv. Basilisk y *B. ruziziensis* cv. Kennedy reportaron un mayor contenido de PC, pero esto pudo haberse debido a una altura de corte diferente (10 cm vs 5 cm); cuando se corta más cerca del suelo puede haber más tallo y material senescente en las muestras, – pero también pudo haberse debido a diferencias de fertilidad del suelo y otras condiciones edafoclimáticas donde se cultivaron las plantas–.

En cuanto a la porción fibrosa del material, debido a que la FDN consiste en celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice y la FDA es la fracción compuesta de celulosa, lignina y sílice, incluso un ligero cambio en esos compuestos alterará los valores de FDN y FDA⁽¹⁹⁾. La FDN y la FDA de la muestra total de las variedades de *B. decumbens* encontradas en este estudio fueron inferiores a los observados en otro estudio⁽²⁰⁾, el cual citó valores a los 30 días de rebrote de 832.4 g kg⁻¹ FDN y 462.1 g kg⁻¹ FDA. Un estudio con *Brachiaria decumbens*⁽¹³⁾ obtuvo una media de 809.0 g kg⁻¹ de FDN y 475.0 g kg⁻¹ de FDA. Estos resultados están más cerca de los hallazgos en este estudio con las dos variedades de *B. decumbens* a los 42 días de rebrote (*B. decumbens* cv. Basilisk 743.8 g kg⁻¹ de FDN y 498.4 g kg⁻¹ de FDA; *B. decumbens* acceso D70 798.0 g kg⁻¹ de FDN y 541.5 g kg⁻¹ de FDA; Cuadro 2). Las plantas con menos carbohidratos estructurales (residuos FDA) son más eficientes en el ciclo de nutrientes y tienen efectos beneficiosos en los rendimientos de los cultivos⁽²¹⁾.

Teniendo en cuenta todos los parámetros de composición bromatológica, a los 21 días de rebrote, *B. ruziziensis* acceso R124 mostró la mejor combinación de parámetros, con menos FDN y FDA ($P < 0.05$) y uno de los valores más altos de contenido de PC. Sin embargo, a los 42 días, la variedad que tuvo la mejor combinación de contenido bromatológico fue *B. decumbens* cv. Basilisk; incluso con un valor de PC no tan alto, tuvo un menor contenido de FDA y FDN y una menor proporción de FDA dentro de la FDN, lo que interfiere directamente con la digestión de un alimento y, en consecuencia, su valor nutricional.

Las técnicas de digestibilidad *in vitro* que utilizan inóculos ovinos y bovinos tienen ventajas para una evaluación rápida de los piensos, como la uniformidad física y química de los recipientes fermentativos y la conveniencia de mantener menos animales fistulados; aunque no reproducen perfectamente el proceso de digestión como lo hacen los animales vivos. Esto pudo observarse cuando se comparan los resultados de este estudio con otros que analizaron el mismo forraje *in situ* o *in vivo*^(12,22,23,24). Además, la digestibilidad ruminal ovina presentó porcentajes que fueron de 10 a 15 % superiores a los del líquido ruminal bovino (Cuadro 3). Sin embargo, la capacidad de predicción y la aplicabilidad de las técnicas *in vitro* pueden depender del grado de similitud entre el proceso digestivo técnico y el de los rumiantes. Los sistemas *in vitro* utilizan fluido ruminal y una solución estándar para simular el proceso anaeróbico de fermentación ruminal⁽²⁵⁾, la solución estándar es típicamente una solución tampón que simula la saliva de los rumiantes⁽¹¹⁾.

Todas las gramíneas presentaron valores superiores a los 500 g kg⁻¹ de DMS_{iv}, indicado por los autores⁽²⁶⁾ como un valor mínimo para calificarlas como forraje de buena calidad nutricional y no comprometer el rendimiento animal, incluso dada la caída esperada de la colonización microbiana de 0.1 a 0.2 % por día con el aumento de la edad fisiológica de la planta⁽¹³⁾. Como se esperaba, la media de DFDN_{iv} fue menor que la de DMS_{iv} (Cuadros 3 y 4). Sin embargo, el no encontrar diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las edades de rebrote en unas variedades de *Brachiaria* contradice los resultados de Paciullo *et al*⁽²⁷⁾,

quienes encontraron que con el desarrollo de la planta durante el período de descanso, los metabolitos surgen de la fotosíntesis y se convierten en componentes estructurales. La solubilización de la hemicelulosa puede ocurrir, la expansión de la fibra posiblemente aumenta la disponibilidad de sustratos fermentables, proporcionando así condiciones adecuadas para el crecimiento microbiano y, en consecuencia, la digestibilidad de la FDN. La reducción de los enlaces de hidrógeno intermoleculares y el tipo de enlace éster entre la lignina y la hemicelulosa permite su liberación y exposición al ataque de las bacterias del rumen, además de la posible presencia de un contenido elevado de carbohidratos fácilmente fermentable⁽¹⁹⁾.

Finalmente, al analizar los resultados de *DMSiv* y *DFDNiv* y considerando los dos inóculos, fue posible observar que, en el inóculo bovino, *B. decumbens* cv. Basilisk presentó la mejor digestibilidad en ambas edades de rebrote, mientras que en el inóculo ovino *B. humidicola* cv. Tupi tuvo la mejor digestibilidad, también para ambas edades.

Conclusiones e implicaciones

La especie animal de origen para el inóculo tiene un efecto en las pruebas de digestibilidad *in vitro*. Por lo tanto, es muy recomendable utilizar un inóculo específico para las evaluaciones de gramíneas según la especie objetivo (bovino u ovino). De los resultados obtenidos, *B. decumbens* cv. Basilisk presentó la mejor digestibilidad *in vitro* (*DMSiv* y *DFDNiv*) en inóculo bovino y también una buena combinación de contenido de nutrientes y aumento de la producción de todos sus componentes de dosel, mientras que *B. humidicola* cv. Tupi tuvo mejor digestibilidad *in vitro* (*DMSiv* y *DFDNiv*) en inóculo ovino y la mejor producción.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Federal de Mato Grosso do Sul; Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico - CNPq, (proceso 563988/2010-0); Fundación de Apoyo al Desarrollo de la Educación, la Ciencia y la Tecnología del Estado de Mato Grosso do Sul- FUNDECT (proceso 23/200.145/2011), y Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior –CAPES (Clave de Financiamiento 001). También desean agradecer al Centro Brasileño de Investigación Agrícola (Embrapa Beef Cattle) por proporcionar los forrajes.

Literatura citada:

1. Fernandes LO, Reis RA, Paes JMV, Teixeira RMA, Queiroz DS, Paschoal JJ. Performance of Gir young bull maintained in "Brachiaria brizantha" pastures submitted to different management. Rev Bras Saúde e Produção Anim 2015;16(1):36–46.

2. Medeiros FF, Silva AMA, Carneiro H, Araújo DRC, Moraes RKO, Moreira MN, *et al.* Fontes proteicas alternativas oriundas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. *Arq Bras Med Veterinária e Zootec* 2015;67(2):519–526.
3. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74(10):3583–3597.
4. Weiss WP. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. *Forage Qual. Eval. Util.* John Wiley & Sons, Ltd; 1994:644–681.
5. Köppen W, Geiger R. *Handbuch der Klimatologie: Das geographische System der Klimate.* Berlin: Borntraeger Science Publishers; 1936 vol. 35.
6. Machado LAZ, Fabrício AC, Assis PGG de, Maraschin GE. Estrutura do dossel em pastagens de capim-marandu submetidas a quatro ofertas de lâminas foliares. *Pesqui Agropecuária Bras* 2007;42(10):1495–1501.
7. Santos MER, da Fonseca DM, Silva GP, Pimentel RM, de Carvalho VV, da Silva SP. Estrutura do pasto de capim-braquiária com variação de alturas. *Rev Bras Zootec* 2010;39(10):2125–2131.
8. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis* 1990;1(Vol 1):552.
9. Tilley JMA, Terry RA. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass Forage Sci* 1963;18(2):104–111.
10. Holden LA. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. *J Dairy Sci* 1999;82(8):1791–1804.
11. McDougall EI. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem J* 1948;43(1):99–109.
12. Zorzi K, Detmann E, Queiroz AC de, Paulino MF, Mantovani HC, Bayão GF. *In vitro* degradation of neutral detergent fiber of high-quality tropical forage according to supplementation with different nitrogenous compounds. *Rev Bras Zootec* 2009;38(5):964–971.
13. Santos EDG, Paulino MF, Queiroz DS, Valadares Filho S de C, Fonseca DM da, Lana R de P. Avaliação de pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf: 1. Características químico-bromatológicas da forragem durante a seca. *Rev Bras Zootec* 2004;33(1):203–213.
14. Barbosa RA, Nascimento Júnior D do, Euclides VPB, Silva SC da, Zimmer AH, Torres Júnior RA de A. Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. *Pesqui Agropecuária Bras* 2007;42(3):329–340.

15. Velásquez PAT, Berchielli TT, Reis RA, Rivera AR, Dian PHM, Teixeira IAMDA. Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade *in vitro* de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. Rev Bras Zootec 2010;39(6):1206–1213.
16. Santos MER, Fonseca DM da, Euclides VPB, Nascimento Júnior D do, Queiroz AC de, Ribeiro Júnior JI. Características estruturais e índice de tombamento de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk em pastagens diferidas. Rev Bras Zootec 2009;38(4):626–634.
17. Paciullo DSC, De Carvalho CAB, Aroeira LJM, Morenz MJF, Lopes FCF, Rossiello ROP. Morphophysiology and nutritive value of signalgrass under natural shading and full sunlight. Pesqui Agropecu Bras 2007;42(4):573–579.
18. Moreira EA, Souza SM de, Ferreira AL, Tomich TR, Azevêdo JAG, Souza Sobrinho F de, *et al.* Nutritional diversity of *Brachiaria ruziziensis* clones. Ciência Rural 2018;48(2):1–8.
19. Rosa B, Reis RA, De Resende KT, Do Nascimento Kronka S, Jobim CC. Nutritive value of *Brachiaria decumbens* stapf cv. Basilisk hay submitted to anhydrous ammonia or urea treatment. Rev Bras Zootec 1998;27(4):815–822.
20. Moraes EHBK de, Paulino MF, Zervoudakis JT, Valadares Filho S de C, Moraes KAK de. Avaliação qualitativa da pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf., sob pastejo, no período da seca, por intermédio de três métodos de amostragem. Rev Bras Zootec 2005;34(1):30–35.
21. Silva AM, Oliveira RL, Ribeiro OL, Bagaldo AR, Bezerra LR, Carvalho ST, *et al.* Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação de ruminantes. Comun Sci 2014;5(4):370–379.
22. Rodrigues ALP, Sampaio IBM, Carneiro JC, Tomich TR, Martins RGR. Degradabilidade *in situ* da matéria seca de forrageiras tropicais obtidas em diferentes épocas de corte. Arq Bras Med Veterinária e Zootec 2004;56(5):658–664.
23. Costa VAC, Detmann E, Valadares Filho SDC, Paulino MF, Henriques LT, Mantovani HC. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. Rev Bras Zootec 2008;37(3):494–503.
24. Mutimura M, Ebong C, Rao IM, Nsahlai IV. Nutritional values of available ruminant feed resources in smallholder dairy farms in Rwanda. Trop Anim Health Prod 2015;47(6):1131–1137.
25. Goering HK, Van Soest PJ. Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications. Agr Res Serv. US Department of Agriculture; 1970.

26. Euclides VPB, Flores R, Medeiros RN, Oliveira MP de. Diferimento de pastos de braquiária cultivares Basilisk e Marandu, na região do Cerrado. *Pesqui Agropecuária Bras* 2007;42(2):273–280.
27. Paciullo DSC, Gomide JA, Queiroz DS, Silva EAM da. Chemical composition and in vitro digestibility of leaf blades and stems of forages grasses, according to level of insertion on grass tiller, age and season of growth. *Rev Bras Zootec* 2001;30(3):964–74.