

## Composición monomérica de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115 y su variación con la edad de rebrote

Daiky Valenciaga<sup>1</sup>, R.S. Herrera<sup>1</sup>, Eloisa de Oliveira Simoes<sup>2</sup>, Bertha Chongo<sup>1</sup> y Verena Torres<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana  
Correo electrónico: dvalenciaga@ica.co.cu

<sup>2</sup> Escuela de Veterinaria, Universidad Federal de Minas Gerais, Bello Horizonte. Brasil

Se desarrolló un experimento con el objetivo de caracterizar la composición monomérica de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115 y su variación con la edad de rebrote, según diseño de bloques al azar, con tres réplicas y cinco tratamientos (28, 56, 84, 112 y 140 d de rebrote). Se constató que la incorporación de los monolignoles a la molécula de lignina del CUBA CT-115 ocurrió en orden de incremento de la complejidad de los mismos. Con la edad de rebrote, se incrementaron ( $P < 0.01$ ) las concentraciones de todos los monómeros fenólicos. Los tenores de vainillina y siringilaldehído hasta los 84 d fueron mínimos y mostraron incremento drástico ( $P < 0.01$ ) a los 140 d de rebrote, cuando se observó el mayor valor (4.567 y 0.913 mg mL<sup>-1</sup> para vainillina y siringilaldehído, respectivamente). Se ajustó una ecuación de regresión múltiple entre la lignina, los monómeros fenólicos y la edad: lignina =  $2.12 + 0.050 (\pm 0.004)$  edad -  $0.285 (\pm 0.178)$  hidroxibenzaldehído -  $1.530 (\pm 0.780)$  siringilaldehído +  $0.359 (\pm 0.125)$  vainillina ( $R^2=0.99$ ,  $P < 0.001$ , error estándar de estimación =  $\pm 0.115$ ). Hubo alta correlación entre la DIVMS y los componentes monoméricos de la lignina. Se estableció la mejor ecuación que explica el comportamiento de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS): DIVMS =  $72.83 - 1.61 (\pm 0.89)$  p hidroxibenzaldehído -  $0.97 (\pm 0.24)$  lignina ( $R^2 = 0.90$ ,  $P < 0.001$ , error de la estimación =  $\pm 0.88$ ). Los resultados permiten establecer las bases para programas de mejoramiento genético o de manipulación biotecnológica de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115, que permitan aprovechar al máximo su potencial como fuente de biomasa. Se sugiere realizar estudios similares con empleo de riego y fertilización.

Palabras clave: monómeros fenólicos, lignina, *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115

Morrison *et al.* (1998) demostraron que la presencia física y la cantidad total de lignina en las paredes celulares vegetales no eran suficiente para explicar el fenómeno de inhibición de la fermentación microbiana ruminal de los polisacáridos de la pared celular, como se consideraba hasta ese momento, sino que se debían tener en cuenta las variaciones en la composición monomérica de la lignina, ya que la condensación de estos monómeros fenólicos puede producir polímeros de lignina extremadamente complejos y diferentes en su composición y estructura. Estos influyen, de forma muy variable, en la digestión de los forrajes por los rumiantes.

A partir de este momento, diferentes grupos de investigación encaminaron sus estudios hacia este tema (Fukushima y Hatfield 2003 y Saliba *et al.* 2005). Los resultados novedosos que se han obtenido constituyen herramientas útiles para la comunidad científica agropecuaria, que ha comenzado a trabajar en programas de mejoramiento genético o de manipulación biotecnológica de especies de interés, como *Sorghum bicolor* L. Moench (Noguera 2004) y *Zea mays* (Barriere *et al.* 2008). Estas investigaciones han permitido establecer y recomendar las estrategias de mejoramiento genético vegetal para incrementar el valor nutritivo de los carbohidratos estructurales y la eficiencia en su utilización. Además, debe destacarse la patente concedida a la metodología para aumentar la concentración del monómero siringilaldehído en tejidos vegetales, mediante la que se obtiene lignina de más fácil degradación (Chaple 2007).

Sin embargo, a pesar de la importancia práctica y la novedad de esta determinación, se desconoce la

composición monomérica de la lignina en la mayoría de las especies de gramíneas tropicales. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la composición de los monómeros fenólicos de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115 y su variación con la edad de rebrote.

### Materiales y Métodos

**Localización.** El experimento se realizó en áreas del Instituto de Ciencia Animal de Cuba y los análisis químicos en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Escuela de Veterinaria de la Universidad Federal de Minas Gerais (UFMG), Bello Horizonte, Brasil.

**Diseño y procedimiento experimental.** Se utilizaron las muestras de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115, sin riego ni fertilización, previamente establecidas en el área experimental del Instituto de Ciencia Animal, según diseño de bloques al azar, con cinco tratamientos (28, 56, 84, 112 y 140 d de rebrote de la planta) y tres réplicas.

La plantación se efectuó el 5 de junio de 2003, en tres parcelas con un área de 25 m<sup>2</sup>. Posteriormente, el 8 de junio de 2004, cuando estuvo plenamente establecida, se realizó el corte de uniformidad, a 20 cm del suelo. A partir de este instante se realizaron muestreos del material vegetal, a los 28, 56, 84, 112 y 140 d. Después de desechar los efectos de borde, se tomaron 100 plantas al azar por tratamiento y réplica, de forma manual (cortadas con machete a 20 cm del suelo) para los estudios de composición química. Las muestras se secaron en estufa de circulación de aire a temperaturas alternas: 100 °C durante una hora, y posteriormente a 60 °C hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 72 h), según

lo descrito por Herrera (2008). Las muestras se redujeron a tamaño de partícula de 1 mm y se almacenaron en frascos de cristal herméticamente cerrados, a temperatura ambiente hasta la realización de los análisis químicos.

**Análisis químicos.** Los análisis de lignina y DIVMS de las muestras evaluadas se realizaron en el rango de longitud de onda, de 700 - 2500 nm, en un espectrofotómetro de reflectancia en el infrarrojo cercano, con transformada de Fourier NIRS VIS BUHLER, adaptado a un software quimiométrico BCAP Versión 6.0 (Buhler Chemical Analytic Package). Todos los análisis se realizaron por duplicado, por tratamiento y réplica, para un total de 30 muestras.

Para el aislamiento de los monómeros fenólicos de la lignina se utilizó la técnica de oxidación con nitrobenzono, según el procedimiento descrito por Drumond *et al.* (1992). En un reactor PARR, modelo 4841, de 10 mL, se adicionaron 25 mg de la muestra, 9 mL de NaOH 2.5 N y 1 mL de nitrobenzono. Inmediatamente se cerró el sistema y se dejó a 170 °C durante tres horas. Posteriormente, la mezcla oxidada se transfirió para un balón de decantación donde se efectuaron cinco lavados con cloroformo para eliminar el exceso de nitrobenzono. Al final de los 5 lavados, el sobrenadante del último lavado se acidificó, con la adición de 4 mL de HCl 3.0 N para proceder de nuevo a la extracción de los monómeros fenólicos, con tres lavados de 5 mL cada uno con cloroformo. Se tomó la parte líquida, se evaporó a temperatura ambiente y se le adicionó 25 µL de acetonitrilo y 25 µL del agente sililante. Se colocó en equipo de ultrasonido por 5 min para mezclar la muestra. Concluido este tiempo, la muestra se retiró del ultrasonido y se llevó a un horno de microondas doméstico, marca Panasonic, de potencia 40 watt, durante 2 min. Finalmente 2 µL de esta solución de reacción se analizaron por cromatografía gaseosa en Cromatógrafo Gaseoso VARIAN CP – 3380, con columna capilar SE 54 - 30m x 0.32 mm, marca Alltech. La condiciones para el análisis fueron las

siguientes: gas de arrastre (2mL min<sup>-1</sup>), temperatura de detección de 300 °C, temperatura del inyector de 270 °C, temperatura de la columna de 120 °C, 1 min, 10 °C min<sup>-1</sup>. Se acopló un detector de ionización de llamas.

Como patrones se utilizaron los ácidos fenólicos p-hidroxibenzaldehído, vainillina y siringilaldehído. Como se emplearon tres estándares de referencia, la oxidación de los núcleos guaiacólicos permitió cuantificar la vainillina en el material en estudio, la de los núcleos siringólicos, la de siringilaldehído y la oxidación de los núcleos aromáticos, y la de p-hidroxibenzaldehído. Los análisis químicos se realizaron por triplicado por tratamiento y réplica, para 45 muestras en total.

**Análisis estadístico.** Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows. Los valores medios se compararon mediante la dócima de Duncan (1955). Se ajustaron ecuaciones de regresión múltiple entre la lignina y los monómeros fenólicos. Se realizó análisis de correlación entre la DIVMS y los monómeros de la lignina y se ajustaron ecuaciones de regresión múltiples entre estos indicadores, según Visauta (1988).

## Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra la composición monomérica de la lignina del CUBA CT – 115 y su variación con la edad de rebrote.

La presencia de las unidades p-hidroxibenzaldehído, siringilaldehído y vainillina indicó que la lignina presente en el *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT- 115 se corresponde con las características de las ligninas de las gramíneas, según lo sugerido por Piló – Veloso *et al.* (1993) y Saliba *et al.* (1999).

El tenor de lignina y la composición monomérica de la misma aumentaron con la edad de rebrote, y los mayores incrementos se obtuvieron a los 140, 56, 140 y 140 d de rebrote para la lignina, p-hidroxibenzaldehído, siringilaldehído y vainillina, respectivamente. Esto pudiera indicar que durante el proceso de formación de la lignina las mayores acumulaciones de monómeros (excepto el

Tabla 1. Variación de la composición monomérica de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT – 115 con la edad de rebrote

| Edad,d | Lignina, %          | Hidroxi benzaldehído,<br>mg/mL <sup>-1</sup> | Vainillina,<br>mg/mL <sup>-1</sup> | Siringil aldehído,<br>mg/mL <sup>-1</sup> | V/S                |
|--------|---------------------|--|------------------------------------|---|--------------------|
| 28     | 3.22 <sup>a</sup>   | 0.999 <sup>a</sup>                           | 0.0                                | 0.0                                       | -                  |
| 56     | 4.13 <sup>b</sup>   | 2.007 <sup>b</sup>                           | 0.006 <sup>a</sup>                 | 0.005 <sup>a</sup>                        | 1.20 <sup>a</sup>  |
| 84     | 5.68 <sup>c</sup>   | 2.106 <sup>c</sup>                           | 0.008 <sup>a</sup>                 | 0.006 <sup>a</sup>                        | 1.33 <sup>b</sup>  |
| 112    | 6.85 <sup>d</sup>   | 2.241 <sup>d</sup>                           | 1.058 <sup>b</sup>                 | 0.365 <sup>b</sup>                        | 2.90 <sup>c</sup>  |
| 140    | 8.55 <sup>e</sup>   | 2.499 <sup>e</sup>                           | 4.567 <sup>c</sup>                 | 0.913 <sup>c</sup>                        | 5.00 <sup>d</sup>  |
| EE ±   | 0.05 <sup>***</sup> | 0.030 <sup>**</sup>                          | 0.020 <sup>**</sup>                | 0.040 <sup>**</sup>                       | 0.03 <sup>**</sup> |

<sup>abcde</sup> Medias con letras diferentes en la misma columna difieren a P < 0.05 (Duncan 1955)

\*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001

V/S: Relación Vainillina/Siringilaldehído

p-hidroxibenzaldehído) se produce en las postrimerías del ciclo de crecimiento de esta planta.

Saliba *et al.* (2005), al analizar la composición monomérica de la lignina, de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, una de las escasas gramíneas tropicales de las que existen estudios al respecto, encontraron un comportamiento similar en la concentración de los monómeros fenólicos con la edad de rebrote.

En este sentido, se constató también (tabla 1) que la incorporación de los monolignoles a la molécula de lignina ocurrió en orden de incremento de la complejidad de las unidades monoméricas. A los 28 d se depositaron solamente las unidades de p-hidroxibenzaldehído. Posteriormente, a los 56 d comenzó la deposición de las unidades guaiacílicas y las siríngílicas, las que se incrementaron a partir de los 112 d de rebrote. Este aspecto es muy interesante y aún desconocido en la mayoría de las especies utilizadas en la alimentación animal. Pudiera estar relacionado con lo planteado por Graber (2005), quien demostró que las unidades de p-hidroxibenzaldehído se copolimerizan dentro de la pared primaria en los estadios tempranos de la lignificación de las paredes celulares vegetales. Posteriormente, con el desarrollo de la pared secundaria, se incrementan las unidades guaiacílicas y siríngílicas para formar la estructura compleja del polímero de lignina.

A finales de la década de los noventa, Takabe *et al.* (1999) postularon que la estructura de la molécula de lignina es heterogénea. Sin embargo, no es un copolímero desordenado formado por varios monolignoles al azar. En este la formación de las macromoléculas ocurre bajo regulación bioquímica definida en su mecanismo de síntesis, y la incorporación de los monolignoles a la macromolécula de lignina debe ocurrir en orden de incremento de la complejidad de los mismos. Los resultados de este trabajo reafirman y demuestran estas hipótesis.

A medida que avanzó la edad del CUBA CT-115, se incrementaron ( $P < 0.01$ ) las concentraciones de todos los monómeros fenólicos, lo que está relacionado con la mayor lignificación de la planta con la edad, debido a la maduración fisiológica de sus tejidos y al engrosamiento de las paredes celulares (Deschamps y Ramos 2002). Debe destacarse que las concentraciones de vainillina y siríngilaldehído del CUBA CT-115 fueron mínimas hasta los 84 d. Aumentaron gradualmente a los 112 d, para mostrar incremento drástico ( $P < 0.01$ ) a los 140 d de edad, cuando se observó la mayor concentración (4.567 y 0.913 mg mL<sup>-1</sup> para vainillina y siríngilaldehído, respectivamente).

Herrera y Ramos (2006) informaron que el contenido de la pared celular se incrementó de 63.5 a 67.7 %, cuando el King grass (*Pennisetum purpureum* sp.) se cortó cada 45 y 80 d, respectivamente. Similar patrón mostraron la lignina (4.9 y 7.3 %) y la celulosa (27.1 y 34.0 %) para las mismas edades. No obstante, para

CUBA CT-115, González (2006) señaló que la lignina y celulosa se incrementaron a medida que aumentó la frecuencia de corte. Sin embargo, Herrera *et al.* (1995) encontraron en este forraje un comportamiento variable en el contenido de la pared celular, lignina, celulosa y hemicelulosas, aunque los mayores valores se alcanzaron cuando se cortó cuatro veces por año.

Estos resultados evidencian claramente el proceso de engrosamiento de la pared celular y de sus componentes con la edad de rebrote, en especial cuando es avanzada. Además, reafirman lo enunciado con anterioridad y permiten demostrar la importancia de incorporar el análisis de la composición monomérica de la lignina, como herramienta de utilidad en los estudios del valor nutritivo de los pastos y forrajes. Estos datos deben considerarse para establecer las estrategias correctas de utilización de los pastos y forrajes en la alimentación de los rumiantes.

Además, los valores de los monómeros fenólicos indican que la estructura química de la lignina no es constante en la etapa estudiada. Estos cambios pueden influir en la rigidez de la planta y en procesos metabólicos como la deposición de sílice y calcio en la pared celular. Además, pueden limitar la acción degradativa de los componentes de la pared celular por los microorganismos del rumen, entre otros aspectos.

A partir de los datos obtenidos, se ajustó la siguiente ecuación de regresión múltiple entre la lignina, los monómeros fenólicos y la edad:

$$\text{Lignina} = 2.12 + 0.050 (\pm 0.004) \text{ edad} - 0.285 (\pm 0.178) \text{ p-hidroxibenzaldehído} - 1.530 (\pm 0.780) \text{ siríngilaldehído} + 0.359 (\pm 0.125) \text{ vainillina} \\ (R^2=99.60^{***}, \text{ error estándar de estimación} = \pm 0.115)$$

Esta ecuación permite describir el proceso de lignificación de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115, a medida que se incrementa su edad de rebrote, al considerar los componentes monoméricos. Debe tenerse en cuenta para el manejo de esta planta en la alimentación de los rumiantes, ya que al interpretar la ecuación, conociendo que a los 140 d de rebrote, con el drástico incremento de la concentración de vainillina del CUBA CT-115, se producen cambios en los polímeros de lignina. Estos limitan la utilización de los componentes de la pared celular por los microorganismos del rumen. Puede argumentarse que no es recomendable la utilización de esta planta en la alimentación de los rumiantes, después de los 112 d de rebrote.

Este resultado no se había informado en la literatura disponible y resulta de gran importancia, ya que señala el aporte de los monómeros a la estructura de la lignina y pudiera ser útil en estudios futuros de mejoramiento genético de esta planta.

Por otra parte, se encontró alta y negativa correlación entre la DIVMS y los componentes monoméricos de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115 (tabla 2).

Tabla 2. Coeficientes de correlación entre la DIVMS y los componentes monoméricos de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115

| Indicadores           | Coeficientes de correlación |
|-----------------------|-----------------------------|
| Lignina               | -0.94***                    |
| P-hidroxibenzaldehido | -0.89***                    |
| Vainillina            | -0.88***                    |
| Siringilaldehido      | -0.89***                    |
| V/S                   | -0.96***                    |

\*\*\* P < 0.001

Esto pudiera indicar la necesidad de emplear plantas en la nutrición animal con los menores valores posibles de monómeros de la lignina, debido a su efecto de disminución de la digestibilidad del pasto, lo que quedó demostrado al establecer la regresión múltiple, de acuerdo con el método descendente, entre la DIVMS y los monómeros fenólicos de la lignina, la cual se expresa en la siguiente ecuación:

$DIVMS = 72.83 - 1.61 (\pm 0.89) \text{ p-hidroxibenzaldehido} - 0.97 (\pm 0.24) \text{ lignina}$

( $R^2 = 0.90^{***}$ , error de la estimación =  $\pm 0.88$ )

En la figura 1 se observa el análisis de los residuos, los cuales tuvieron una distribución homogénea y reafirmaron la adecuada calidad y buen ajuste de la ecuación anterior.

Este comportamiento pudiera estar relacionado con el drástico incremento de las concentraciones de vainillina y siringilaldehido del CUBA CT - 115, a los 140 d de edad. Esto pudiera provocar que la lignina a esta edad sea mucho más compleja y de difícil acceso para los microorganismos ruminales, y que influya negativamente en la degradación microbiana ruminal de los carbohidratos estructurales de la planta.

El aumento de la relación V/S con la edad de rebrote pudiera provocar menor DIVMS. En este sentido,

Marques *et al.* (2007) encontraron correlación negativa entre la razón vainillina/siringilaldehido y la DIVMS.

Poerschmann *et al.* (2005), y más recientemente Christiernin (2008), demostraron que los polímeros de lignina con mayor cantidad de unidades siringílicas del *Zea mays*, son colonizados más fácilmente por los microorganismos del rumen que los que contienen mayor cantidad de unidades guaiacílicas, debido a que la estructura de la vainillina es muy compacta, lo que la hace inaccesible a los microorganismos del rumen (Balakshim *et al.* 2004). Además, los enlaces fuertes del ácido ferúlico (4- hidroxí-3 metoxi- trans -cinámico) con los arabinosilanos y xiloglucanos provocan menor accesibilidad de las enzimas microbianas a los carbohidratos estructurales de la pared celular (Yang 2002) y por tanto, conducen a menor digestibilidad del material forrajero. Este aspecto debe tenerse en cuenta para el manejo correcto del CUBA CT- 115.

Es importante señalar que durante el período experimental no se utilizó riego ni fertilización, lo que determinó que la planta creció y se desarrolló en ciertas condiciones de estrés. Por tanto, es probable que no se cubrieran los requerimientos nutricionales que propician expresar su potencial productivo, y que esto influyera en

Análisis de residuos

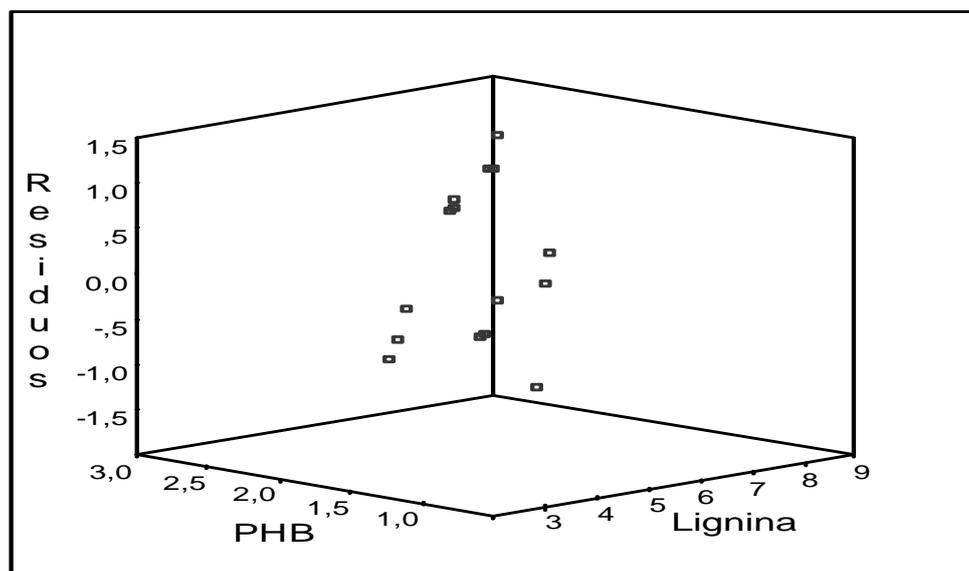


Figura 1. Análisis de los residuos de la regresión entre la DIVMS y las unidades monoméricas de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA - 115

su composición química, pues Herrera y Ramos (2006) encontraron los mayores contenidos de la pared celular, lignina, celulosas y hemicelulosas cuando el King grass no se fertilizó ni se regó.

El conocimiento de la composición monomérica del *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT- 115 y su variación con la edad de rebrote permitirá establecer las bases para programas de mejoramiento genético o de manipulación biotecnológica, destinados a incrementar la utilización de la energía contenida en sus paredes celulares y a aprovechar al máximo el potencial de esta variedad como fuente de biomasa. Se sugiere realizar estudios similares con la utilización del riego y la fertilización.

### Referencias

- Balakshim, M.Y., Capanema, E.A., Chen, C.L. & Graez, S. 2004. Elucidation of the structures of residual and dissolved pine kraft lignins using an HMQC- NMR technique. *J. Agric. Food Chem.* 51:6116
- Barriere, Y., Thomasa, J. & Denouea, D. 2008. QTL mapping for lignin content, lignin monomeric composition, p-hydroxycinnamate content, and cell wall digestibility in the maize recombinant inbred line progeny F838 × F286. *Plant Sci.* 175: 585
- Chapple, C. 2007. Method for regulation of plant lignin composition. United States Patent 5981837. Disponible: <http://www.freepatentsonline.com/5981837.html> Consultado: 2 de abril 2007
- Christiernin, M. 2008. Composition of lignin in outer cell-wall layers. Disponible: <http://urn.kb.se/urn:nbn:se:kth:diva-4036.html>. Consultado: 22 de enero de 2009
- Deschamps, F.C. & Ramos, L.F. 2002. Métodos de determinación de ácidos fenólicos en la pared celular de los forrajes. *Rev. Bras. Zootec.* 31:211
- Drumond, M.G., Pilo- Veloso, D. & Costa, S.D.S. 1992. Bitohenyl type lignin model compounds: synthesis and <sup>13</sup>C NMR substituent chemical shift additivity. *Holsforschung* 22: 127
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1
- Fukushima, R.S. & Hatfield, R.D. 2003. Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzeno. *Pesq. Agropec. Bras.* 38:373
- González, R. 2006. Valor Nutritivo. En: *Pennisetum purpureum* para la ganadería tropical. Herrera, R.S., Febles, G.J., Crespo, G.J. Eds. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p. 179
- Grabber, J.H. 2005. How Do Lignin Composition, Structure, and Cross-Linking Affect Degradability? A Review of Cell Wall Model Studies. *Crop Sci.* 45:820
- Herrera, R.S. 2008. Métodos de muestreo en pastos. En: *Pastos tropicales, principios generales, agrotecnia y producción de semillas*. Instituto de Ciencia Animal- FIRA. México. p. 213
- Herrera, R.S., Martínez, R.O., Cruz, R., Tuero, R., García, M., Guisado, I. & Dorta, N. 1995. Producción de biomasa de hierba elefante (*Pennisetum purpureum*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para la ganadería tropical. II. Carbohidratos solubles y estructurales. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 29:245
- Herrera, R.S. & Ramos, N. 2006. Factores que influyen en la producción de biomasa y en la calidad. En: *Pennisetum purpureum* para la ganadería tropical. Herrera, R.S., Febles, G.J., Crespo, G.J. (Eds). EDICA. Cuba. p.79
- Marques, G., Gutiérrez, A. & Del Río, J.C. 2007. Chemical characterization of lignin and lipophilic fractions from leaf fibers of curaua (*Ananas erectifolius*). *J. Agric. Food Chem.* 55:1327
- Morrison, T.A., Jung, H.G. & Buxton, D.R. 1998. Cell wall composition of maize internode of varying maturity. *Crop Science.* 38:455
- Nogueira, J.R. 2004. Estudio químico *in situ*, *in vitro* y microscópico de las paredes celulares de cinco genotipos de sorgo en tres épocas de corte. Tesis en opción al grado de Dr. Cs. Universidad Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Brasil. 150 pp.
- Piló – Veloso, D., Nascimento, E.A. & Morais, S.A.L. 1993. Quantitativa chemical and C NMR analysis of *Eucalyptus grandis* lignin. Proceeding of the Third Symposium on the Chemistry of lignin and other wood components. Belo Horizonte. Quimica Nova. p. 150
- Poerschmann, J., Gathmann, A., Augustin, J., Langer, U. & Görecki, T. 2005. Molecular Composition of Leaves and Stems of Genetically Modified Bt and Near-Isogenic Non-Bt Maize- Characterization of Lignin Patterns. *J. Environ. Qual.* 34:1508
- Saliba, E.O.S. Mauricio, R.M., Souza, L.F., Moreira, G.R., Rodríguez, N.M., Bonfin, I.F., & De Araújo, V.L. 2005. Shadow influence of the tree ipê felpudo (*Zechariah tuberculosa* vell. bur.) on composition of p hydroxybenzaldehyde, vanillin, siringaldehyde in the lignin content of *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. I Congreso Internacional de Producción Animal. Convención Animal Tropical. Palacio de las Convenciones, La Habana. Cuba
- Saliba, E.O.S., Rodríguez, N.M., Goncalvez, L.C. & Fernández, P.C.C. 1999. Effect of corn and soybean submitted to the ruminal fermentation on structural carbohydrates digestibility. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51:85
- Takabe, K., Fukazawa, K. & Harada, H. 1999. Deposition of cell wall components in conifer tracheids. In: *Plant Cell Wall Polymers*. American Chemical Society USA. p.47
- Visauta, B. 1988. SPSS para Windows. Estadística multivariada. Vol. II. Mc Graw-Hill/Interamerica de España. Sav p. 358.
- Yang, C.M. 2002. Response of forage fiber degradation by ruminal microorganism to branched chain volatile fatty acids, amino acids and dipeptides. *J. Dairy Sci.* 85: 1183

**Recibido: 3 de febrero de 2009**