



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Evaluación de la digestibilidad *in situ* de los nutrientes y variables ruminales del ensilado de caña de azúcar con diferente fuente de proteína.

Tesis

Para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias en Biosistemática,
Ecología y Manejo de Recursos Naturales y
Agrícolas**

Presenta

José Andrés Reyes Gutiérrez

Zapopan, Jalisco, México.

13 de Septiembre de 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por regalarme la vida y darme lo necesario para alcanzar este logro.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo financiero otorgado para la realización de mis estudios de Doctorado.

A la Universidad de Guadalajara, así como también a mis Maestros del posgrado quienes compartieron conmigo sus valiosos conocimientos.

Al posgrado de Biosistemática, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas (BEMARENA), por el apoyo en mi formación, en especial a la Dra. Laura Guzmán Dávalos, coordinadora de la Orientación Biosistemática y Productos Bióticos del BEMARENA.

Al Rancho “Dos pivotes”: MVZ Luis Fernando Ramos González y Sr. Pedro Ramos Mendoza, por su gran apoyo incondicional para la realización del trabajo experimental.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), campo experimental Tecoman, así como a la MC. Rosario Rodríguez Ramírez y a Claudia Ivette Gómez Escobar, por su gran apoyo en el análisis de muestras, sinceramente muchas gracias.

Al Dr. Oziel Dante Montañez Valdez, por apoyarme en la continuación de mis estudios de posgrado, por su orientación, amistad y sobre todo por su disponibilidad y paciencia para asesorarme, de verdad muchísimas gracias.

Al Dr. Ramón Rodríguez Macías, por su tiempo, paciencia, apoyo y asesoría brindada para la realización de este objetivo.

Al mí Comité Tutorial: Dr. Ramón Rodríguez Macías, Dr. Oziel Dante Montañez Valdez, Dr. Mario Alberto Ruíz López y Dr. Eduardo Salcedo Pérez, por sus sugerencias, observaciones y correcciones que hicieron posible esta investigación, gracias por su valiosa participación para mi formación y la realización de este documento.

A mi Jurado de Tesis: Dr. Ramón Rodríguez Macías, Dr. Oziel Dante Montañez Valdez, Dr. Mario Alberto Ruíz López, Dr. Eduardo Salcedo Pérez y Dr. Cándido Enrique Guerra Medina, muchas gracias por su participación.

A mis compañeros de posgrado, por haber compartido esta útil, fructífera y divertida experiencia.

A todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron en la realización de esta investigación, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis padres:

Filiberto Reyes Sosa y María Guadalupe Gutiérrez Rodríguez, por ser ejemplo de fortaleza y tenacidad. Por darme la vida, su amor y apoyo durante toda mi formación.

A mi esposa:

Elisa Chávez Vargas, por tu apoyo, paciencia y comprensión durante esta ardua pero bonita e interesante etapa de mi vida y sobre todo por cuidar y estar pendiente de nuestros hijos.

A mis hijos:

Isela, Lupita y Andrés, por ser la fuente de inspiración y superación en mi vida.

A mis hermanos:

Lucia, Martín, María del Refugio, José, Jesús, Ana, Gabriel y Mónica, por brindarme el apoyo espiritual y material e inculcarme el amor y responsabilidad al trabajo.

Existen cuatro tipos de personas en el mundo:

- 1. Las que hacen que las cosas ocurran*
- 2. Las que ven las cosas ocurrir*
- 3. Las que se preguntan que paso*
- 4. Las que ni siquiera saben que algo paso*

La persona que triunfa por su personalidad, objetivos y destrezas, tiene:

- 1. Entusiasmo*
- 2. Disciplina*
- 3. Disposición*
- 4. Determinación y*
- 5. Aprecio por los demás.*

(Anónimo)

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1. Situación agroalimentaria y panorama pecuario en México.....	2
2.2. Características digestivas generales de los rumiantes.....	3
2.2.1. Ambiente ruminal.....	4
2.2.2. Flora ruminal.....	4
2.2.3. Simbiosis ruminal.....	7
2.3. La fibra y su degradación ruminal.....	8
2.3.1. Producción de ácidos grasos volátiles (AGV).....	11
2.3.2. Nitrógeno amoniacal.....	12
2.4. Evaluación de los alimentos.....	12
2.4.1. Digestibilidad <i>in vivo</i>	14
2.4.2. Digestibilidad <i>in situ (in sacco)</i>	16
2.4.3. Digestibilidad <i>in vitro</i>	16
2.4.4. Técnica de producción de gases.....	18
2.5. Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>).....	19
2.5.1. La caña de azúcar en la alimentación de rumiantes.....	21
2.6. Conservación de forrajes.....	26
2.6.1. Inoculantes y aditivos.....	29
III. HIPÓTESIS	32
IV. OBJETIVO GENERAL	32
4.1. Objetivos específicos.....	32

V. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1. Localización del experimento.....	33
5.2. Colección y preparación de los alimentos.....	33
5.3. Análisis químico proximal.....	34
5.4. EXPERIMENTO 1	34
Digestibilidad <i>in situ</i> de los nutrientes de la caña de azúcar ensilada adicionada con inóculo y aditivo.	
5.5. EXPERIMENTO 2	36
Evaluación de la digestibilidad de los nutrientes del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo, con diferente fuente de proteína.	
5.6. Análisis estadístico.....	37
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
6.1. Resultados y discusión del experimento 1.....	38
6.1.1. Composición química de los tratamientos.....	38
6.1.1.1. Materia seca.....	38
6.1.1.2. Fracciones de fibra (FDN y FDA).....	39
6.1.1.3. Proteína cruda.....	40
6.1.1.4. pH.....	41
6.1.1.5. Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃).....	41
6.1.1.6. Cenizas.....	42
6.1.2. Digestibilidad <i>in situ</i> y variables ruminales.....	42
6.1.2.1. Materia seca.....	42
6.1.2.2. Materia Orgánica.....	44
6.1.2.3. Fibra detergente neutra.....	45
6.1.2.4. Fibra detergente ácida.....	45
6.1.2.5. pH ruminal.....	46
6.1.2.6. Ácidos grasos volátiles.....	48
6.1.2.7. Nitrógeno amoniacal.....	51
6.2. Resultados y discusión del experimento 2.....	52

6.2.1. Composición química de los tratamientos.....	52
6.2.2. Digestibilidad <i>in situ</i> y variables ruminales.....	53
6.2.2.1. Materia seca.....	53
6.2.2.2. Materia orgánica.....	55
6.2.2.3. Fibra detergente neutra.....	56
6.2.2.4. Fibra detergente ácida.....	56
6.2.2.5. pH ruminal.....	57
6.2.2.6. Ácidos grasos volátiles.....	59
6.2.2.7. Nitrógeno amoniacal.....	62
VII. CONCLUSIONES.....	65
VIII. LITERATURA CITADA.....	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Agrupación de especies bacterianas en el rumen de acuerdo al principal sustrato fermentado.	6
2	Composición de las dietas experimentales.	37
3	Composición química proximal de los materiales en estudio.	39
4	Digestibilidad <i>in situ</i> de materia seca de la caña de azúcar fresca, ensilado de la caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.	42
5	Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia orgánica de la caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.	44
6	Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutra de la caña de azúcar fresca, ensilado de la caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.	45
7	Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácida de la caña de azúcar fresca, ensilado de la caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.	46
8	Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% sobre el pH ruminal a través del tiempo.	47
9	Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración individual de ácidos grasos volátiles en rumen.	49
10	Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración de ácidos grasos volátiles totales en rumen.	50
11	Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal a través del tiempo.	52
12	Análisis químico proximal de raciones integrales con base en ensilado de caña de azúcar 1% con diferente fuente de proteína.	53
13	Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.	53

Cuadro		Pagina
14	Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia orgánica del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.	55
15	Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutra del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.	56
16	Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácida del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.	57
17	Efecto del ECA 1% con diferente fuente de proteína en el pH ruminal a través del tiempo.	58
18	Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico, en la concentración ruminal individual de ácidos grasos volátiles.	60
19	Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico, en la concentración ruminal total de ácidos grasos volátiles	61
20	Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico en la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal.	63

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la digestibilidad *in situ* de los nutrientes y variables ruminales del ensilado de caña de azúcar se realizaron dos evaluaciones. En el experimento 1, se evaluó el efecto de un inóculo artesanal y un aditivo en el ensilado sobre la digestibilidad *in situ* de la materia seca (DISMS), materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) pH ruminal, ácidos grasos volátiles (AGV) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃). Los tratamientos fueron: T1) caña de azúcar fresca (CAF), T2) ensilado de caña de azúcar (ECA), T3) ensilado de caña de azúcar con el 1% de inóculo y aditivo (ECA1%) y ensilado de caña de azúcar con el 3% de inóculo y aditivo (ECA3%). Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P \leq 0.05$) para la digestibilidad *in situ* de la MS, MO, FDN y FDA; Así como en la concentración de AGV y N-NH₃. No se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$) en pH ruminal, pero si hubo diferencias ($P \leq 0.05$) entre el mismo tratamiento a través del tiempo. En el experimento 2 se estudio el efecto de diferente fuente de proteína en el ECA1% sobre la DIMS, MO, FDN, FDA y variables ruminales (pH, AGV y N-NH₃). Los tratamientos fueron: T1) ECA1% + pasta de soya, T2) ECA1% + harina de pescado, T3) ECA1% + pasta de canola y T4) ECA1% + pasta de coco. Se observó un comportamiento similar al experimento 1, mostrando diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0.05$) para la digestibilidad *in situ* de la MS, MO, FDN y FDA; así mismo, en la concentración de AGV y N-NH₃. No mostro diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$) en pH ruminal, pero si entre el mismo tratamiento a través del tiempo. El uso de un inóculo artesanal y aditivo al 1%, en el proceso del ensilaje de la caña de azúcar y la combinación de fuentes proteicas en dietas integrales para ganado lechero y/o carne, mejora su composición química y la digestibilidad *in situ* de la MS, MO, FDN y FDA.

ABSTRACT

In order to evaluate *in situ* digestibility of nutrients and ruminal variables of sugarcane silage were two assessments. In experiment 1, we evaluated the effect of a craft and an additive inoculum in silage on digestibility *in situ* dry matter (DISMS), organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) ruminal pH, volatile fatty acids (VFA) and ammonia nitrogen (NH₃-N). The treatments were: T1) fresh sugar cane (CAF), T2) of sugarcane silage (ECA), T3) of sugarcane silage with 1% inoculum and additive (ECA1%) and sugar cane silage with 3% inoculum and additive (ECA3%). Statistically significant differences were found between treatments ($P \leq 0.05$) for *in situ* digestibility of DM, OM, NDF and ADF, as well as on the concentration of VFA and NH₃-N. No significant difference between treatments ($P > 0.05$) in ruminal pH, but if there were differences ($P \leq 0.05$) between the same treatment over time. In Experiment 2 the effect of different protein source in ECA1% on DIMS, OM, NDF, ADF and ruminal variables (pH, VFA and NH₃-N). The treatments were: T1) + ECA1% soybean meal, T2) + ECA1% fishmeal, T3) + ECA1% canola meal and T4) ECA1% + coconut paste. Similar behavior was observed to Experiment 1, showing significant differences between treatments ($P \leq 0.05$) for *in situ* digestibility of DM, OM, NDF and ADF, likewise, in the VFA and NH₃-N. Showed no significant difference between treatments ($P > 0.05$) in ruminal pH, but between the same treatment over time. Using a traditional inoculum and additive 1% in the silage process sugar cane and the combination of protein sources in complete diets for dairy and / or meat, improves its chemical composition and digestibility *in situ* DM, OM, NDF and ADF.

I. INTRODUCCIÓN

El uso de especies forrajeras en la producción de alimentos y otros productos de origen animal obligan al uso eficiente de los terrenos agropecuarios en el mundo, en particular de regiones tropicales y subtropicales; por lo tanto, se hace imprescindible la generación de conocimiento científico de mayor detalle para aspectos biológicos y relacionados con el adecuado manejo de las especies forrajeras del trópico, minimizando el uso de granos y cereales para la alimentación humana (Elías, 1983).

La utilización de diversas estrategias de alimentación para los rumiantes en el trópico y subtrópico ha derivado en el uso de pastos, rastrojos, pajas y otros recursos como la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), sin embargo, la principal característica de estos forrajes es su pobre valor nutritivo resultado de un alto contenido de fibra, bajo en digestibilidad y sobre todo en proteína, afectando directamente consumo y una baja eficiencia productiva (Leng, 1991).

La mayor parte de los sistemas de producción de bovinos en el país, enfrentan problemas de abasto de forrajes; sin embargo, para subsanar esta escasez en las regiones tropicales y subtropicales (Molina, 1990), destaca la caña de azúcar como una importante alternativa considerado como un cultivo herbáceo de mayor rendimiento en biomasa por unidad de superficie y de tiempo, ya que supera a otros cultivos como el maíz y el trigo (Delgado, 2002). En este sentido, el ensilado de caña de azúcar puede ser una opción sumamente viable desde el punto de vista productivo y socioeconómico, debido a su amplia distribución y presencia en las zonas tropicales y subtropicales (Molina *et al.*, 1997); pero de acuerdo a Martín y Brito (1997) es necesario una suplementación apropiada para mejorar su utilización.

Actualmente a pesar del avance en el conocimiento de forrajes existe escasa información relacionada con la respuesta animal utilizando dietas con base en ensilado de caña de azúcar, sobre todo en ganado bovino destinado a la producción de leche (Martín y Brito, 1997); mucho menos información sobre parámetros de digestibilidad y variables ruminales del ensilado de caña de azúcar. Por lo tanto, en este trabajo se planteo evaluar la digestibilidad *in situ* de los nutrientes del ensilado de caña de azúcar adicionada con diferente fuente de proteína y variables ruminales.

II. ANTECEDENTES

2.1. Situación agroalimentaria y panorama pecuario en México.

Un problema presente en el mundo, es el incremento de la población, donde se prevén aumentos desde los 5, 800 millones de habitantes hasta 8, 300 millones en el año 2025, frente a una disminución del área de la tierra cultivable cada, lo que limita la disponibilidad de alimentos, no solo para la raza humana, sino también para los animales (FAO, 1996). Durante la Conferencia Internacional sobre Nutrición, realizada en Roma por la FAO y la OMS (FAO, 1995), se informó que a pesar de los avances conseguidos en los últimos decenios, más de 780 millones de personas no tienen alimentos suficientes para satisfacer sus necesidades diarias de energía y proteínas, sobre todo en África, el sur de Asia y América Latina.

En México, el sector pecuario en su conjunto, demanda aproximadamente 20 millones de toneladas de granos forrajeros para su producción (Galarza, 2008); de éstos, 10 millones corresponden a maíz amarillo y 9 millones a sorgo, productos que en su mayoría son importados en poco más del 60%, y solo para la producción de carne y leche se requiere cerca de 5.6 millones de toneladas (Avilés, 2007; Galarza, 2008), por lo que los incrementos en el precio de los granos repercute fuertemente en la industria cárnica y lechera, siendo los sistemas de producción intensivo y semintensivo los más afectados. En el 2006, el precio internacional del maíz era de 87.6 USD t⁻¹ y para enero del 2008 el precio por tonelada llegó a 194.32 USD t⁻¹, siendo un incremento cercano al 122% (FAO, 2007); en el caso del sorgo, para este mismo periodo, el incremento fue del 83% (de USD 94.2 a 172.8 USD t⁻¹; Fernández, 2008); organismos internacionales, como el Banco Mundial, estiman que los precios de los granos se mantendrán a la alza de manera constante hasta el 2015. En este sentido, para el mes de abril del 2012, el precio del maíz blanco fue de UDS 254.71 t⁻¹ y para el maíz amarillo de 253.14 a 260.22 t⁻¹ USD (ASERCA, 2012).

La investigación agropecuaria ha desempeñado una función fundamental en la seguridad alimentaria y en el desarrollo agrícola al elevar la producción de la agricultura para alimentar a una población en rápido crecimiento, los principales proyectos de la ganadería y la piscicultura han sido la contribución básica para el aumento del 80% de la producción mundial de alimentos desde mediado del decenio de 1960 (FAO, 1998).

El gran reto actual de la ganadería bovina, es incrementar las fuentes alimenticias proteicas de origen animal, para satisfacer la continua demanda de la población mundial (Espinoza *et al.*, 1999); teniendo en cuenta la utilización eficaz que hace el hombre de la misma, con respecto a la proteína vegetal.

2.2. Características digestivas generales en rumiantes

Para realizar los procesos digestivos, los animales disponen de un sistema especializado (sistema digestivo), el cual presenta un esquema estructural muy similar en todos los animales (boca, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y glándulas anexas como el páncreas y el hígado. Sin embargo, a pesar de esta similitud estructural, existen diferencias en el desarrollo de los procesos digestivos en las distintas especies animales. Estas diferencias surgen como una consecuencia directa de la adaptación filogenética del canal digestivo para la degradación de los principales elementos nutritivos que componen su dieta natural (Dearriba, 1988).

En el rumen se realiza una digestión pregástrica a través de la actividad microbiana, dando como resultado la formación de nutrientes necesarios para las funciones básicas del animal (Boenker, 1989). Aproximadamente hasta 80% del alimento consumido sufre una degradación química en el rumen a través de las enzimas secretadas por los microorganismos ruminales (Bondi, 1989), obteniendo como productos finales AGV, bióxido de carbono (CO₂), metano, amoníaco y proteína celular (Hungate, 1966; Huntington, 1988; Orskov, 1986; Bondi, 1989; Wallace, 1993; Schettini *et al.*, 1999).

Anatómicamente el tubo digestivo de los rumiantes puede ser dividido en tres compartimentos, cada uno con características propias y particulares: retículo-rumen, intestino delgado e intestino grueso. En el rumen y en el intestino grueso la digestión ocurre por acción microbiana, en tanto que, en el intestino delgado diferentes complejos enzimáticos degradan los componentes del alimento. De igual manera en el contenido ruminal pueden ser distinguidos dos subcompartimentos con diferentes características de degradación y pasaje: una fase líquida y una fase sólida en la que se evidencia la presencia de partículas con rápidas tasas de pasaje y degradación (alimentos concentrados) y partículas que presentan prolongados tiempos de retención y lenta degradación (forrajes) Rosero y Posada (2007).

2.2.1. Ambiente ruminal

Las características fisicoquímicas del medio ruminal necesarias para el desarrollo microbiano, son un pH entre 6.2 a 7.0, el cual es regulado por la saliva y la degradación de productos de la fermentación (AGV y aminoácidos) o por absorción ruminal. El ambiente ruminal presenta una temperatura controlada por mecanismos termorreguladores propios del animal, que va de 38 a 41 °C. En el líquido ruminal existe una concentración de AGV de aproximadamente 100-150 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, encontrándose principalmente acetato (60%), propionato (20%), butirato (15%) y 5% de otros ácidos incluyendo isobutirato, isovalerato y valerato; amoníaco ($< 92 \mu\text{mol mL}^{-1}$) y ácido láctico ($< 7 \mu\text{mol mL}^{-1}$) (Yokoyama y Johnson, 1988; Bondi, 1989; Wallace, 1993).

Uno de los factores que limita la digestión de los forrajes, son las alteraciones a la baja del pH ruminal, afectando el rendimiento digestivo de los microorganismos celulolíticos encargados de la digestión de la fibra (Elías, 1983). Los microorganismos ruminales son muy sensibles a cambios en el pH y la mayoría prefieren un rango de pH entre 6.5 a 6.8. Las bacterias celulolíticas, en particular, son más sensibles a bajos pH que las bacterias amilolíticas (Grant y Mertens 1992a). Hoover *et al* (1984) demostró que un pH alto (7.5) o bajo (5.5) disminuye la digestión de la fibra. La acidosis ruminal causa un importante impacto en la economía pecuaria, debido a las lesiones que produce en los animales y la consecuente disminución de la producción de carne y leche (Owens *et al.*, 1998; Candanosa *et al.*, 2001).

El elemento central del control del equilibrio ruminal es el pH, ya que de éste depende, directa o indirectamente, la supervivencia de las bacterias fibrolíticas, el equilibrio de la microflora ruminal y, en consecuencia, la concentración relativa de los principales ácidos grasos volátiles (Dirksen, 1969). El pH ruminal es la consecuencia del equilibrio entre la producción de ácido y la capacidad tampón del medio ruminal.

2.2.2. Flora ruminal

Los procesos fermentativos permiten el aprovechamiento de carbohidratos de pared celular vegetal y son realizados por los microorganismos presentes en el rumen en condiciones de anaerobiosis. Para que se produzcan los procesos fermentativos se necesita que se cumplan los siguientes requisitos: Presencia en número suficiente de

microorganismos, aporte adecuado de sustrato (alimento), temperatura próxima a 37 °C, osmolalidad próxima a 300 mOsm L⁻¹, potencial redox negativo: -250 a -450 mV (ambiente anaeróbico) y eliminación de los AGV (Relling y Mattioli, 2003); Islher *et al.*, 2008).

La población microbiana en el rumen consiste de bacterias, protozoos y hongos. La mayor parte de la concentración está en forma de bacterias, las cuales pueden contar 10¹⁰ a 10¹¹ células mL⁻¹ de contenido ruminal. Las bacterias pueden ser agrupadas de acuerdo a sus tres principales formas (cocos, bacilos y espiral), de acuerdo a su tamaño (generalmente de 0,3 a 50 µm), y de acuerdo a sus diferentes estructuras. También pueden ser agrupadas de acuerdo al tipo de sustrato fermentado y son clasificadas en ocho grupos diferentes de bacterias del rumen (Cuadro 1). Estas especies de bacterias degradan o utilizan productos tales como celulosa, hemicelulosa, almidón, azúcares, ácidos intermedios, proteína, lípidos y producen metano. Una clasificación más amplia podría incluir bacterias que usan pectina y productoras de amoníaco. La mayoría de estas bacterias son capaces de fermentar más de un sustrato (Islher *et al.*, 2008).

Los protozoos en el rumen son cerca de unas 10⁵ a 10⁶ células mL⁻¹ de contenido ruminal, que equivale a un peso similar al de las bacterias y están influenciados por las prácticas de alimentación. Son los organismos más notables en el rumen, forman gran proporción de la biomasa, entre 20 a 40%, pero su contribución es menor por la gran retención y la menor actividad metabólica. Cantidades mayores de protozoos se encuentran en el rumen cuando se dan dietas de alta digestibilidad. Diferentes tipos de dietas parecen estimular diferentes géneros de protozoos. El número de algunos protozoos es superior cuando las dietas contienen grandes cantidades de azúcares solubles y otros tipos predominan con dietas altas en almidón. Los protozoos ingieren bacterias activamente como una fuente de proteína. Asimismo, parece ser que actúan como un factor de estabilización para la fermentación de los productos finales. Los protozoos, como las bacterias y los hongos, contribuyen a la digestión de fibra (Yokoyama y Jonhson, 1988; Chaudhary *et al.*, 1995; Islher *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Agrupación de especies bacterianas en el rumen de acuerdo al principal sustrato fermentado.

<p>Especies celulolíticas <i>Bacteroides succinogenes</i> <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i></p> <p>Especies pectinolíticas <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Lachnospira multiparus</i> <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Treponema bryantii</i> <i>Streptococcus bovis</i></p> <p>Especies urolíticas <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Selenomonas sp</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Butyrivibrio sp.</i> <i>Treponema sp.</i></p> <p>Especies utilizadoras de azúcares <i>Treponema bryantii</i> <i>Lactobacillus vitulinus</i> <i>Lactobacillus ruminus</i></p> <p>Especies proteolíticas <i>Bacteroides amylophilus</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Ruminococcus sp.</i></p>	<p>Especies utilizadoras de lípidos <i>Anaerovibrio lipolítica</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Treponema bryantii</i> <i>Eubacterium sp.</i> <i>Fisocillus sp.</i> <i>Micrococcus sp.</i></p> <p>Especies hemicelulolíticas <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Ruminococcus sp.</i></p> <p>Especies amilolíticas <i>Bacteroides amylophilus</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Succinomonas amylolytica</i> <i>Bacteroides ruminicola</i></p> <p>Especies productoras de metano <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> <i>Methanobacterium formicum</i> <i>Methanomicrobium mobile</i></p> <p>Especies utilizadoras de ácidos <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Selenomonas ruminantium</i></p> <p>Especies productoras de urea <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Selenomonas ruminantium</i></p>
--	---

Church (1988)

Los hongos constituyen hasta el 8% de la biomasa ruminal, se ubican en la ingesta de lento movimiento evitando su rápido lavado y contribuyen a la digestión de forrajes de baja calidad, son relativamente poco importantes e intervienen favoreciendo la digestión de la pared celular vegetal. En el rumen se producen procesos de simbiosis, de manera que los productos de desecho de unos grupos es el sustrato de otro grupo de microorganismos como el de organismos celulolíticos no proteolíticos que viven en simbiosis con los no celulíticos proteolíticos (Islher *et al.*, 2008).

Existen tres entornos en el que los microbios se encuentran en el rumen. La primera es la fase líquida, en donde grupos microbianos libres en el fluido ruminal se alimentan de carbohidratos solubles y proteínas. Esta porción constituye el 25% de la masa microbiana. Enseguida viene la fase sólida donde los grupos microbianos asociados o sujetos a partículas de alimento digieren polisacáridos insolubles, tales como almidón y fibra, así como las proteínas menos solubles. Esto puede constituir hasta 70% de la masa microbiana. En la última fase, 5% de los microbios se sujetan a las células del epitelio del rumen o a los protozoos. El acoplamiento microbiano en el rumen tiene numerosas repercusiones en el rumiante. A fin de que las bacterias mantengan su número en el rumen, es necesario que su tiempo de reproducción sea inferior a la tasa de actividad del contenido ruminal. Dado que la tasa de pasaje de la fase fibrosa es mucho más lenta que la de la fase líquida en el rumen, especies de lento crecimiento se sujetan a la materia fibrosa y así evitan ser lavadas fuera del rumen (Yokoyama y Johnson, 1988; Chaudhary *et al.*, 1995; Wallace, 1995; Isler *et al.*, 2008).

2.2.3. Simbiosis ruminal

El medio ruminal es un ecosistema con características bien definidas y poco variables. Los microorganismos ruminales cumplen dos funciones principales (Church, 1989):

- a) La digestión de los alimentos ingeridos por los rumiantes.
- b) El aporte de nutrientes en forma de productos de fermentación (ácidos grasos volátiles) y cuerpos microbianos (ricos en proteína).

La estrategia alimentaria de los rumiantes se basa en la simbiosis establecida entre los microorganismos ruminales y el animal. Mientras el rumiante aporta alimentos y las condiciones medioambientales adecuadas (temperatura, anaerobiosis y ambiente reductor), las bacterias utilizan parcialmente los alimentos haciendo útiles los forrajes (de otra forma indigestibles para los mamíferos) y aportando productos de la fermentación con valor nutritivo para el rumiante (los ácidos grasos volátiles) y sus propios cuerpos microbianos. La característica más peculiar de las bacterias fibrolíticas es su capacidad de digerir la fibra, produciendo acetato como producto principal de fermentación. El acetato es fundamental para la síntesis de grasa de la leche. Sin embargo, es esencial que el pH ruminal se

mantenga por encima de 6.0 para garantizar las condiciones idóneas para su funcionamiento (Calsamiglia, 1997).

A medida que se conocen los efectos de las condiciones del medio ruminal sobre la actividad y desarrollo de las diversas poblaciones microbianas será más fácil predecir el aporte de nutrientes derivados de una ración. El nuevo sistema de valoración de raciones desarrollado en la Universidad de Cornell (Russel *et al.*, 1992; Sniffen *et al.*, 1992) incluye en sus cálculos muchos de estos factores, como los grupos bacterianos (fibrolíticos y amilolíticos), los productos de fermentación, el impacto del pH ruminal, las velocidades de fermentación de los hidratos de carbono y proteínas.

Las raciones deben formularse con el objetivo de obtener el máximo rendimiento, respetando los principios básicos de la simbiosis ruminal. En consecuencia, los niveles de hidratos de carbono en la ración deben aportar el máximo de energía al animal manteniendo el equilibrio ruminal entre la flora fibrolítica y la amilolítica. El aporte máximo de energía requiere la optimización de la ingestión de materia seca (que depende fundamentalmente de los niveles de FND). El equilibrio ruminal requiere una fermentación de velocidad moderada (que depende de la cantidad, el tipo y el procesado de azúcares, almidones y fibras solubles) y el aporte de niveles mínimos de fibra que garanticen el llenado ruminal, que estimulen la rumia, y que permitan la suficiente secreción salivar para garantizar un pH ruminal superior a 6.0 (que depende de la cantidad, el tipo y la forma de la FND de la ración).

2.3. La fibra y su degradación ruminal

La fibra es un compuesto heterogéneo formado por varios componentes químicos de composición conocida, pero cuya estructura tridimensional es variable y poco conocida. Desde el punto de vista químico, la fibra se compone de un entramado de celulosa, hemicelulosa y lignina. A efectos prácticos, se ha definido en términos de fibra bruta (FB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD), y se utiliza para la predicción de la calidad de los forrajes, la ingestión de la materia seca, la digestibilidad y el valor energético de los alimentos. Desde el punto de vista de la nutrición de los rumiantes, la fibra puede definirse como el conjunto de componentes de los vegetales que tienen baja digestibilidad y promueven la rumia y el equilibrio ruminal (Bach y Calsamiglia, 2006).

Los rumiantes presentan particularidades distintivas en relación con el resto de los mamíferos, porque el rumen y el retículo, dos de los compartimientos preestomacales, se encuentran habitados por una de las más variadas, densas y activas poblaciones microbianas conocidas en la naturaleza (protozoos, bacterias y hongos), que desempeñan una función significativa en la degradación del alimento que consumen los animales (Estrada *et al.* 1993). Estos compartimientos no producen enzimas capaces de desdoblar las uniones β 1,4 y 1,6 glucosídicas presentes en la celulosa y otros componentes que constituyen los carbohidratos estructurales de las paredes celulares de los vegetales, sin embargo contienen el mayor complejo enzimático que se conoce, es el sitio principal de degradación de la celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en los materiales fibrosos (Dijkstra y Tamminga 1995). La conversión de la celulosa a glucosa requiere de la acción cooperativa secuencial llevada a cabo por una familia de enzimas celulolíticas constituida, al menos por tres complejos enzimáticos básicos: endoglucanasas, exoglucanasas (celobiohidrolasas) y glucosidasas (Leatherwood, 1965; Li y Forsberg, 1987; Xue *et al.*, 1992; Awafo *et al.*, 1996; Valiño, 1999; Galindo *et al.*, 2004a).

La fibra se fermenta en el rumen lentamente por la acción de las bacterias fibrolíticas. El proceso de degradación de la fibra se inicia con la adhesión de las bacterias a la pared vegetal, proceso que se realiza a una velocidad inversamente proporcional al grado de lignificación de dicha pared. Una vez adheridas, la degradación de los componentes de la pared celular progresa por la acción de las celulasas y hemicelulasas, y varía en función de la composición, el entramado tridimensional de los componentes y el grado de lignificación (Calsamiglia, 1997).

Los carbohidratos son tan importantes en los animales rumiantes como en los no rumiantes, puesto que proporcionan la glucosa necesaria para la función adecuada de las células. Sin embargo, en el rumiante, la fermentación ruminal transforma la mayoría de los polisacáridos de la pared de la célula y de todos los carbohidratos intracelulares presentes en el forraje en ácidos grasos volátiles de cadena corta, que luego son absorbidos por el epitelio del rumen (Bird, *et al.*, 1996). Los tejidos finos de la planta contienen cerca del 75% de los carbohidratos, proporcionando las fuentes primarias de la energía para los organismos ruminales y el animal hospedero (Ortega y Mendoza, 2003). Los carbohidratos encontrados en los tejidos finos de las plantas son sobre todo los polisacáridos, celulosa (la

más abundante), hemicelulosa, pectinas, fructosas, almidones y otros compuestos de menor importancia (Theander, 1981). Sin embargo, los granos se utilizan extensamente en dietas usadas en sistemas de producción intensivos con animales altamente productivos (Theurer, 1986), proporcionando una cantidad apreciable de almidón para la digestión ruminal e intestinal (Amstrong y Smithard, 1979).

La accesibilidad del material celulósico a los agentes biodegradables, está directamente relacionada con su estructura física. La degradabilidad del material vegetal, está dada por la acción enzimática de los microorganismos, la cual a su vez está sujeta a varios factores como: tamaño, forma y área de superficie de los capilares de la pared celular, además de la capacidad de adhesión de los microbios (Wilson, 1994; Aguilera, 1988). Microorganismos tales como bacterias, hongos y protozoarios colonizan prácticamente todo el material vegetal que entra al rumen. La mayor ruta de invasión es a través de las lesiones de la epidermis vegetal. Por su parte, las bacterias celulolíticas (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*) se adhieren, cortan y dañan la superficie de la pared celular como primer paso del proceso de degradación, algunos hongos y protozoarios (*Neocallimastix frontalis*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplston bovis*) son atraídos a través de quimiorreceptores hasta el sitio de colonización, enquistándose e invadiendo el tejido vegetal (Russel y Wilson, 1996; Weimer, 1996; Matsui *et al.*, 1998).

En general, los forrajes son importantes desde el punto de vista del consumo, rumia, producción de saliva, fermentación y pasaje, garantizando un ambiente ruminal sano y funcional. El contenido de la pared celular de un forraje es nutricionalmente importante, porque su incremento generalmente es seguido de una reducida digestibilidad, lo que impacta sobre un pobre consumo. Dentro de los factores que limitan la digestibilidad de la pared celular, se encuentra la inaccesibilidad de ataque microbiano, debido a la formación de complejos fenólicos (*p*-cumarico y los alcoholes coniferil y sinapil) presentes en la lignina, los cuales tienen una acción tóxica sobre los microorganismos celulolíticos (Chensson y Forsberg, 1988).

2.3.1. Producción de ácidos grasos volátiles (AGV)

Cuando los hidratos de carbono, tanto estructurales (fibra detergente neutro) y no estructurales (azúcares y almidones), experimentan la fermentación microbiana, producen ácidos grasos volátiles (AGV). Los principales AGV en orden descendente de abundancia son acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, y rastros de varios otros ácidos. Los AGV pueden proporcionar hasta 80 por ciento de las necesidades energéticas del animal. Los AGV, acético, propiónico y butírico, son los productos finales de la fermentación de la materia orgánica (MO) del alimento que ocurre en el rumen y representan la mayor fuente de energía para los rumiantes, la cual se estima que representa entre 50 a 70% de la energía digestible total. La producción de AGV determina en gran medida la eficiencia en la utilización de los alimentos por los rumiantes, ya que está estrechamente relacionada con su digestibilidad. Sin embargo es necesario recordar que la producción y la proporción de AGV varían en función de la dieta, proporción de carbohidratos solubles y estructurales, relación forraje concentrado y el tipo de procesamiento físico al que ha sido sometido el alimento. Por lo tanto, altos contenidos de fibra en la ración afectan la relación de acético: propiónico (C2:C3), lo que en términos prácticos se traduce en una disminución en el desempeño productivo del animal (Angulo *et al.*, 2005; Islher *et al.*, 2008).

La cantidad de AGV producidos en el rumen depende de la cantidad de sustrato fermentado. Ésta a su vez, depende de la cantidad de alimento ingerido y de la velocidad de paso de la digesta. Sauviant *et al.* (2006) demostraron la asociación negativa entre la cantidad de materia seca ingerida y el pH ruminal, y estimaron una reducción de 0.14 ± 0.04 unidades de pH por cada kg de materia seca (MS) ingerida. A pesar de esta relación, el impacto de la ingestión de alimento sobre la disminución de pH es relativamente poco importante, ya que supone, en el caso de una vaca de 650 kg consumiendo 22 kg de MS, una reducción de 0,02 unidades de pH por cada incremento de 1 kg de MS ingerida. El impacto de la degradabilidad de los nutrientes es mayor. La degradabilidad de la materia orgánica en raciones típicas del ganado vacuno es muy variable, y oscila entre 29 y 67% (Allen, 1997).

2.3.2. Nitrógeno amoniacal

En el rumen, las proteínas son degradadas hasta péptidos, aminoácidos y amonio, que son las fuentes de nitrógeno utilizadas por los microorganismos para la síntesis de la proteína microbiana. Una parte de la proteína de la dieta es degradada por los microorganismos, y otra fracción pasa intacta por el rumen y sufre un proceso de digestión química en el tracto digestivo posterior antes de ser absorbida en el intestino delgado junto con los aminoácidos provenientes de la proteína microbiana (Angulo *et al.*, 2005). El amonio presente en el rumen es absorbido a través de las paredes ruminales llevado a sangre y transformado en urea en el hígado. La urea sintetizada en el hígado tiene diferentes destinos, una buena parte puede ser excretada en la orina, otra parte es reciclada y regresa al rumen por la saliva o es infundida a través de la pared ruminal (Preston y Leng, 1989).

La concentración ideal de amonio (NH_3) en el rumen varía de 5 a 25 mg/100 ml de líquido ruminal (Preston y Leng, 1989). Satter y Slyter (1974) sugieren que la eficiencia microbiana máxima ocurre cuando la concentración de NH_3 ruminal se encuentra entre 5 y 8 mg/100 mL de líquido ruminal. Según Coelho da Silva y Leão (1979), el nivel óptimo de amonio en el rumen dependerá de la cantidad de energía disponible. La disminución de NH_3 ruminal, se puede deber al aumento de la síntesis de proteína microbiana, lo que concuerda con el incremento de las poblaciones de bacterias totales, celulolíticas y hongos (Sosa *et al.*, 2010). Este resultado coincide con lo informado por William y Newbold (1990), quienes afirman que al incorporar cultivos fúngicos a la alimentación de rumiantes, se reducen los niveles de nitrógeno amoniacal, probablemente como consecuencia de la elevada utilización de amonio para la síntesis de proteína microbiana. Kamra y Agarwal (2004) también plantearon que la adición de *Aspergillus oryzae* incrementa la síntesis de proteína microbiana, y estimula así el crecimiento de bacterias específicas.

2.4. Evaluación de los alimentos

La mejor evaluación de calidad de los alimentos surge de la respuesta animal que es posible obtener con ellos. La respuesta productiva de los animales alimentados con forrajes está determinada por el nivel de consumo (50-75% de impacto), la digestibilidad (25-50%) y por la eficiencia de utilización (5-15%) (Mertens, 2000). Consecuentemente, el valor nutritivo de los alimentos resulta del efecto combinado de la digestibilidad, consumo y

eficiencia de utilización (Van Soest, 1982). El consumo y la digestibilidad, surgen como las características de mayor importancia, sin embargo éstos no son medidos en forma rutinaria a causa de los elevados costos y de la importante demanda de mano de obra y tiempo que requieren los experimentos *in vivo*.

El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y, por tanto para la formulación de raciones para los animales rumiantes. Sin embargo, la determinación *in vivo* de la digestibilidad es un proceso laborioso y costoso, que requiere el empleo de grandes cantidades de alimento, por lo que se han propuesto distintos métodos *in vitro* para su estimación. La producción de leche y el crecimiento de los rumiantes son limitados por la calidad del forraje, lo cual se refleja principalmente en bajo consumo voluntario y baja digestibilidad. Por lo tanto, métodos precisos y prácticos para la evaluación del valor nutricional de los forrajes son de reconocida importancia (Posada y Noguera, 2005).

Las características de fermentación de los alimentos en el rumen pueden ser estudiadas por métodos *in vivo*, *in situ* e *in vitro*. Debido a que en los estudios *in vivo* los alimentos sólo pueden ser evaluados en raciones totales y al hecho de que tales estudios requieren considerables recursos y son difíciles de estandarizar, en los últimos años varias técnicas *in situ* e *in vitro* han sido desarrolladas (Posada y Noguera, 2005). Dentro de las técnicas *in vitro*, la de uso más frecuente es la descrita por Tilley y Terry (1963), la cual fue modificada por Goering y Van Soest (1970) para estimar la digestibilidad verdadera de la MS. Otra técnica *in vitro* consiste en la utilización de enzimas en lugar de microorganismos, cuya principal ventaja es que no requiere animales como donadores de inóculo. Las dos anteriores técnicas son usadas como procedimientos para estimar la digestibilidad final del sustrato y no proveen información sobre la cinética de digestión. La técnica de la bolsa de nylon (Posada y Noguera, 2005) supera esta limitante al proporcionar estimativas de la tasa y la dinámica de la degradación de los constituyentes del alimento; sin embargo, es una aproximación laboriosa, costosa e invasiva, en la que solamente un pequeño número de muestras pueden ser evaluadas al tiempo.

2.4.1. Digestibilidad *in vivo*

Este método denominado también, de digestibilidad aparente por colección total de heces fecales es el que mide más exactamente la digestibilidad de un alimento, aunque presenta un leve sesgo respecto de la digestibilidad real debido al material endógeno que se elimina a través de las heces. El valor potencial de una ración balanceada que suministra ciertos nutrientes puede ser determinado mediante análisis químico, pero el valor real que tiene para el animal solamente puede ser determinado teniendo en cuenta las pérdidas inevitables que tienen lugar durante la digestión, la absorción y el metabolismo. El metabolismo de energía en rumiantes se basa en su habilidad para digerir los carbohidratos estructurales de las plantas como la celulosa; ésta digestión se lleva a cabo bajo condiciones anaeróbicas por un complejo de bacterias, hongos y protozoarios (Scholfield, 2000). El metabolismo de los carbohidratos por los microorganismos del rumen determina la producción de AGV que, a su vez, proporcionan entre 70 y 80% de las necesidades calóricas totales del animal hospedero (Arreaza *et al.*, 2005).

La tasa de fermentación más la degradabilidad absoluta de esos carbohidratos, hacen que el proceso sea eficiente o no, en la síntesis de microorganismos. Se sabe que la eficiencia del rumiante depende de dos aspectos críticos en el proceso de fermentación: la velocidad de la tasa de degradación y la velocidad de paso o tasa de pasaje (Fox *et al.*, 2000). La combinación de estas dos cinéticas establece la cantidad neta de microorganismos que serán sintetizados en el rumen y luego digeridos en el intestino delgado. Considerando lo anterior, el estudio de la degradación ruminal de los forrajes y demás ingredientes de la dieta de los bovinos ha sido desde los inicios de la zootecnia uno de los temas más estudiados, evaluados y controvertidos en el mundo (Arreaza *et al.*, 2005).

La digestibilidad, o el contenido de energía digestible o metabolizable, se determinan generalmente mediante ensayos de balance nutritivo, utilizando animales vivos. Los procesos de digestión y pasaje pueden ser descritos por modelos compartimentales en los cuales cada compartimiento representa un proceso distinto. Diferentes modelos han sido propuestos para describir la digestión y pasaje de los alimentos en los rumiantes. En estos modelos, el alimento desaparece del rumen por degradación y absorción o por tránsito a tracto digestivo posterior apareciendo finalmente en las heces. La proporción de nutrientes que están disponibles para el rumiante varía en función de la competencia entre las tasas de

degradación y pasaje. Histológicamente los tejidos de las plantas forrajeras pueden ser divididos en tres tipos: 1) material rápidamente fermentable (células del mesófilo), 2) material de lenta fermentación (esclerenquima, parénquima) y 3) material indigestible (tejido vascular lignificado). En las primeras horas de fermentación una parte del sustrato, principalmente los azúcares solubles son fermentados inmediatamente, sin embargo ellos sólo constituyen una pequeña parte del material potencialmente digestible. A medida que el proceso fermentativo continúa, una menor cantidad de material es hidratado y colonizado por los microorganismos ruminales lo que origina diferentes tasas de degradación dependiendo de la concentración de carbohidratos estructurales, contenido de lignina y estado de madurez de la planta (Rosero y posada, 2007; Rosero, 2002).

En los estudios convencionales acerca de la digestión, los animales se confinan con el fin de facilitar la recolección de heces y orina. Existen diversos métodos para recoger las heces, dependiendo de la especie, del tipo de animal y en las condiciones que se encuentra. Generalmente en este método de la determinación *in vivo* está muy difundido el uso de ovinos, aún cuando la mayoría de los alimentos para rumiantes es consumida por bovinos, sin embargo ambas especies presentan algunas diferencias con respecto a necesidades de alimento y espacio físico, además diferencias en cuanto a digestibilidad (Bruni y Chilibroste, 2001).

Lascano *et al.* (1990), señalaron que tanto en ovinos como en bovinos se pueden usar jaulas individuales metabólicas, que permitan la colección de heces, ya sea por medio de separadores o con el uso de bolsas colectoras. La digestibilidad determinada por este método se expresa habitualmente como digestibilidad aparente o real según las siguientes ecuaciones (Lascano *et al.*, 1990; García *et al.*, (2008):

$$\mathbf{D. \text{ aparente de MS}} = \frac{\mathbf{Cantidad \text{ de MS ingerida} - Cantidad \text{ de MS excretada}}{\mathbf{Cantidad \text{ de MS ingerida}}} \times 100$$

Cantidad de MS ingerida

$$\mathbf{D. \text{ real}} = \frac{\mathbf{Material ingerido - Material excretado - Excreción endógena}}{\mathbf{Cantidad \text{ de alimento ingerido}}} \times 100$$

Cantidad de alimento ingerido

2.4.2. Técnica *in situ* (*in sacco*)

Como técnica *in situ* (*in sacco*) se entiende a las evaluaciones de alimentos que se realizan empleando animales, tales como la digestibilidad o consumo voluntario. La técnica *in situ* o también llamada de la bolsa de nylon (Ørskov *et al.*, 1980) permite estudiar la cinética de desaparición del alimento en el rumen de animales fistulados. El alimento se coloca dentro de bolsas de nylon cerradas y luego en el rumen de los animales, el retiro de distintas bolsas a lo largo del tiempo permite medir la cantidad de material que ha desaparecido. La fracción del alimento que no se recupera dentro de las bolsas se asume que ha sido degradado, de este modo se construye la curva de desaparición. Esta metodología representó un adelanto muy importante dentro del campo de la nutrición de rumiantes, debido a que permite el estudio de la cinética de degradación. Esta técnica ha mostrado un buen grado de asociación con el consumo y la digestibilidad para alimentos como forrajes frescos y henos (Ørskov, 2000).

La digestibilidad *in situ* de la materia seca se estima con la siguiente ecuación (Ørskov, 2000; García *et al.*, 2008)

$$\text{Digestibilidad } in \text{ situ } (\%) = \frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) \times 100}{\text{Peso inicial}}$$

2.4.3. Digestibilidad *in vitro*

La medición de las tasas de digestión resulta cada vez más importante, debido al avance ocurrido en los nuevos sistemas de alimentación, en los que la disponibilidad de nutrientes a nivel ruminal, es calculada en base a la competencia entre tasa de digestión y tasa de pasaje. La mayoría de los procedimientos *in vitro* desarrollados hasta el momento miden la desaparición de sustrato en un punto final de medida. Con el objetivo de obtener sistemas reproducibles y repetibles, se han propuesto sistemas estáticos y estandarizados. Para el estudio de la digestión ruminal, la mayoría de los sistemas utilizan inóculo microbiano. Dado que la actividad microbiana, incluye la formación de biomasa microbiana con la consecuente captura de nitrógeno, estos sistemas presentan limitaciones para medir la degradación de los componentes nitrogenados. Consecuentemente existe una

tendencia a la sustitución de microbios por enzimas a pesar de que éstas pueden ser inactivadas por la presencia de sustancias anti nutricionales, o la presencia de fibra. En algunos casos excepcionales puede ocurrir lo mismo con los inóculos microbianos, en situaciones de sustrato limitante, donde ocurre lisis microbiana seguida por una inactivación. Las técnicas *in vitro* empleadas en estudios de cinética de digestión, basadas en análisis de residuos no digeridos o fermentados, a diferentes tiempos de incubación, presentan una serie de desventajas, entre las que se puede mencionar, alto costo, no es posible determinar el rol de los componentes solubles del forraje y es muy difícil el estudio de las fases tempranas de fermentación (Bruni y Chilibroste, 2001).

El estimador comúnmente más usado para evaluar el valor nutritivo de un forraje, es su digestibilidad, término utilizado para indicar lo que el animal aparentemente aprovecha. En varios países tropicales se ha medido la digestibilidad de los pastos, sin embargo, este valor, cambia de acuerdo al medio ambiente y al manejo, por lo tanto, dicha información no se puede extrapolar a las condiciones del trópico mexicano (Abdelhadi, 2007) además, no hay información de digestibilidad de pastos tropicales en varias regiones con estas características climáticas.

Los sistemas *in vitro* de Tilley y Terry (1963) modificado por Van Soest (1970), usando líquido ruminal, son los más antiguos y aún los más comunes para medir la digestibilidad. Estos consisten en una fermentación del alimento durante 48 horas por los microorganismos ruminales. La cantidad de muestra (alimento) que desaparece se considera que ha sido “digerida”. La cantidad de alimento digerida corregida por el contenido de cenizas es equivalente al total de nutrimentos digestibles (TND), el cual es el punto de partida para estimar el valor energético de un alimento Posada y Noguera (2005).

La digestibilidad *in vitro* es un método, que se basa en el principio de someter una muestra de alimento (forraje o grano) en un recipiente a la acción de inóculo de líquido ruminal, con el fin de simular las condiciones que ocurren en el rumen. Después de un determinado tiempo se mide la cantidad de materia seca, materia orgánica o celulosa que ha desaparecido durante la incubación, la proporción desaparecida se denomina digestibilidad *in vitro* (Bruni y Chilibroste, 2001).

Dentro de los métodos químicos y biológicos descritos para predecir la digestibilidad *in vivo* de los alimentos, el propuesto por Tilley y Terry (1963) aún se

reconoce como uno de los más interesantes. Este se basa en la acción de dos tratamientos, uno biológico y otro químico, sobre la muestra a analizar. El tratamiento biológico se refiere a una digestión anaeróbica de una muestra seca de forraje con microorganismos ruminales, de 38 a 40 °C en pH constante de 6.8 a 6.9 por 48 horas bajo oscuridad. Esta digestión debe hacerse en tubos de vidrio asegurándose que la producción de gas, como consecuencia de la fermentación mantiene la condición de anaerobiosis. El tratamiento químico consta de una digestión en pepsina, cuya finalidad es solubilizar la gran proporción de proteína que resiste al tratamiento biológico previo.

2.4.4. Técnica de producción de gases

La técnica de producción de gases es otro método *in vitro* que permite determinar la extensión y la cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo. Una de las ventajas de este procedimiento es que el curso de la fermentación y la función de los componentes solubles del sustrato pueden ser cuantificados. Otro problema inherente a los métodos *in situ* e *in vitro* que se han tratado de solucionar a través de la técnica de producción de gas es el estudio de las fases tempranas de la fermentación, ya que los procedimientos gravimétricos no son lo suficientemente sensibles para medir los pequeños cambios que ocurren en el peso del sustrato durante las primeras horas de fermentación (Rosero 2002).

De manera alternativa a la desaparición de sustrato, se ha propuesto la medición de la producción acumulada de gas, como indicador del metabolismo del carbono, centrando su atención en la acumulación de los productos finales de la fermentación: CO₂, CH₄ y ácidos grasos volátiles. Este sistema presenta la ventaja de que el producto final que se mide (gas) es resultado directo del metabolismo microbiano, en lugar de registrar la desaparición de sustrato. Una segunda ventaja es que la formación de productos finales de la fermentación, pueden ser monitoreado a intervalos cortos de tiempo y por lo tanto la cinética de fermentación puede ser descrita con precisión. La técnica de producción de gas aparece como un sistema *in vitro* de alta capacidad operativa y bajo costo, en la cual los perfiles de producción de gas pueden ser generados utilizando sistemas semi o totalmente automatizados. La determinación de los productos finales de la fermentación y los residuos

no fermentados, en conjunto con los perfiles de producción de gas, permite estimar la tasa, extensión y eficiencia de la fermentación (Bruni y Chilibroste, 2001).

El método utiliza una jeringa en la cual se incuba el sustrato en un medio amortiguado e inoculado con fluido ruminal. La producción de gas es medida a diferentes intervalos de tiempos por la posición del pistón en la jeringa. Para medir la producción de gas se han usado diferentes aproximaciones: 1) a presión atmosférica constante 2) a volumen fijo y 3) una combinación de las anteriores mediante un cambio definido de presión. Dentro de las limitaciones de la técnica están varios factores que afectan la medida de la producción de gas entre los que destacan: la solubilidad de los gases en los líquidos, tipo de fermentación, producción de gas indirecta a partir del amortiguador del medio de cultivo, contenido de nitrógeno de la muestra, tamaño de partícula, y procesamiento de la muestra (Bruni y Chilibroste, 2001).

2.5. Caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)

La caña de azúcar es originaria de Asia (India), se cultiva actualmente en prácticamente todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo; es una planta que pertenece a la familia de las gramíneas. La superficie mundial cultivada con caña de azúcar no ha registrado cambios de importancia, ubicándose en 19.5 millones de hectáreas y una tasa de crecimiento de 0.8% entre los años de 1998 y 2002. Los principales países productores se encuentran en Asia, América Central y del Sur y unas cuantas regiones de Europa. El 65% de la superficie cultivada con caña de azúcar se encuentra en seis países: Brasil 4,907.9; India 4,009.9; China 1,118.8; Tailandia 943.0; Pakistán 1,027.8 y México 636.2 hectáreas en el año 2003. La superficie cultivada con caña de azúcar en nuestro país se distribuye principalmente en seis estados de la república: Veracruz con 39.2%, Jalisco 10.5%, San Luis Potosí 9.2%, Tamaulipas 6.7%, Oaxaca 6.6% y Chiapas con 3.7% del total nacional (Ortega y Ochoa, 2004).

Las cañas que hoy se utilizan para la alimentación del ganado, realmente se han diseñado por los genetistas para la producción industrial de azúcar. Esto determina que, desde el punto de vista alimentario, la caña se caracteriza por su alto contenido de azúcares y de fibras, lo cual a su vez impone características notablemente diferentes a los sistemas tradicionales de alimentación, basados en pastos y cereales. Por lo tanto, el rendimiento de

materia seca no es un indicador suficiente acerca del potencial de una planta forrajera para diseñar sistemas de alimentación animal de mediana a alta productividad. Se requiere, como mínimo, información sobre la relación hoja/tallo, su composición bromatológica y la digestibilidad (Molina, 1990).

La información disponible de numerosos experimentos de nutrición animal realizados con caña de azúcar, indican que generalmente se trata a este alimento como si fuera un producto con poca variación, o para ser más exactos, como si siempre se tratara del mismo producto. De la misma manera que otras gramíneas pratenses y forrajeras tienen un valor como alimento en función de su edad, madurez, época y variedad o ecotipo dentro de ésta, a la caña le sucede igual (Martín, 2005).

Así mismo, Molina (1990) menciona que, al igual que la mayoría de los alimentos voluminosos, el valor nutritivo de la caña de azúcar presenta una alta variabilidad por influencia de varios factores que van desde el genético (variedad) hasta las agronómicas (intensidad y sistema de cultivo) y los de manejo (edad y sistema de corte, trituración, entre otros). En este sentido, desde el punto de vista nutricional, las características más sobresalientes de la caña de azúcar en su composición química son:

- a) Pronunciado déficit proteico.
- b) Alta proporción de contenido celular, con elevada acumulación de carbohidratos solubles en forma de azúcares.
- c) Alta proporción de carbohidratos estructurales, principalmente de lignina como componente de la pared celular.
- d) Déficit y desbalance de minerales.
- e) Ausencia de grasa y almidones.

Benítez, *et al.* (1983) señalaron que, las características y posibilidades de utilizar la caña de azúcar como alimento para el ganado se basan en:

- a) La caña de azúcar aumenta su valor nutritivo a medida que avanza su estado de madurez.
- b) A diferencia de los demás pastos y forrajes, la caña de azúcar alcanza la mayor concentración energética durante la época seca y supera a las demás plantas forrajeras en contenido de energía y en rendimiento de materia seca durante dicha época.

c) Es fácilmente mecanizable desde la siembra hasta la entrega al animal.

El bajo contenido de nitrógeno, minerales y la baja digestibilidad de la fibra son los principales factores que limitan el aprovechamiento adecuado de la caña de azúcar como alimento para los rumiantes (Leng, 1989 y Molina, 1990). Esta tiene una alta concentración de sacarosa y otros azúcares, y se ha observado que cuando se utiliza como único alimento, el contenido de carbohidratos solubles reduce la actividad de las enzimas celulolíticas (González, 1995; Muñoz y González, 1989).

La digestibilidad de la materia seca de la caña de azúcar es mayor que en los pastos tropicales, debido al contenido de carbohidratos solubles de fácil fermentación. No obstante, la tasa de digestión de la fibra es menor que en la mayoría de los pastos y leguminosas. Esto indica que la digestión de la pared celular de la caña de azúcar es una de las principales limitaciones para utilizarla eficientemente en la nutrición de los rumiantes Aranda *et al.* (2004). En este sentido Martín (2005) concluyó que, los estudios realizados en diferentes países demuestran que suplementada estratégicamente, puede sostener buenas ganancias de peso y producciones de leche.

2.5.1. La caña de azúcar en la alimentación de rumiantes

El uso de la caña de azúcar como recurso forrajero va creciendo año tras año y hay varias razones del por qué introducir esta fibra en la formulación de dietas para los rumiantes. Uno es la expansión del cultivo en el mundo, otro, su uso solo limitado en animales de bajo potencial productivo, ya sea para leche o carne, según lo recomendado por los investigadores y técnicos en los años 70 y 80. Encontrándose en la literatura, estudios como el de Naufel *et al.* (1969) y Nogueira Filho *et al.* (1977) que limitaban el uso de la caña de azúcar en el 50% como fuente de forraje, debido a las restricciones sobre el consumo y la consiguiente caída en la producción de leche. Los rendimientos máximos obtenidos en estos estudios fueron de 10 kg de leche vaca d⁻¹.

En la actualidad, los conceptos están cambiando, y el ganadero entiende que el alimento que tiene es fuente de energía, en lugar de ser criticado por la baja en proteínas Siqueira *et al.* (2007a). Correa *et al.* (2003) y Queiroz *et al.* (2008), demostraron en sus estudios, que la caña de azúcar sólo se puede utilizar como forraje para animales de alta producción. Estos autores informaron de la producción de leche promedio fue 31.2 y 24.6

kg de leche vaca d^{-1} , respectivamente, usando la caña de azúcar como forraje en la formulación de la dieta. En el caso de la alimentación del ganado vacuno, Fernandes *et al.* (2007), reportan que la ganancia de peso observado fue de 1.42 kg d^{-1} en los animales alimentados con la caña de azúcar, otros resultados tales como éstos se encuentran a menudo en la literatura. En promedio, el porcentaje de inclusión de caña de azúcar en estas dietas en todos los experimentos fue de 40% de materia seca.

La caña de azúcar es un recurso forrajero que puede ser utilizado en las épocas de sequía o inundación, mejorando la eficiencia en la producción de rumiantes (Aranda, 2000; Ruiz, 2001), como consecuencia de su alto potencial de producción de 50 t/ha por año, llegando a rendimientos máximos anuales de 89 a 158 t ha^{-1} (Ruiz, 2001). Así mismo, a pesar de las ventajas potenciales de un alto contenido celular, las principales limitantes como fuente de forrajes para rumiantes son: 1) de orden nutricional, como es la inhibición parcial de la celulólisis ruminal, insuficiente contenido de proteína cruda para el crecimiento microbiano y animal, déficit de minerales y bajo contenido de grasa y almidones; y 2) de orden fisiológico, tales como mayor trabajo de rumia, lenta reducción del tamaño de partículas y elevado tiempo de permanencia de las partículas en el retículo-rumen (Ruiz, 2001).

La caña de azúcar es un cultivo que se produce en más de 100 países en el mundo y cuya producción de biomasa supera la de cualquier otro vegetal de los que puede aprovecharse como alimento animal. Aunque en los últimos años la investigación en este uso de la caña de azúcar ha disminuido, los estudios realizados en diferentes países demuestran que, convenientemente suplementada, puede sostener buenas ganancias de peso y producciones de leche Martín (2005). A partir del conocimiento de las principales restricciones para la eficiente utilización de las dietas basadas en caña de azúcar, se han trazado las estrategias de suplementación y manipulación del ecosistema microbiano en el rumen, como medidas para mejorar la productividad animal (Reyes, 2006).

La respuesta a la alimentación con caña de azúcar es variable, dependiendo del tipo y nivel de suplementación utilizada. La mejor respuesta se encuentra cuando se utiliza un suplemento que contenga proteína y almidones de escape (Aranda, 2000). El contenido celular de la caña de azúcar es altamente digestible, al contrario de lo encontrado en la fracción fibrosa (Aranda, 2000; Ruiz, 2001). Algunos investigadores (González, 1995;

Aranda, 2000) consideran que el bajo consumo de caña de azúcar se puede explicar como consecuencia de la alta concentración de carbohidratos solubles, rápidamente fermentables, inhibidores de la celulólisis ruminal y a los bajos niveles de proteína cruda presentes, que afectan negativamente la degradación (Aranda, 2000).

La caña de azúcar mantiene su importancia como alimento para el ganado vacuno. Su producción de materia seca y energía metabolizable por hectárea es superior a la de cualquier cultivo conocido, su producción coincide con el período del año en que no llueve y la producción de hierba en los potreros disminuye, y existen tecnologías disponibles para lograr un buen aprovechamiento de este alimento por los animales que la consuman. Se conoce el efecto de la suplementación proteica sobre el consumo de forraje de caña y la ganancia de peso y producción de leche. También han quedado establecidas las necesidades de suplementación. En cualquier caso los análisis de viabilidad económica son necesarios para su uso en diferentes condiciones (Martín, 2005).

Una de las vías que se han desarrollado para propiciar modificaciones importantes en la fermentación ruminal, es la utilización de aditivos y entre ellos los denominados Suplementos Nitrogenados Activadores (SNA). Estos consisten en formulaciones que abarcan diferentes relaciones de nitrógeno no proteico (NNP) y proteína verdadera (PV), así como la adición de pre mezclas de vitaminas y minerales (Galindo y Marrero, 2005)

Los SNA se han utilizado en dietas de bajo valor proteico, como son las dietas a base de caña de azúcar (Muñoz *et al.* 1987), en las que se reducen los grupos más importantes de bacterias celulolíticas del rumen, y casi desaparecen los microorganismos que deben degradar la celulosa. En tales circunstancias la suplementación nitrogenada, ya sea en forma de PV o NNP, incrementa la población y actividad de los microorganismos ruminales debido, principalmente, al hecho de que el primer factor que limita la acción de los microorganismos y su actividad, es el bajo valor nutritivo de los alimentos que consumen los animales. Cuando desaparece esta limitante, se observa una alta proliferación de microorganismos y consecuentemente, se obtiene una mayor degradabilidad ruminal de la MS, fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Galindo y Marrero, 2005).

Los suplementos son aquellos alimentos destinados a corregir las deficiencias cualitativas de la dieta básica (pastos, forrajes y otros voluminosos) para satisfacer los

requerimientos nutricionales del animal y la flora ruminal, no excediendo el 30% de la dieta total, es conocido que la mayor acción de los suplementos, se basa en la actividad de los microorganismos del rumen, por lo que la interacción suplemento-ración básica, está asociada a la necesidad indispensable de contar con una fuente continua de carbohidratos, que mantengan tanto la fermentación como el suministro de precursores indispensables para el crecimiento celular, ya que la tasa de fermentación debe estar sincronizada con la tasa de consumo (Ortiz, 2001).

La literatura menciona la acción eficaz de los suplementos nitrogenados, energéticos, minerales y vitamínicos, para garantizar una adecuada función ruminal. Ello implicaría una mayor disponibilidad de nutrientes esenciales para la multiplicación de las bacterias (especialmente celulolíticas), una mayor magnitud de la degradación de los alimentos voluminosos con un aumento en el aporte de sustrato al intestino (Valdéz y Delgado, 1990).

El forraje de caña de azúcar tradicionalmente se utiliza en forma fresca como sustituto de los pastos y forrajes que faltan durante la estación seca. Debido a que el corte y picado diario de la caña de azúcar significa un problema, con un incremento en los costos de mano de obra, se ha sugerido su almacenamiento en forma de ensilaje. El contenido de materia seca y azúcares solubles en agua presentes en la caña antes de ensilar, ubican a este material dentro del rango especificado para obtener una buena fermentación, con pérdida mínima de nutrimentos (Molina *et al.*, 1997). Por lo tanto, Preston *et al.* (1976), propusieron que una razón para ensilar la caña de azúcar, es aumentar su contenido de proteína verdadera (por crecimiento microbiano) y con la concentración de ácido láctico, tener una fermentación controlada bajo condiciones anaeróbicas, para mejorar su valor nutritivo. Las ventajas del uso del ensilaje se pueden resumir según Cowan (1999):

1. Como una **reserva para épocas de sequía**, lo que implica ensilar hierba o cultivos bajo condiciones óptimas y almacenarlos por períodos de uno a 20 años. Este ensilaje se utiliza solamente en períodos de extrema escasez de alimento.
2. Para **aumentar la productividad**, como empleo tradicional del ensilaje para aumentar la reserva de alimento del ganado. Su almacenaje es de menos de un año. El uso del ensilaje está asociado frecuentemente con un cambio en el uso de la tierra de más cultivos a menos praderas.

3. Para *facilitar el manejo de forrajes y de cultivos* donde la cosecha de forraje para ensilar también facilita otras prácticas de manejo. P.ej. la mayor densidad de tallos y producción de los forrajes de zona templada para ensilarlos al comienzo de la temporada cuando ocurre un exceso de producción vegetativa lo que permite sembrar el cultivo sucesivo más temprano.
4. Para *usar mejor el excedente de producción*; este exceso, en general, es considerado un desperdicio y el ensilaje sirve para almacenar el excedente y evitar pérdidas por efectos de madurez o deterioro *in situ*.
5. Para *equilibrar el contenido de nutrientes* de la dieta, el ensilaje permite suplir nutrientes en períodos en que la ración estacional muestra deficiencias. Por ejemplo, combinando el uso del ensilaje de leguminosas para complementar el ensilaje de maíz, o combinando el ensilaje de maíz con el uso de praderas de leguminosas o con el uso de ensilajes que tengan distintos valores de contenido en fibra.
6. Para permitir el *almacenaje de alimentos muy perecederos* ya que el proceso del ensilaje permite conservarlos por un largo período; por ejemplo, el ensilaje de subproductos muy acuosos. La técnica es similar a la empleada en la conservación de alimentos por medio de la adición de sustancias químicas o de la exclusión del aire en granos muy húmedos.

Por otra parte, debido a la actual crisis económica resulta cada vez más difícil la importación de granos para la alimentación de ganado, por lo que se espera un futuro promisorio en el uso de la caña de azúcar y sus subproductos, que podría desempeñar una función fundamental como alimento para los rumiantes. En este sentido, Álvarez (2006) señaló que la ganadería pasa por una situación difícil, ya que los precios para la carne y la leche se han aumentado por abajo del índice inflacionario; este fenómeno también afecta grandemente el poder adquisitivo de la población. Por esta razón, las empresas ganaderas que menos dependan de la compra de insumos, serán las menos afectadas, por lo que esta crisis será un factor favorable para desarrollar sistemas más apropiados para el trópico y sin duda la caña de azúcar y sus subproductos tendrán mucho que aportar en México.

2.6. Conservación de forrajes

Los forrajes constituyen la base principal en la nutrición del ganado en el país por constituir la fuente más barata de todas las utilizadas en nuestras condiciones. Sin embargo, los alimentos del ganado varían en cantidad y calidad según la época del año, y debido a las características climatológicas muy variadas del país (húmedo, subtropical, tropical y desértico) con dos estaciones o períodos: lluvioso y seco, desde junio a octubre, en que la producción de pastos es abundante y su crecimiento es óptimo con un valor nutritivo más elevado y el periodo seco, en el que la producción de pastos disminuye notablemente tanto cualitativa como cuantitativamente, provocando graves crisis en la alimentación del ganado, haciéndose difícil y en ciertos casos imposible obtener buenos rendimientos. Lo planteado anteriormente conlleva a la aplicación y desarrollo de técnicas de conservación de los forrajes con el objetivo de poder alimentar los animales en la época de escases de alimentos, garantizándose que la producción animal sea lo más estable posible durante todo el año (Silveira y Franco, 2006).

El principal objetivo de la conservación de un forraje es mantenerlo almacenado sin perder la calidad inicial, teniendo en cuenta la edad, la cual garantiza el volumen, valor nutritivo y por lo tanto el potencial productivo. Estos valores varían para gramíneas y leguminosas. Los forrajes conservados (henos, henolajes y ensilajes) cumplen distintos roles. Sirven para contrarrestar la falta de pasto y equilibrar dietas de los animales todo el año. Esto permite aumentar la producción animal (L de leche y kg de carne ha⁻¹) del sistema (Franco *et al.*, 2007).

Los métodos de conservación de forrajes más conocidos son el ensilaje, la henificación y el henolaje (Sánchez, 2004; Sánchez, 2005; Franco *et al.*, 2007;): El ensilaje se basa en la preservación de los pastos, forrajes verdes y nutritivos, mediante un proceso de fermentación anaerobia que conserva el valor nutritivo y los hace agradables al gusto de los bovinos. La henificación consiste en reducir el contenido de agua del forraje lo más rápido posible para su almacenamiento. El forraje fresco contiene alrededor del 70 a 85% de agua y cuando se reduce de 15 a 25% mediante un buen secado puede almacenarse en forma de heno sin que se deteriore la calidad, permitiendo de esta forma la conservación segura por un largo período de tiempo. Es usado principalmente por rumiantes, equinos y en menor grado por ovinos y caprinos. El henolaje es un proceso intermedio entre el

ensilaje y la henificación, en virtud del cual el forraje se conserva con una humedad de 45 por ciento en ausencia de oxígeno.

En este sentido, cualquier producto cosechado sirve para el ensilaje, siempre que contenga azúcares fermentables suficientes para propiciar la fermentación microbiana y se produzca la suficiente acidez que requiere su conservación, a fin de frenar la ulterior descomposición del material ensilado por otros tipos de gérmenes. Su concentración está condicionada por la especie vegetal, el nivel debe ser alto, y con marcada supremacía sobre el contenido de proteínas. La relación azúcares/proteínas debe ser elevada para evitar que el exceso de nitrógeno producido por los procesos de degradación forme productos tóxicos y/o que neutralicen el ácido láctico formado (Silveira y Franco 2006; Becerra *et al.*, 2005). Las leguminosas presentan una relación azúcares/proteínas muy baja, razón por la cual, su conservación mediante esta técnica es complicada y requiere el uso de diferentes tipos de aditivos para reducir la posibilidad de putrefacción (Bertoia, 2004; Santos *et al.*, 2010).

Como la superficie de los vegetales contiene ya las clases de microorganismos necesarios (microflora epifítica), no hay necesidad, por lo general, de resembrarlos en el forraje. Por recuentos microbianos se sabe que normalmente hay de 1×10^4 a 4×10^8 bacterias g^{-1} de vegetal. Para acelerar el proceso fermentativo (fermentación láctica), se recomienda adicionar cultivos puros de bacterias específicas a un forraje a ensilar (inoculación de los forrajes) Silveira y Franco (2006); Woolford (2003); Abdalhadi (2005); Villa (2008).

Este proceso depende de la fermentación de los carbohidratos solubles para producir ácido láctico, descendiendo el pH entre 3.8 y 4.2, donde el contenido de este ácido constituye del 8 a 12% de la materia seca. Este será un ensilado bien conservado. Por haber carbohidratos en la savia de las plantas, los cambios que se operan son más bien fermentativos que putrefactivos. Las células vegetales siguen respirando, en pocas horas se consume el oxígeno libre y se reemplaza por dióxido de carbono. Los cambios posteriores son anaeróbicos. En la práctica se crean las condiciones anaeróbicas para que cese la respiración aerobia de las plantas y se pueda producir la fermentación mediante la actividad microbiana de las bacterias lácticas (Silveira y Franco, 2006; Villa (2008); Santos *et al.*, 2010). Una baja cantidad de carbohidratos solubles en la planta, asociada con alta humedad, crea condiciones ideales para el desarrollo de fermentaciones secundarias, por lo tanto, la

interrelación entre el contenido de materia seca, carbohidratos solubles y la capacidad amortiguadora del forraje (coeficiente de fermentabilidad), determinan el tipo de fermentación que ocurrirá en el silo (Abdalahadi, 2005; Villa, 2008).

En el proceso de ensilaje, una vez que el aire es excluido, se encuentran tipos de bacterias saprófitas en el forraje, llegan a ser estables y dan lugar a un patrón predecible de acontecimientos. *Enterobacter* fermenta los azúcares en la cosecha del ensilado a ácido acético e inicia la fermentación. Son entonces remplazados por una sucesión de cuatro tipos de bacterias ácido lácticas, primeramente por *lactococci* y *leuconostoc*, después *lactobacilli* y finalmente *pediococci*. La sucesión es dictada por la tolerancia ácida del *enterobacter* y varios tipos de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, no es tan simple. Está confundido por el hecho de que dentro de los tipos de bacterias saprofitas (homo y heterofermentativas), la eficacia de la producción de ácido varía apreciablemente porque algunas transforman todo el azúcar (hexosas) que usan a ácido láctico mientras que otros no lo hacen (Woolford, 2003). A medida que el aire se elimina progresivamente durante el proceso ocurre una selección microbiana. Así se eliminan primero la mayoría de los microorganismos que necesitan aire para desarrollarse; a continuación al morir las células vegetales por falta de oxígeno, se producirá el desarrollo de las bacterias facultativas, y por último, el de las anaerobias. A este grupo pertenecen las bacterias lácticas, butíricas y un nutrido grupo de las proteolíticas, que atacan a las proteínas (Silveira y Franco, 2006).

La concentración de bacterias generadoras de ácido láctico, invariablemente aquellas de relevancia al ensilado, las bacterias ácido lácticas, son menores a 10^2 UFC g^{-1} . Sin embargo, en el momento en que el forraje llega al silo, la concentración puede ser de 10^4 a 10^5 UFC g^{-1} (Woolford, 2003). Por lo tanto, esto implica usar un inoculante para controlar la fermentación que se necesitará proporcionar, por lo menos, 10^5 a 10^6 UFC g^{-1} para dar una oportunidad inicial de competencia con la población saprófita ó autóctona.

Así mismo, Abdelhadi (2007) menciona que entre las bacterias autóctonas, las deseables, que son las lácticas, están en baja concentración (100 UF g^{-1} de cultivo en pie) por lo cual la fermentación se torna ineficiente dando por cada molécula de azúcar fermentada una molécula de ácido láctico y otros derivados. A diferencia de ello, cuando se utiliza un inoculante bacteriano es aumentar de 100 a $100,000$ UFC g^{-1} la población de bacterias lácticas y ello junto con enzimas que degradan azúcares estructurales a

compuestos solubles (combustible para las bacterias), hacen que el tiempo de fermentación necesario para estabilizar el ensilado se reduzca marcadamente, debido a que la producción de ácido láctico se incrementa notablemente (por cada molécula de azúcar de forraje inoculado se producen dos moléculas de ácido láctico).

El mayor problema de la utilización de caña de azúcar en la alimentación del ganado, es la necesidad de corte diario, el material recogido es fermentado rápidamente si no se consume de inmediato, reduciendo su palatabilidad (Kung y Stanley Jr., 1982). El ensilado de caña de azúcar podría eludir este problema, lo que permite la optimización de los costos por mano de obra a través de la concentración del proceso de corte de caña en un momento determinado del año la facilidad de gestión en la explotación diaria y maximizar el uso de maquinaria (Castro Neto, 2003).

El empleo de aditivos en el proceso de ensilado, tiene como fin contribuir a la creación de condiciones óptimas que permitan mejorar la conservación y valor nutritivo del producto. Así mismo, un aditivo debe cumplir las siguientes características: ser fácil y seguro de manejar, reducir las pérdidas de materia seca, no aumentar la producción de efluente, mejorar la calidad higiénica del ensilado inhibiendo el desarrollo de microorganismos indeseables, limitar las fermentaciones secundarias, potencializar la estabilidad una vez abierto el silo (Argamentería *et al.*, 1997; Roza, 2005).

2.6.1. Inoculantes y aditivos

Los aditivos pueden ser químicos o biológicos y se pueden clasificar de forma simplificada como: conservantes, inoculantes, enzimas, y sustratos o nutrientes. Los conservantes inhiben las fermentaciones indeseables; unos confieren a la masa de forraje una acidez inicial que favorece la actividad de las bacterias lácticas, otros tienen acción bacteriostática, limitando la multiplicación de bacterias no deseables. También tienen efecto sobre la flora láctica, el forraje se acidifica muy poco y conserva casi todos sus azúcares, pero se estabiliza precisamente gracias a esa mínima vida bacteriana. También hay conservantes con efecto bacteriostático y acidificante a la vez. Los inoculantes, tienen como función primordial elevar rápidamente el nivel de acidez del forraje a ensilar para prevenir la ruptura de la proteína, aportando microflora láctica que puede no estar presentes en cantidad suficiente, lo que dejaría campo libre a otros microorganismos cuya acción

puede no ser deseable. Las enzimas como aditivos para el ensilado han ganado interés en los últimos años, las más comunes son las que degradan las paredes celulares de las plantas como celulasas, pectinasas y hemicelulasas ó mezclas de los mismos. Mediante la ruptura de las paredes celulares, aumenta el contenido de azúcares solubles, los cuales son fermentados por bacterias lácticas, favoreciendo así la acidificación (Rauramaa *et al.*, 1995; O'Kiely, 1997).

El ensilaje de caña de azúcar sin aditivos ha resultado en pérdidas de hasta 30% de la materia seca, lo que ocasiona la acumulación de los componentes de la pared celular y la reducción de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (Ferreira *et al.*, 2007). Además, los ensilajes tienen alto nivel de hidratos de carbono residual y ácido láctico, sustratos potencialmente utilizables por los microorganismos deterioradores del ensilado después de la apertura del silo (Rocha *et al.*, 2006). En los últimos años, ha crecido el interés, principalmente por investigadores brasileños, por los aditivos para el ensilaje de caña de azúcar capaces de inhibir el crecimiento de las levaduras que promueven la fermentación alcohólica.

Las bacterias productoras de ácido láctico han sido estudiadas como inoculantes en ensilados y en la actualidad ha habido mayor atención a la adición de bacterias heterolácticas, principalmente la especie *Lactobacillus buchneri*, la cual ha mostrado resultados prometedores, especialmente en la inhibición de la proliferación de hongos y una mayor estabilidad aeróbica (Filya, 2003). Ávila (2007) observó que las cepas homofermentativas de las especies *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus paracasei* y heterofermentativas de la especie *Lactobacillus brevis* crecían con mayor frecuencia a lo largo de la fermentación de la caña de azúcar.

Según Nussio y Schmidt (2004), el principal enfoque de los estudios con ensilado de caña de azúcar es la búsqueda de aditivos que, asociados con el ensilado, inhiban la fermentación alcohólica del forraje con el fin de reducir pérdidas. Con este fin, varios aditivos han sido estudiados para el ensilado de forraje en general, entre ellos urea (Hill y Leaver, 2002), *Lactobacillus buchneri* (Driehuis *et al.*, 2001). *Lactobacillus plantarum* es el organismo más utilizado en el ensilaje de forrajes tropicales (Pedroso *et al.*, 2007). Bravo-Martínez *et al.* (2006) demostraron que el ácido láctico es el sustrato de la mayoría de las levaduras presentes en la caña de azúcar.

Los aditivos químicos e inoculantes microbianos han sido utilizados con el fin de mejorar el nivel de fermentación y conservación de forraje, promoviendo el desarrollo de microorganismos benéficos como bacterias productoras de ácido láctico, y la inhibición de los efectos, tales como las levaduras y los clostridios Ferreira *et al.* (2007).

III. HIPÓTESIS

La caña de azúcar en forma de ensilado con inóculo y aditivo en combinación con ingredientes proteicos aumenta su digestibilidad de nutrientes ya que se mejora las condiciones ruminales y por lo tanto, la productividad animal.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar la digestibilidad *in situ* de los nutrientes y las variables ruminales del ensilado de caña de azúcar con aditivo e inóculo en combinación con ingredientes proteicos comunes.

4.1. Objetivos Específicos

1. Determinar la digestibilidad *in situ* de la materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína cruda (PC), fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN) de la caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar y de ensilado de caña de azúcar con aditivo e inóculo al 1 y 3%.
2. Evaluar las variables de pH ruminal, ácidos grasos volátiles (AGV) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) de la caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar y de ensilado de caña de azúcar con aditivo e inóculo al 1 y 3%.
3. Detectar que ensilado de caña de azúcar ya sea sin ó con aditivo e inóculo muestra los mejores parámetros y variables ruminales para su mejor aprovechamiento nutricional.
4. Determinar la digestibilidad *in situ* de la materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína cruda (PC), fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN) de dietas integrales basadas con ensilado de caña de azúcar con aditivo e inóculo en combinación con ingredientes proteicos.
5. Evaluar las variables ruminales: pH, ácidos grasos volátiles (AGV) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en las dietas integrales anteriores.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización de la investigación

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Nutrición del Centro Universitario del Sur (CUSur) de la Universidad de Guadalajara y en el Rancho “Dos Pivotes” ubicado al Suroeste del Municipio de Zapotlán El Grande, del Estado de Jalisco, México con coordenadas geográficas de 19° 27' 13" de latitud norte y meridianos 103° 27' 57" de longitud oeste, con una altitud de 1,520 metros snm. El clima es semicalido, con una precipitación pluvial anual de 732 mm distribuidos en los meses de Junio a Septiembre, lluvias invernales o cabañuelas de manera ocasional. Su temperatura media es de 20.2 °C (INEGI, 2001).

5.2. Colección y preparación de los tratamientos

Se determinó la digestibilidad *in situ* y variables ruminales del ensilado de caña de azúcar integral, variedad CP 72 – 2086 de segundo corte con 12 meses de edad; los materiales utilizados fueron los siguientes: a) Caña de azúcar fresca (CAF) integral picada, b) Ensilado de caña de azúcar (ECA) integral, c) Ensilado de caña de azúcar con el 1% (ECA1%) de inóculo compuesto por 10.0 % melaza, 5.0% pollinaza, 1.0% de yogurt, 0.5 % urea y 83.0 % de agua; más el 1 % de aditivo formulado con 1.0 % urea, 0.1 % sulfato de amonio y 0.25 % fósforo y d) Ensilado de caña de azúcar con el 3% (ECA3%) de inóculo y aditivo.

La investigación se realizó en varias fases de trabajo; una de campo, dos experimentales y una de laboratorio. En la fase de campo se realizó el ensilaje de caña de azúcar, en diciembre del 2008. La fase experimental se llevó a cabo en dos etapas: en la primera se realizó el experimento 1 en los meses de abril y mayo del 2009 y en la segunda se llevó a cabo el experimento 2 en octubre y noviembre del 2009.

5.3. Análisis químico proximal

Todos los ingredientes fueron secados en estufa a 55 °C por 48 horas y posteriormente molidos en molino de martillos con criba de 2 mm para su posterior análisis. A cada ingrediente se le determino materia seca total (MST), proteína cruda (PC) mediante el método kjeldahl, extracto etéreo (EE) por el método Soxhlet, cenizas (C) y materia orgánica (MO) por diferencia, todos mediante la técnica descrita por la A.O.A.C. (2003). La determinación de las fracciones de fibra (FDN y FDA) se realizaron con el método de Van Soest *et al.* (1991)

5.4. EXPERIMENTO 1

Digestibilidad *in situ* de los nutrientes de la caña de azúcar ensilada adicionada con inóculo y aditivo.

Para este experimento se realizaron incubaciones *in situ* de cuatro tratamiento: T1) CAF, T2) ECA, T3) ECA1% y T4) ECA3%, utilizando cuatro vacas de raza Holstein con un peso vivo promedio de 625 ± 63 kg y 4 años de edad equipadas con cánula ruminal permanente de 10 cm de diámetro central (Bar Diamond Lane, Parma, ID, USA) las cuales fueron distribuidas al azar, en un diseño cuadro latino 4 × 4 durante 60 días (d), dividido en cuatro periodos de 15 días (10 de adaptación a la dieta y 5 de muestreos). La dieta de los animales consistió en: solo el tratamiento en estudio (T1, T2, T3 y T4) a voluntad repartido en dos sesiones durante el día (AM – PM). Disponían de agua limpia y fresca a libre acceso.

Se analizaron en este experimento: caña de azúcar fresca integral picada sin ensilar, ensilado de caña de azúcar integral, ensilado de caña de azúcar con inóculo y aditivo al 1 y 3%. Las muestras de estos ingredientes fueron molidos a 2 mm para determinar la desaparición ruminal *in situ*. A las muestras se les determino el contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC) y cenizas, usando las técnicas descritas por el AOAC (2003). Adicionalmente se les determino el contenido de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) usando alfa amilasa sin corrección de cenizas de acuerdo con lo

especificado por Van Soest *et al.* (1991). Para la desaparición ruminal *in situ* de la MS, PC, FDA y FDN se siguió el procedimiento propuesto por Vanzant *et al.* (1998). Se utilizaron bolsas de poliseda (10 × 15 cm; tamaño de poro 40-60 µm) con 5 a 6 g de MS de alimento. La incubación ruminal de las bolsas fue a 0, 8, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 h por triplicado además de agregar blancos en cada uno de los tiempos. Se tomo a través de la cánula ruminal muestras de fluido ruminal con intervalos de dos h, iniciando una hora antes de la alimentación diurna y terminando 12 h después.

El pH en el fluido ruminal fue medido con un potenciómetro portátil (J.T. BAKER® modelo PC 18) inmediatamente después de su recolección. Asimismo, 4 mL adicionales de fluido ruminal fueron colectados y mezclados con ácido metafosfórico al 25% (relación 4:1), y posteriormente centrifugados A 13, 500 revoluciones durante 15 min para ser clarificado, y el sobrenadante se colocó en viales de 2 mL y congelados para su posterior cuantificación de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases según la técnica de Erwin *et al.* (1961), utilizando 2 µL de muestra los cuales fueron analizados en un cromatógrafo de gases (Varian® 450 GC) con inyector automático (Varian® CP 8410). Se utilizó una columna J&W Scientific® HP-FFP a una longitud de 30 m, con una temperatura de inyección de 240 °C, de detector de 240 °C, de horno de 200 °C y con una velocidad de gases de 45 mL min⁻¹ (Nitrógeno;Helio).

La concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se determinó de acuerdo con la metodología descrita por McCullough (1967). Se utilizaron 20 µL en tubos de 10 mL, se adicionó 1 mL de hipoclorito de sodio, se incubaron en baño maría a 38 °C durante 30 min y se adicionaron 5 mL de agua destilada para diluir las muestras; la lectura se realizó en un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible (GBC Instrumentación®, modelo uv/vis 920) con una curva de calibración estándar de 5 a 25 mL dL a una logitud de onda de 630 nm.

5.5. EXPERIMENTO 2

Evaluación de la digestibilidad de los nutrientes del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo, con diferente fuente de proteína.

Una vez establecido las tasas de degradación ruminal *in situ* de los ingredientes en forma particular, se tomo el que mejores valores y variables ruminales presento. Partiendo de ello, se propuso realizar cuatro dietas integrales (Cuadro 2) con distinta fuente proteica balanceadas para vacas lecheras de mediana producción o para bovinos de carne de acuerdo a los requerimientos nutricionales de la (NRC, 2001). Las fuentes proteicas propuestas (pasta de soya, harina de pescado, canola y pasta de coco) se consideraron en base a su tasa de degradación (de media a alta) y disponibilidad en el mercado, aunado a que son los ingredientes proteicos de mayor uso en la alimentación animal.

Se determino la tasa de digestibilidad *in situ* de MS, MO, FDA y FDN; además de AGV y N-NH₃ bajo las técnicas y procedimientos descritos en el experimento 1. Se utilizaron cuatro vacas de raza Holstein con un peso promedio de 625 ± 63 kg y 4 años de edad, equipadas con cánula ruminal permanente de 10 cm de diámetro central (Bar Diamond Lane, Parma, ID, USA), las cuales fueron distribuidas al azar con un diseño cuadro latino 4×4 repetido durante 60 días, dividido en cuatro periodos, donde cada periodo consistió de 15 d (periodo experimental), 10 d de adaptación de los animales a la dieta y 5 d para la recolección de muestras. La dieta de los animales consistió en: el tratamiento en estudio (T1, T2, T3 y T4) a voluntad distribuido en dos sesiones (AM – PM) para asegurar una mayor actividad celulolítica de la microflora del rumen. Disponían de agua limpia y fresca a libre acceso.

Cuadro 2. Composición de las dietas experimentales.

Componente	Tratamientos ¹			
	TI	T2	T3	T4
	%			
Ensilado de caña de azúcar 1%	60	60	55	50
Pasta de soya	15
Harina de pescado	...	15
Pasta de canola	20	...
Pasta de coco	30
Alfalfa fresca	10	10	10	10
Maíz molido	5	5	5	2.5
Sorgo molido	5	5	5	2.5
Melaza	5	5	5	5

¹T1= ECA1% + pasta de soya; T2= ECA1% + harina de pescado; T3= ECA1% + pasta de canola; T4= ECA1% + pasta de coco.

5.6. Análisis estadístico

Las fracciones de fibra fueron calculadas usando PROC NLIN de SAS (SAS, 1999). El pH fue analizado con PROC MIXED de SAS y los datos de AGV, N-NH₃ y digestibilidad ruminal con PROC GLM y comparados con Tukey (SAS, 1999).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Resultados y discusión del experimento 1

6.1.1. Composición química de los tratamientos

Los valores de la composición química y las fracciones de fibra (FDN y FDA) de los cuatro tratamientos en estudio, se presentan en el cuadro 3. Los valores muestran diferencias entre tratamientos en la mayoría de los componentes, lo cual es similar a lo reportado por varios autores (Santos *et al.*, 2008; Evangelista *et al.*, 2009; Camargo *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Composición química proximal de los tratamientos en estudio.

Componente	Tratamientos ¹			
	T1	T2	T3	T4
Materia seca	31.36	36.00	27.00	29.00
Materia orgánica	93.89	89.76	91.42	89.96
Proteína cruda	4.37	5.01	14.71	17.75
Grasa cruda (EE)	1.95	1.14	1.31	1.09
Fibra Cruda	13.80	14.52	17.14	19.12
FDN	49.54	54.38	53.83	44.91
FDA	20.89	27.14	22.3	18.34
Hemicelulosa	28.65	27.24	31.53	26.57
N-NH ₃	-	2.50	3.50	16.00
Cenizas	6.11	10.24	8.58	10.04
pH ²	6.90	3.58	4.30	4.75

¹ Tratamientos: T1) caña de azúcar fresca; T2) ensilado de caña de azúcar; T3) ensilado de caña de azúcar 1%; T4) ensilado de caña de azúcar 3%.

² Potencial de hidrogeniones

6.1.1.1. Materia seca

El contenido de MS de la caña de azúcar se puede considerar adecuada para los cuatro tratamientos. Estos valores encontrados en esta investigación son similares con lo reportado por Schmidt *et al.* (2007) que observo en los ensilajes de caña de azúcar tratados con aditivos químicos y bacterianos valores de MS que oscilan entre 29.7 y 30.9%; Rocha *et al.* (2009), reportan también valores similares al utilizar bacterias lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus buchneri*) y un inoculante comercial respectivamente, encontrando un valor promedio de 28.9% en MS.

Además, Pedroso *et al.* (2007) observaron en los ensilajes de caña de azúcar tratado con aditivos químicos valores que variaron entre 23.7 y 29.2%. Alli *et al.* (1983), evaluando el perfil de fermentación de los ensilajes de caña de azúcar tratados o no con hidróxido de amonio, observó una reducción de 4% de MS en el ensilaje tratado y testigo, respectivamente. Evangelista *et al.* (2003) encontró una reducción de 36.0 a 25.3% de MS en los diez días de fermentación en ensilajes tratados con hidróxido de amonio. En ambos estudios, la reducción de la MS puede ser atribuido al consumo de carbohidratos durante la fermentación. Se presentó una disminución promedio de 3.36% en el contenido de MS en los ensilajes con inóculo y aditivo en relación con la caña de azúcar fresca.

Las pérdidas de MS totales son consistentes con los resultados de la mayoría de los estudios que evaluaron las pérdidas en estos materiales. Schmidt (2009) afirmó, en 12 estudios en los que evaluó las pérdidas de materia seca en el ensilaje de caña de azúcar con *L. plantarum*, que en 10 hay pérdida por la inoculación, a un promedio de 128 g kg⁻¹. Según este autor, las pérdidas promedio en 19 ensayos con ensilado de caña de azúcar sin aditivos son 267 g kg⁻¹ de la MS, inferior que la observada en el presente trabajo.

6.1.1.2. Fracciones de fibra FDN y FDA

El contenido de FDN y FDA de los ensilajes así como el contenido de PC y ceniza aumentó después del proceso de ensilado. Estos efectos son probablemente debido a la pérdida de carbohidratos solubles durante la fase de fermentación, como se indica por la pérdida de MS (Ortiz *et al.*, 2012). Pedroso *et al.* (2007) también encontraron un aumento en el FDN y FDA en el ensilaje de caña de azúcar utilizando aditivos químicos y biológicos. Aunque el aumento en el contenido de fibra también está relacionado con el consumo de carbohidratos solubles, la correlación entre este efecto y la disminución en el valor nutricional no puede determinarse con precisión, debido a la transformación de los hidratos de carbono solubles en ácidos grasos volátiles.

Los valores de FDN y FDA mostraron diferencia entre tratamientos, diferentes resultados a los reportados por (Rezende *et al.*, 2007; Peláez *et al.*, 2008; Camargo *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2009). Schmidt (2006) trabajando con ensilado de caña de azúcar inoculado con urea, benzoato de sodio y bacterias lácticas, reportó un valor más alto para FDN (64.9%) y similar en FDA (42.0%) al de esta investigación. Se observó diferencia numérica en

los valores de hemicelulosa en los ensilados con respecto a la caña de azúcar sin ensilar, el T2 y T4 presentaron valores inferiores (27.24 y 26.57%) respectivamente y el T3 fue superior (31.53%) al T1. En este sentido, Aranda *et al.* (2004) encontró valores inferiores entre 14.8 a 20.2% en tres variedades de caña de azúcar; Rocha *et al.* (2009) reportó valores similares a T2 y T4 de 26.5% en ensilados de caña de azúcar inoculados con bacterias lácticas. Asimismo varios autores reportaron valores inferiores al presente trabajo, tanto en caña de azúcar sin ensilar como ensilada utilizando aditivos químicos y bacterianos (Schmidt, 2006; Ferreira, 2007; Camargo, 2007; Cavali *et al.*, 2010; Peláez *et al.*, 2011).

6.1.1.3. Proteína cruda

El valor medio de proteína cruda del ensilado sin inóculo y aditivo (5.01) fue ligeramente superior numéricamente (Cuadro 3) al valor de la caña de azúcar fresca (4.37), el efecto del inóculo y aditivo elevó los valores de PC en los ensilados inoculados (T3 y T4). Andrade *et al.* (2001) observaron un valor de PB de 9.4% en ensilados adicionados con 0.5% de urea y benzoato de sodio. Pedroso *et al.* (2006) aplicaron la misma dosis y observaron un valor de PC de 7.4% en ensilados adicionados con urea.

La PC presentó aumentos de 0.64 a 13.38 unidades porcentuales del T2 a T4 con respecto al T1, lo cual se atribuye a la proteína microbiana y al nitrógeno no proteico (NNP) del inóculo y aditivo (Shashirekha *et al.*, 2005; Peláez *et al.*, 2011). Los valores de PC en T3 y T4 fueron de 14.71 y 17.75%, superiores a los reportados por Peláez, *et al.* (2008) fermentando caña de azúcar con el hongo *Pleurotus sapidus* y similares a los mencionados por Palma (2003) utilizando un inóculo y aditivo similar al de este trabajo. La disminución de la MS y MO fue notable, lo que indica que fue debido a la actividad microbiana favorecida por el inóculo y aditivo, actuando sobre el sustrato y en la asimilación de carbohidratos solubles y compuestos de fácil digestión; resultados similares reportan varios autores (Rocha *et al.*, 2009; Rezende *et al.*, 2007), utilizando como aditivos urea 1.5%, benzoato de sodio 0.1% e hidróxido de sodio 1% y *Lactobacilos (plantarum, paracasei y buchneri)* respectivamente.

6.1.1.4. pH

Si se considera que un buen ensilaje debe tener un pH entre 3.7 y 4.2 (Cañete y Sancha, 1998), se aprecia que la inclusión del 1% de inóculo y aditivo (Cuadro 3) utilizados en este trabajo clasifica a estos ensilados como aceptables, desde el punto de vista de calidad fermentativa. La importancia de un valor de acidez bajo en el ensilaje, radica en que se reduce la proteólisis y se mejora la estabilidad de los aminoácidos (McDonald 1991). Similares valores en porcentaje de pH al de este trabajo reportan varios autores (Camargo *et al.*, 2009; Rezende *et al.*, 2010; Peláez, 2011). Inferiores valores reportaron Schmidt (2006) ensilando caña de azúcar con *L. plantarum* y *L. buchneri* de 3.35 y 3.46 respectivamente; Ortiz *et al.* (2012) utilizando como aditivos *L. plantarum* y *Propionibacterium acidopropionicas* 3.4 y Ferreira *et al.* (2007) con urea y Zeolita 3.4 a 3.7 y estos mismos autores utilizando bacterias lácticas reportaron un pH de 3.4.

6.1.1.5. Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

Se ha encontrado que un ensilaje de excelente calidad, se refleja en los valores de N-NH₃, los cuales oscilan entre el 5% y el 8%, respecto al N total (Peña y Del Pozo 1992). Concentraciones menores al 11% de N-NH₃ se califican como aceptables y un ensilaje de mala calidad es aquel que contiene valores de N-NH₃ superiores al 15%, (Moreno 1977). Para algunos autores la adición de urea es el factor determinante en el aumento de PC y N-NH₃, así Gonzales *et al.* (1995), al trabajar con ensilaje de maíz adicionando urea y leguminosa, obtuvo mayores valores de N-NH₃ y PC.

Contrariamente, Rezende *et al.* (2007), al tratar ensilaje de caña de azúcar con aditivos químicos y bacterianos observó que independientemente de la inoculación los ensilajes tratados con urea presentaron mayores contenidos de N-NH₃, debido a la hidrolización de la misma, transformándose en NH₃ que en combinación con agua producen hidróxido de amonio, reacción que al principio puede ser desfavorable, pero puede consistir en una ventaja para el control de levaduras.

En este sentido, el aumento de N-NH₃ en este trabajo del T4 (16%), se debió a la inclusión del inóculo y principalmente al aditivo. Los valores de 2.50% para T2 y 3.55 para T3 se pueden considerar bajos de acuerdo a lo mencionado por Peña y Del Pozo (1992) pero son superiores a los reportados por Schmidt (2006) incluyendo en sus experimentos al

ensilado de caña de azúcar benzoato de sodio, *L. plantarum* y *L. buchneri*, encontrando valores de 1.69, 1.75 y 1.82% respectivamente e inferiores al experimento que incluyó 0.5% de urea reportando el valor de 9.61%.

6.1.1.6. Cenizas

Los valores de cenizas de T2, T3 y T4, son superiores al contenido de esta fracción que presento la caña de azúcar fresca (T1). Los datos encontrados en este trabajo son superiores a los reportados por Schmidt (2006), Pedroso *et al.* (2005) y Junqueira (2006) que van de 7.2, 6.1 a 3.58% respectivamente. Por otra parte, Santos *et al.* (2009), en la evaluación de ensilajes de caña de azúcar utilizando como aditivo cal y piedra caliza, encontró valores de cenizas de 4.5 y 3.2%.

6.1.2. Digestibilidad *in situ* y variables ruminales

6.1.2.1. Materia seca

Los valores de digestibilidad *in situ* de la materia seca DISMS, (Cuadro 4) muestran diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos en todos los periodos de incubación, sobresaliendo el T4 ya que en promedio de las 8 a las 96 h de incubación alcanzo el valor más alto de digestibilidad (53.33%).

Cuadro 4. Digestibilidad *in situ* de la materia seca de caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	61.93b	56.60c	59.99bc	67.11a	1.15
72	60.75a	52.29b	51.04b	58.22a	0.89
48	56.80a	51.45b	51.31b	53.79ab	1.08
36	47.21a	44.08b	49.42a	47.46a	0.66
24	44.11b	43.60b	49.12a	46.55ab	0.86
12	38.61b	34.29c	37.48bc	51.12a	0.92
8	39.92b	32.06c	37.09b	49.07a	0.82

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = ensilado de caña de azúcar 1%, T4 = ensilado de caña de azúcar 3%.

²Error estándar de la media

La DISMS a las 48 y 72 h fue de 56.80 y 60.75% en el T1 superior ($P \leq 0.05$) a los demás tratamientos lo que indica la importancia de los azúcares de fácil digestión en la

digestibilidad total de la MS, que según Valdez y Leng (1975) son digeridos en un 100%. Generalmente, la digestibilidad de la caña integral está relacionada directamente con su composición morfológica. Mientras más porcentaje de tallo tiene una variedad, mayor es su digestibilidad (López *et al.*, 2003) debido a la mayor concentración de azúcares de fácil fermentación. Muñoz y González (1998) concluyeron que, debido a la presencia de carbohidratos solubles, la digestibilidad de la MS de la caña de azúcar es mayor que la de los pastos tropicales. Los resultados de Banda y Valdez (1976) apoyan esta afirmación, pues encontraron una correlación positiva entre la digestibilidad *in vitro* y los °Brix. Los valores de DISMS de la caña de azúcar fresca (T1) observada en este estudio a las 72 h de incubación coinciden con los resultados de Banda y Valdez (1976) y Aranda *et al.* (2004) quienes obtuvieron valores de digestibilidad similares (60 y 61.9%) respectivamente.

Junqueira (2006) avaluó dosis de urea e inoculando con *L. buchneri* en ensilados de caña de azúcar, encontró elevación en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca DIVMS, para las dosis crecientes de 1.0, 1.5 y 2.0% de benzoato de sodio (60.3; 61.4 y 62.4%, respectivamente), y menor digestibilidad para el tratamiento con aditivo bacteriano (59.4%). Estos valores son más elevados que los del presente experimento, probablemente en virtud de la menor concentración de carbohidratos estructurales en los ensilados, observados por este autor.

Siqueira (2005), trabajando con ensilados de caña de azúcar en silos experimentales, observó un coeficiente de DIVMS de 35.1, 37.7, 39.7, 34.6 y 48.4% para ensilados control y adicionados con urea, benzoato de sodio, *L. plantarum* y *L. buchneri*, respectivamente. Estos valores fueron menores que los observados en la presente investigación, debido al alto valor de FDN verificados por este autor en los ensilados analizados.

Así mismo, Rezende *et al.*, 2007 coinciden con lo anterior, mencionando que los valores observados se podían asociar al control de la levadura debido a los efectos aditivos asociativos. En este sentido, Rezende (2009) menciona que una de las consecuencias de la pérdida de MS es proporcional al incremento de los componentes fibrosos y la consiguiente reducción de la digestibilidad *in vitro* de la MS del forraje, en comparación con la caña de azúcar; en promedio, por cada unidad de incremento en la FDN, la DIVMS disminuye 0.83 unidades. Reportando que en los ensilajes sin aditivos, hubo un incremento de 16 puntos porcentuales de FDN lo que corresponde a una reducción de 13.3 puntos porcentuales de

digestibilidad. Este mismo comportamiento fue observado por varios investigadores trabajando con caña de azúcar fresca y ensilada utilizando diferentes aditivos químicos y bacterianos (Santos *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2008; Siqueira *et al.*, 2010; Peláez *et al.*, 2011). Asimismo, en la presente investigación fue similar el comportamiento (Cuadro 2 y 3) entre tratamientos ($P \leq 0.05$). En este sentido, el valor promedio de DISMS de la caña de azúcar fresca (T1:55.40%) la coloca como un forraje de alto valor para la alimentación de rumiantes. Atendiendo a lo planteado por (Molina *et al.*, 1999) al estudiar 74 variedades de caña de azúcar, encontrando valores de digestibilidad promedio de 54.1% de MS. Afirmando estos autores que se consideran como de alto valor forrajero aquellas variedades de caña de azúcar que como forraje integral muestran una digestibilidad de 50% o más para la MS, rechazándose las que presentan menos del 40%.

6.1.2.2. Materia orgánica

En cuanto a la digestibilidad *in situ* de la MO (cuadro 5) se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, observándose el mismo comportamiento que presento la DISMS, donde el T4 presento los valores superiores ($P \leq 0.05$) con respecto a los demás tratamientos, lo cual se puede explicar por la mayor concentración de la pared celular (FDN).

Cuadro 5. Digestibilidad *in situ* de la materia orgánica de la caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	57.88a	47.43b	60.21a	63.16a	2.35
72	56.66b	56.66b	44.65c	64.28a	0.90
48	50.70bc	45.87c	53.80b	61.90a	1.50
36	52.29b	47.50c	49.77c	60.30a	1.06
24	50.13b	56.30a	55.44a	55.30a	0.85
12	46.01b	44.12b	45.64b	54.75a	1.45
8	54.20ab	45.70cb	38.73c	61.45a	2.96

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = ensilado de caña de azúcar 1%, T4 = ensilado de caña de azúcar 3%.

²Error estándar de la media

Estos resultados son similares a los encontrados por Schmidt (2006), y Jarrige (1981) quienes mencionan que la digestibilidad de la materia orgánica de los forrajes está

estrechamente ligada a la de las paredes celulares, de forma que la materia orgánica aparentemente indigestible del forraje depende esencialmente de la fracción indigestible de las paredes, por lo que la variación en la digestibilidad de los forrajes entre variedades es mayor que la variación entre especies.

6.1.2.3. Fibra detergente neutra

Los valores de la digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutra se presentan en el cuadro 6, con diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 6. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutra de la caña de azúcar fresca, ensilado de la caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	51.31	51.20	54.55	53.44	0.907
72	46.40a	39.34c	45.57a	43.01b	0.474
48	30.50d	34.98b	42.35a	32.85c	0.485
36	20.26c	30.52b	34.42a	32.99a	0.602
24	14.88c	25.25b	39.82a	21.82b	0.907
12	6.20c	6.95c	22.32b	36.92a	0.511
8	5.97c	11.14b	21.53a	21.09a	0.559

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = ensilado de caña de azúcar 1%, T4 = ensilado de caña de azúcar 3%.

² Error estándar de la media

El T3 presentó los valores superiores ($P \leq 0.05$) de las 24 a 96 h en FDN probablemente en función de la mayor concentración de hemicelulosa (31.53%) e influenciada principalmente por el inóculo y aditivo, asumiendo una alta concentración de microorganismos ruminales, principalmente celulolíticos. Cavali *et al.* (2010) encontró valores superiores (55.2%) en la degradación de FDN en ensilajes de caña de azúcar adicionados con oxido de calcio, estos autores mencionan que este hecho, es probablemente debido a la rotura de las conexiones entre las fracciones de la celulosa y la hemicelulosa como resultado de la hidrólisis alcalina del oxido de calcio.

6.1.2.4. Fibra detergente ácida

Los resultados de digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácida se muestran en el cuadro 7, observándose diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos.

El T3 presentó los valores superiores ($P \leq 0.05$) en comparación con los demás tratamientos en la mayoría de los tiempos de incubación, excepto a las 72 h donde se observó una diferencia numérica con los demás tratamientos. Aranda *et al.* (2004) encontraron el mismo comportamiento en su investigación, mencionando que al fraccionar

Cuadro 7. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácida de la caña de azúcar fresca, ensilado de la caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar al 1% y 3% de inóculo y aditivo.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	26.85ab	23.92b	35.64a	24.59b	3.00
72	29.32	27.27	24.57	17.30	3.98
48	22.44a	13.74b	26.97a	5.34c	1.98
36	5.39b	1.27c	17.82a	4.78b	0.52
24	3.86b	3.15b	14.47a	2.13b	1.31
12	3.02b	2.43b	9.59a	5.56ab	1.06
8	2.59b	3.34b	12.94a	5.37ab	2.11

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = ensilado de caña de azúcar 1%, T4 = ensilado de caña de azúcar 3%.

²Error estándar de la media

la caña de azúcar para conocer que componente de la fibra es el de más limitaciones, se encontró una mayor degradación de la hemicelulosa que de la celulosa, lo cual puede deberse posiblemente, a la alta cantidad de lignina encontrada en la caña de azúcar y que éstos formen enlaces lignocelulósicos.

Por lo anterior y los resultados encontrados en esta investigación, indica que el ensilaje y la adición de inóculo y aditivo mejoran la disponibilidad de los componentes nutritivos existiendo un efecto benéfico en los microorganismos ruminales cuando son incorporados en la alimentación de rumiantes Wallace *et al.* (2001).

6.1.2.5. pH ruminal

Los valores de pH ruminal (Cuadro 8) no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos, pero si se observó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre el mismo tratamiento a través del tiempo. El ensilado de caña de azúcar fresca mostró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre las 4 y 10 h después de la ingestión del alimento. De igual forma el ensilado de caña de azúcar (T2) ($P \leq 0.05$) entre las 2 y 8 h y el ensilado de caña de azúcar 1% (T3) a las 12 h. Se observó diferencia numérica entre tratamientos,

donde en promedio el T4 presento el valor más bajo (6.52) a través del tiempo, en comparación con los demás tratamientos.

Cuadro 8. Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% sobre el pH ruminal a través del tiempo.

Hora	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
-1	7.30	7.20	7.00	6.48	0.14
0	6.93	7.03	6.76	6.25	0.14
2	6.90	↑7.27	7.07	6.65	0.14
4	↑7.46	7.62	7.09	6.54	0.14
6	7.19	7.57	7.10	6.46	0.14
8	7.19	↓7.04	6.77	6.47	0.14
10	↓6.72	6.64	6.51	6.53	0.14
12	6.68	6.60	↑6.98	6.57	0.14
Promedios	7.02a	7.15a	6.91a	6.52b	0.14

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = ensilado de caña de azúcar 1%, T4 = ensilado de caña de azúcar 3%.

²Error estándar de la media.

Los valores encontrados en todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos normales de pH en rumen, sin embargo, en el caso del T4 es posible que la alta concentración de inoculo y aditivo, causa una mayor acumulación de ácido láctico en el ensilado, en comparación con los otros tratamientos, causando con ello una ligera disminución en el pH ruminal. Lo cual se debió posiblemente, por la menor concentración de FDN, relacionada con fibra efectiva o fibra funcional (FNDe), la cual se define como la capacidad real de la fibra para estimular la rumia y la salivación Calsamiglia y Ferret (2002).

Este comportamiento también pudo estar influenciado porque los animales que consumen forraje de caña como ración básica tienen que realizar gran actividad de remasticación durante la rumia Aranda (2000). Durante este acto fisiológico se producen grandes cantidades de saliva (De Arriba, 1988). Estas, por su alto contenido de sustancias amortiguadoras, que pudieran ser un factor importante que determine el mantenimiento del pH ruminal cerca de la neutralidad.

Vargas *et al.* (1992) utilizando cogollo de caña de azúcar para alimentar ovejas africanas, reportando valores de pH ruminal entre 6.6 a 6.8 a las 3 h después de servir el alimento y de 6.7 a 6.8 después de las 6 h. Camargo (2007) reportó valores de 6.3, 6.2, 6.4 y 6.4 en líquido ruminal de ovinos alimentados con caña de azúcar fresca, ensilado de caña, ensilado de caña con cal virgen y ensilado de caña con piedra caliza. Similares resultados al presente estudio reportan Rodríguez *et al.* (2006) trabajando con bovinos alimentados con forraje de caña de azúcar, encontrando un valor promedio de 7.02 de 0 a 24 h después de la alimentación.

Walsh *et al.* (2009), que evaluaron el incremento en el porcentaje de grano, que van desde 0 a 900 g kg⁻¹, de ensilaje de cebada, observándose una disminución lineal en los valores de pH, la relación acético:propiónico y aumento lineal del ácido propiónico y al amoniaco, los autores atribuyen estos efectos a una mayor participación de almidón en la dieta. Rezende (2009) alimentando bovinos de carne en confinamiento con ensilado de sorgo encontró un pH ruminal de 6.2, y utilizando caña de azúcar fresca, ensilado de caña de azúcar, ensilado de caña de azúcar inoculada con *L. buchneri*, ensilado de azúcar de caña quemada y ensilado de azúcar quemada inoculada con *L. buchneri*, observó valores menores comparados con los de T1, T2 y T3 y similares a los de T4 de la presente investigación. Este autor explica el valor más bajo de pH puede deberse al mayor consumo de almidón en el ensilado de sorgo y según Santos (2006), cuando el almidón y azúcares predominan en la dieta, microorganismos amilolíticos digieren esos carbohidratos y aumenta la proporción de ácido propiónico con respecto al ácido acético y butírico. Como los microorganismos que digieren azúcares y almidones se multiplican más rápidamente que celulolíticos y hemicelulolíticos, y la tasa de digestión de los hidratos de carbono es más rápida que cuando la celulosa y la hemicelulosa se fermentan, el pH ruminal es más bajo.

6.1.2.6. Ácidos grasos volátiles

Los resultados de la concentración individual de AGV se muestran en el Cuadro 9. Se observan diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0.05$) para la concentración de ácido acético a las -1, 0, 4, 8 y 10 h, siendo menor la concentración promedio en el ensilado

Cuadro 9. Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración individual de ácidos grasos volátiles en rumen.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
mmol L ⁻¹					
Acético					
-1	22.4a	4.20b	13.27ab	9.32b	2.20
0	14.74ab	4.10ab	↑25.86a	5.50b	2.20
2	14.08	2.95	↓11.18	12.31	2.20
4	13.12ab	3.28b	9.65ab	16.74a	2.20
6	14.03	7.97	10.17	17.01	2.20
8	11.30ab	6.54b	5.80b	19.75a	2.20
10	9.10ab	2.36b	6.87b	18.53a	2.20
12	15.58	4.96	8.21	14.31	2.20
EET ³	2.59	2.59	2.59	2.59	
Propiónico					
-1	6.95a	2.96b	4.32ab	4.57a	0.62
0	5.39b	3.27b	↑8.90a	3.10bc	0.62
2	5.20	2.65	↓4.62	5.12	0.62
4	5.11ab	2.65b	4.16ab	6.65a	0.62
6	5.15	4.12	4.59	6.45	0.62
8	4.41ab	3.82b	3.18b	7.24a	0.62
10	4.32b	2.49b	3.32b	7.64a	0.62
12	6.49	3.67	3.81	6.01	0.62
EET ³	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
Butírico					
-1	5.15a	1.55b	1.84ab	3.77a	0.41
0	4.21a	1.79b	↑4.18a	2.22ab	0.41
2	4.47a	1.65b	↓1.75b	3.99ab	0.41
4	4.53ab	1.48b	1.64b	5.48a	0.41
6	4.75a	2.13b	2.02ab	4.76a	0.41
8	4.14a	2.11ab	1.33b	4.77a	0.41
10	3.81b	1.54bc	2.06b	↑7.22a	0.41
12	↑9.39a	2.34b	1.64ab	↓5.14ab	0.41
EET ³	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = Ensilado de caña de azúcar con el 1% de inoculo y aditivo y T4 = ensilado de caña de azúcar con el 3% de inoculo y aditivo.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

sin inóculo y aditivo, presentando el valor promedio superior el T1 y T4 comparados con los demás tratamientos.

Así mismo, en la concentración de ácido acético a través del tiempo no se observó diferencia significativa ($P > 0.05$) comparada entre el mismo tratamiento en T1, T2 y T4, pero sí en el T3 donde mostró un incremento ($P \leq 0.05$) a las 0 h, y una disminución ($P \leq 0.05$) a las 2 h después de la alimentación.

La concentración del ácido propiónico mostró el mismo comportamiento que el acético, observándose diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$) en las -1, 0, 4, 8 y 10 h, y diferencia significativa ($P \leq 0.05$) a través del tiempo en el T3, reflejando incremento a las 0 h y declinación a las 2 h.

Cuadro 10. Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración de ácidos grasos volátiles totales en rumen.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	Mmol L ⁻¹				
-1	34.52a	8.75b	19.43ab	17.64b	3.17
0	24.36ab	9.18b	↑38.93a	10.81b	3.17
2	23.77a	7.29b	↓17.54ab	21.4ab	3.17
4	22.78ab	7.45b	15.46ab	28.86a	3.17
6	23.93	14.24	16.78	28.20	3.17
8	19.86ab	12.50b	10.31b	31.75a	3.17
10	17.24b	6.43b	12.25b	33.37a	3.17
12	31.48a	11.01b	13.66b	25.44ab	3.17
EET ³	3.62	3.62	3.62	3.62	

^{a, b}Valores :en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = Ensilado de caña de azúcar con el 1% de inóculo y aditivo y T4 = ensilado de caña de azúcar con el 3% de inóculo y aditivo.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

Los valores del ácido butírico presentaron diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$) en todas las h, mostrando los valores promedio superiores ($P \leq 0.05$) el T4 y T1 comparados con T2 y T3. Así mismo, presentó comportamiento similar en la concentración a través del tiempo entre el mismo tratamiento, presentando un incremento ($P \leq 0.05$) a las 0 h y una disminución a las 2 h después de la alimentación.

La concentración total de AGV (Cuadro 10) fue diferente entre tratamientos ($P \leq 0.05$), observándose los valores más bajos en T2 en la mayoría de las h de incubación, excepto a las 6 h donde no mostró diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$). Así mismo se observó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) en el T3 a las 0 h, disminuyendo ($P \leq 0.05$) a las 2 h pos alimentación.

La concentración individual y total de AGV fue menor en el tratamiento de ensilado de caña de azúcar sin inóculo y aditivo, estos resultados son inferiores a los encontrados por Rezende (2009), reportando valores promedio de ácido acético (71.2 Mmol), ácido propiónico (17.3 Mmol) y butírico (16.3 Mmol), y una concentración de AGV total (104.8 Mmol). Silveira *et al.*, (2002) observaron concentraciones de acético (65.2 Mmol), propiónico (12.47 Mmol) y butírico (8.25 Mmol) superiores al presente estudio. Por otra parte, Schmidt *et al.* (2007b) alimentando toros de raza Nelore con concentrado y ensilado de caña de azúcar en la dieta, observaron valores más bajos a los anteriores trabajos de ácido acético (60.90 Mmol), butírico (10.20 Mmol) y superior en el ácido propiónico (19.30 Mmol).

6.1.2.7. Nitrógeno amoniacal

Los resultados de la concentración ruminal de $N-NH_3$ se presentan en el Cuadro 11. Los valores de $N-NH_3$, presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos en todas las h de incubación, tanto antes como después de la alimentación, siendo mayor en el T4 pero no diferentes al T3 en la -1 h antes de la alimentación y en las 10 y 12 h después de la alimentación. Se observó una disminución significativa ($P \leq 0.05$) entre el mismo tratamiento a través del tiempo en T1, T2 y T3 en las 2, 4 y 0 h, respectivamente, y un incremento significativo ($P \leq 0.05$) entre el mismo tratamiento en T4 y T3 en las 6 y 10 h, respectivamente. Así mismo, se presentó un decremento significativo ($P \leq 0.05$) entre el mismo tratamiento a través del tiempo en T4 a las 8 h.

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los reportados por Rojo *et al.*, (2000) quienes trabajaron con dietas basadas en pastos tropicales con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. Estos autores no encontraron efecto de tratamientos en esta variable, a pesar de que la concentración de NH_3 se midió una sola vez.

Cuadro 11. Efecto de la CAF, ECA, ECA 1% y ECA 3% en la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal a través del tiempo.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	mg dL ⁻¹				
-1	2.53b	3.00ab	6.24a	5.37a	5.158
0	3.68a	1.95ab	↓0.73b	4.24a	5.158
2	↓1.09b	2.82ab	2.92ab	4.74a	5.158
4	2.32a	↓0.27b	1.37ab	5.93a	5.158
6	0.71b	0.81ab	2.18ab	↑9.00a	5.158
8	0.02b	1.72ab	2.06ab	↓3.86a	5.158
10	1.09b	2.23b	↑9.63a	↑7.50a	5.158
12	0.66b	2.54b	↓6.30a	6.66a	5.158
EET ³	0.518	0.518	0.518	0.518	

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = caña de azúcar fresca, T2 = ensilado de caña de azúcar, T3 = Ensilado de caña de azúcar con el 1% de inoculo y aditivo y T4 = ensilado de caña de azúcar con el 3% de inoculo y aditivo.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los reportados por Rojo *et al.*, (2000) quienes trabajaron con dietas basadas en pastos tropicales con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. Estos autores no encontraron efecto de tratamientos en esta variable, a pesar de que la concentración de NH₃ se midió una sola vez.

6.2. Resultados y discusión del experimento 2.

6.2.1. Composición química de los tratamientos

Los resultados de la composición química de las dietas experimentales se muestran en el cuadro 12. Los valores de la concentración de MS fluctuaron de 45.5 a 53.0 % y los de PC en 19.32 a 21.18 %.

Cuadro 12. Análisis químico proximal de raciones integrales con base en ensilado de caña de azúcar al 1% con diferente fuente de proteína.

Componente	Tratamientos ¹			
	T1	T2	T3	T4
	(%)			
Materia seca	49.30	45.50	50.45	53.00
Materia orgánica	93.80	85.64	93.15	92.86
Proteína cruda	19.39	21.18	21.06	19.32
Fibra Cruda	24.98	27.63	29.32	25.40
NNP ²	1.09	1.38	0.95	0.52
FDN ³	24.31	27.76	33.89	49.50
FDA ⁴	11.77	11.46	17.59	26.98
Hemicelulosa	12.54	16.30	16.30	22.52
Cenizas	6.2	14.36	6.85	7.14

¹T1 = ECA1% + pasta de soya; T2 = ECA1% + harina de pescado; T3 = ECA1% + pasta de canola; T4 = ECA1% + pasta de coco.

²Nitrógeno no proteico.

³Fibra detergente neutra.

⁴Fibra detergente ácida.

6.2.2. Digestibilidad *in situ* y variables ruminales

6.2.2.1. Materia seca

En el cuadro 13, se presenta el efecto de ingredientes proteicos en dietas integrales con base en ensilado de caña de azúcar sobre la DISMS. Los valores observados muestran diferencia significativa en los tratamientos, presentando los valores más altos el T1 que en promedio fue de 74.56%, seguido del T3 con un promedio de 70.63%.

Cuadro 13. Digestibilidad *in situ* de la materia seca del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	86.57a	72.14d	83.10b	79.87c	0.45
72	85.83a	67.22d	80.32b	77.31c	0.39
48	84.71a	64.73d	79.45b	76.34c	0.43
36	78.80a	61.15c	75.76b	73.66b	0.62
24	68.42a	50.71b	64.58a	64.77a	1.05
12	63.22a	50.38c	58.26b	62.75a	1.11
8	54.41a	47.37b	52.96a	50.86ab	0.96

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soya; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

Dupchak (2004) menciona que al utilizar forraje de caña de azúcar en forma de dieta integral, la mejora de los valores en la digestibilidad de la materia seca pueden estar dados porque el animal consume una dieta más balanceada en nutrientes. Esto posibilita mejores condiciones en el rumen para el desarrollo de las poblaciones microbianas. Se plantea que, cuando se ofertan dietas integrales ocurre una fermentación sincronizada y se logra una alta eficiencia alimentaria, debido a la mayor estabilidad en el patrón de fermentación ruminal. La dieta integral permite que el animal consuma pequeñas cantidades de alimentos balanceados con más frecuencia durante el día.

Comparando los resultados del presente trabajo, Galina *et al.* (2002) reportaron un valor superior en 5% (79.2%) a T1, alimentando becerros con una dieta integral con base en punta de caña de azúcar y ensilado de maíz y suplementados con bloques proteicos y un valor similar (58.7%) a T2, utilizando punta de caña de azúcar (80%) y ensilado de maíz (20%) y suplementados con un concentrado conteniendo el 40% de maíz y 10% de pasta de soya. La mayor digestibilidad de la dieta se debió a un aumento en la fermentación ruminal, evidenciado por la tasa de desaparición de la fibra, lo que demostró que el uso del bloque aumentó la digestibilidad por el incremento de la energía de la melaza Galina *et al.* (2002). Ferreiro y Preston (1977) y Ferreiro *et al.* (1977) obtuvieron una digestibilidad del 61% con una dieta de 100% de caña, menor que la observada por Galina *et al.* (2002), que fue de 72 y 79%. San Martin *et al.* (1983) encontraron una digestibilidad de la MS del 45% a las 48 h. En este sentido, Camargo (2007) encontró un valor promedio similar (74.6%) a T1, alimentando borregos con raciones integrales con base en caña de azúcar natural o ensilado de caña de azúcar con 17.9% de proteína bruta PB. De la misma forma, Gentil (2006) alimentó cabras con raciones conteniendo caña de azúcar fresca y ensilada, tratada con diferentes aditivos, encontró un valor medio de digestibilidad considerando todas las raciones de 75.8%, mientras que en el presente trabajo fue de 68.4%. Asimismo, Schmidt (2006) experimentando con bovinos de carne alimentados con dietas conteniendo ensilaje de caña de azúcar inoculado o no, las raciones presentaron un valor medio de digestibilidad *in vitro* de la MS de 67.2%.

Rojo *et al.* (2000) trabajaron con animales en pastoreo a libre acceso en dos praderas mixtas de gramíneas (*Paspalum conjugatum*, *Cynodon plectostachyus* y *Brachiaria mutica*), estudiaron cinco tratamientos: Testigo: Pastoreo; S1: Pastoreo, 2% de

urea (50% del nitrógeno en el suplemento) y 2% de harina de carne (50% del nitrógeno en el suplemento); S2: Pastoreo y 4% de urea (100% del nitrógeno en la dieta); S1+Sc: S1 y 10 g de *Saccharomyces cerevisiae*; S2 + Sc: S2 10 g y de *Saccharomyces cerevisiae*. Reportaron valores de la digestibilidad ruminal de 64.6% en promedio, lo cual representa 3.4% por abajo de lo encontrado en la presente investigación. Estos resultados son importantes, ya que la principal fuente de alimentación de los bovinos productores de carne en las regiones tropicales son los pastos, y coinciden con trabajos que han demostrado la importancia de suplementar con proteína degradable en rumen (urea) en dietas basadas con forrajes de baja calidad, las cuales incrementan la cantidad de nitrógeno amoniacal en el rumen y como consecuencia incrementan la digestibilidad, consumo voluntario y síntesis de proteína microbiana (Leng y Nolan, 1982; Ramos *et al*, 1998).

6.2.2.2. Materia orgánica

Los valores de digestibilidad *in situ* de la MO del presente estudio se muestran en el cuadro 14, observándose diferencia significativa entre los tratamientos ($P > 0.05$). T2 mostró el valor numérico promedio más bajo a las 8 y 72 h.

Cuadro 14. Digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
h			%		
96	71.49a	52.36b	65.85a	71.10a	2.12
72	73.01a	43.25c	65.15b	67.81ab	2.01
48	72.30a	47.96b	66.07a	60.73a	3.16
36	67.48a	42.06b	62.11a	67.15a	2.83
24	52.80a	38.50b	53.46a	59.93a	2.63
12	59.67a	50.14b	48.36b	63.63a	2.53
8	50.22ab	43.24b	48.36ab	59.12a	3.16

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soja; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

Camargo (2007) reportó un valor superior promedio en esta variable 76.4%. Por su parte, Schmidt (2006) observó en bovinos alimentados con raciones con base en ensilado de caña de azúcar un valor medio de 67.8% en la digestibilidad de la MO. Hadjipanayiotou

(1984), menciona una disminución en la digestibilidad de los ensilados, como respuesta a la adición creciente de pollinaza en paja de cebada con proporciones 1:1 (pollinaza: paja de cebada) y 2:1 (pollinaza: paja de cebada), cuantificando valores de digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de 37 y 35%, respectivamente.

6.2.2.3. Fibra detergente neutra

La digestibilidad ruminal de la FDN mostró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los tratamientos (Cuadro 15). El T4 presentó los valores superiores de las 12 a 96 h de incubación.

Cuadro 15. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutra del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	65.03a	43.62b	70.81a	72.54a	2.25
72	55.05b	39.17c	66.24a	70.12a	2.77
48	57.47b	34.60c	64.40ab	68.20a	1.95
36	46.52b	31.20c	51.35b	64.93a	1.8
24	33.12c	30.94c	41.69b	55.38a	2.00
12	30.25c	31.01c	41.21b	54.28a	2.51
8	27.21c	51.39a	28.04c	43.11b	7.14

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soya; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

6.2.2.4. Fibra detergente ácida

El mismo comportamiento se observó para la FDA (Cuadro 16). Esto se puede explicar por el más alto tenor de FDN en la dieta y por ende mayor concentración de hemicelulosa, asimismo por la menor concentración de azúcares fermentables en la dieta provenientes del ensilado de caña de azúcar, aumentando la población bacteriana provocando un mayor aprovechamiento de la proteína disponible en el rumen y por lo tanto superiores índices de digestibilidad de las fracciones de fibra.

Cuadro 16. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácida del ensilado de caña de azúcar al 1% de inóculo y aditivo con diferente fuente de proteína.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamiento ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	%				
96	47.93	52.00	55.71	55.21	2.73
72	46.30a	36.68b	51.92a	53.21a	2.40
48	46.86	43.51	48.24	51.92	2.87
36	36.09b	58.10a	54.22a	53.74a	2.13
24	46.11a	34.76b	32.38b	48.22a	1.55
12	43.25ab	41.90ab	36.17b	44.06a	2.00
8	25.04b	31.35ab	36.87a	30.35ab	1.89

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soya; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

Resultados similares encontró Rojo *et al* (2000) en toretes en pastoreo con suplementación nitrogenada con *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) y sin Sc, obteniéndose una mayor ($P > 0.05$) digestibilidad ruminal de FDA (sin Sc: 71.63 vs con Sc: 73.35%) por efecto de este aditivo. Con respecto a la FDN no presento diferencia ($P > 0.05$) (sin Sc: 78.74 vs con Sc: 79.08%). Este incremento de la digestibilidad ruminal de la FDA por efecto de la suplementación nitrogenada, principalmente en forma de nitrógeno no proteínico, se podría explicar en función a la cantidad de N-NH₃ liberado durante las primeras horas después de la suplementación.

6.2.2.5. pH ruminal

Los valores de pH se presentan en el Cuadro 17; no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, pero si entre el mismo tratamiento a través del tiempo, donde a las 4 h se observo un descenso ($P \leq 0.05$) del pH en T1 y T2.

El T3 presento el mayor valor medio de pH ruminal a través del tiempo en relación al T1 que presento el valor medio menor. El T3 mostro diferencia significativa ($P \leq 0.05$) a través del tiempo a las 8 h y el T4 en las 2 y 10 h. Este comportamiento lo explica la alta concentración de forraje con base en ensilado de caña de azúcar, un promedio de 56.25% incluyendo los cuatro tratamientos, con lo cual se tiene un mayor tiempo de rumia

produciéndose así un mayor volumen de saliva incluida una alta concentración de bicarbonato de sodio para amortiguar el medio ruminal (pH).

Cuadro 17. Efecto del ECA 1% con diferente fuente de proteína en el pH ruminal a través del tiempo.

Hora	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
-1	7.64	7.65	7.75	7.64	0.055
0	7.61	7.66	7.84	7.76	0.055
2	7.53	7.64	7.54	↓7.53	0.055
4	↓7.38	↓7.56	7.55	7.50	0.055
6	7.39	7.55	7.51	7.38	0.055
8	7.22	7.49	↓7.40	7.33	0.055
10	7.07	7.25	7.14	↓6.91	0.055
12	7.06	7.16	7.29	6.91	0.055
Promedio	7.36	7.49	7.51	7.37	0.060
EET ³	0.060	0.060	0.060	0.060	

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soya; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

Aranda (2000) menciona que esta respuesta también pudo estar influenciado porque los animales que consumen forraje de caña como ración básica, tienen que realizar gran actividad de remasticación durante la rumia. Durante este acto fisiológico se produce grande cantidad de saliva (De Arriba, 1988) que por su alto contenido de sustancias buferantes, pudieran ser un factor importante que determine el mantenimiento del pH ruminal cerca de la neutralidad.

La dieta integral permite que el animal consuma pequeñas cantidades de alimentos balanceados con más frecuencia durante el día. Esto garantiza que cada bocado contenga un balance predeterminado de nutrientes para los microorganismos del rumen, mayor estabilidad del pH ruminal y eficiencia en la utilización de la energía y la proteína (Dupchak, 2004).

Abdelhadi (2007) encontró un valor promedio de pH ruminal de 7.01 ± 0.4 en bovinos suplementados con ensilaje de maíz con un mínimo de 12% en la dieta hasta un máximo de 67%, sin diferencias significativas ($P > 0.05$) con los valores de 6.97 ± 0.5 ,

registrados en los animales testigo. Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2006) alimentando bovinos con forraje de caña y granulado Jordán® comparado con una dieta integral con base en caña de azúcar encontró valores de pH ruminal entre 6.73 a 7.38 y 5.81 a 7.10, respectivamente. De igual forma Camargo (2007) reportó valores de pH de un máximo a las 0 h de 6.8 y un mínimo de 6.1 a las 6 h después de la alimentación, observándose un ligero incremento a las 12 h.

Schmidt *et al.* (2007) evaluaron parámetros ruminales de bovinos alimentados con raciones conteniendo ensilado de caña de azúcar verificando un pH ruminal semejante al del presente trabajo, con reducción en los valores después de la comida, con valores variando entre 7.2 a 6.4. Según Strobel y Russel (1986) un pH ruminal puede variar de 5.5 a 7.2, con valores bajos de pH siendo detectados en intervalos de tiempos cortos, después de la alimentación a los animales. El pH ruminal al encontrarse por abajo de 6.0 puede inhibir el crecimiento y la actividad de las bacterias fermentadoras de celulosa y disminuir significativamente la síntesis de proteína microbiana. En el presente trabajo, los valores promedio de pH ruminal de los tratamientos varían entre 7.51 y 7.36, indicando un contenido adecuado de FDN de las raciones para mantener la estabilidad del medio ambiente ruminal y favorecer la digestión de la materia orgánica.

6.2.2.6. Ácidos grasos volátiles

Los resultados de la concentración de AGV se incluyen en el Cuadro 18. Se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos, para la concentración de acético entre las 2 a 12 h después de la alimentación, siendo menor en el T2 con una concentración media de 15.52 Mmol L⁻¹, en comparación con los otros tratamientos. Se observó un descenso significativo ($P \leq 0.05$) a través del tiempo en el T1 a las 4 h y 12 h, en el T3 a las 8 h y en el T4 un ascenso a las 8 h.

El ácido propiónico presentó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos entre las 4 y 10 h después de la alimentación, presentando en promedio la menor concentración el T2 con 5.78 Mmol L⁻¹ y la mayor el T1 con 8.19 Mmol L⁻¹, observándose el mismo comportamiento que en el acético a través del tiempo.

Cuadro 18. Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico, en la concentración ruminal individual de ácidos grasos volátiles.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
Mmol L ⁻¹					
Acético					
-1	23.49	18.63	22.96	26.30	3.17
0	25.22	18.05	17.64	15.22	3.17
2	28.54a	12.93b	14.81ab	12.52b	3.17
4	↓10.73b	26.61a	11.02b	17.33ab	3.17
6	↑31.00a	13.81b	20.55ab	14.47b	3.17
8	32.85a	12.93b	27.07a	↑29.96a	3.17
10	30.74a	9.38b	↓8.29b	17.70ab	3.17
12	↓15.03ab	11.86ab	7.13b	25.35a	3.17
EET ³	2.71	2.71	2.71	2.71	
Propiónico					
-1	7.41	6.99	7.35	8.04	0.84
0	7.90	5.99	5.99	5.32	0.84
2	9.83a	5.26b	6.06ab	5.06b	0.84
4	↓4.28b	8.82a	5.10ab	6.42ab	0.84
6	↑9.91a	4.94b	7.92ab	5.13b	0.84
8	10.05a	4.90b	9.38ab	↑9.11a	0.84
10	10.03a	4.53b	↓4.26b	6.47ab	0.84
12	6.16	4.82	3.61	6.90	0.84
EET	0.69	0.69	0.69	0.69	
Butírico					
-1	4.29	4.50	4.20	7.59	0.74
0	4.86	3.65	3.34	4.43	0.74
2	6.46	3.24	4.23	5.07	0.74
4	↓2.78	6.21	3.11	6.21	0.74
6	↑6.56a	3.17b	5.14ab	4.63ab	0.74
8	6.56ab	3.33b	6.27ab	↑9.28a	0.74
10	7.21a	3.13b	3.01b	↓5.43ab	0.74
12	4.43b	3.29b	2.56b	7.97a	0.74
EET	0.58	0.58	0.58	0.58	

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soja; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

En el ácido butírico se reflejo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre tratamientos entre las 6 y 12 h, una disminución y aumento ($P \leq 0.05$) en las 4 y 6 h, respectivamente en T1 y el mismo comportamiento en T4 a las 8 y 10 h después de la alimentación.

La concentración total de AGV fue diferente entre los tratamientos ($P \leq 0.05$), a partir de las 2 h después de la alimentación, siendo menor en T3 a las 12 h y en T2 a las 10 h (Cuadro 19).

Cuadro19. Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico, en la concentración ruminal total de ácidos grasos volátiles

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	Mmol L ⁻¹				
-1	35.20	30.12	34.41	41.94	4.67
0	37.98	27.69	26.98	24.98	4.67
2	44.83a	21.43b	25.11ab	22.66b	4.67
4	↓17.80b	41.63a	19.23b	29.97ab	4.67
6	↑48.16a	21.93b	33.62ab	24.23b	4.67
8	49.47a	21.17b	42.74ab	↑48.36a	4.67
10	47.99a	17.06b	↓15.57b	31.60ab	4.67
12	↓25.63ab	19.97ab	13.30b	40.23a	4.67
EET ³	3.82	3.82	3.82	3.82	

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soja; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

La concentración total media superior se presento en T1 (38.38 Mmol L⁻¹) y la inferior el T2 (25.12 Mmol L⁻¹). En T1 se observo disminución significativa ($P \leq 0.05$) entre tratamiento a través del tiempo a las 4 y 12 h después de la alimentación, en T3 a las 10 h y en T4 se reflejo un aumento significativo ($P \leq 0.05$) a través del tiempo a las 8 h.

En el presente trabajo se encontró que la concentración tanto individual como total entre tratamientos de AGV fue menor ($P \leq 0.05$) en T2 (Cuadro 18 y 19), y no presento diferencia significativa ($P > 0.05$) entre el mismo tratamiento a través del tiempo. Estos resultados de la presente investigación son diferentes a los encontrados por Camargo

(2007), que trabajando con borregos alimentados con raciones conteniendo caña de azúcar natural y ensilada con o sin aditivos químicos no encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos en la concentración total de AGV y la concentración de acetato, donde los valores medios fueron de 74.4 y 42.6 Mmol L^{-1} , respectivamente. Comportamiento similar reportaron Castrilloón *et al.* (1978) que evaluaron parámetros ruminales en borregos alimentados con raciones conteniendo ensilado de caña de azúcar tratada con hidróxido de sodio y no encontraron diferencia ($P > 0.05$) en las concentraciones de AGV totales y acetato entre los tratamientos. Por otro lado, Schmidt *et al.* (2007) utilizaron bovinos de carne alimentados con ensilados de caña de azúcar tratados con aditivos químicos y microbianos y encontraron diferencias ($P \leq 0.05$) en las concentraciones ruminales de AGV entre tratamientos. De la misma forma, Alcántara *et al.*, (1989) trabajaron con corderos alimentados con raciones conteniendo caña de azúcar fresca y ensilado tratada con hidróxido de sodio y observaron superioridad en la concentración de acetato en los ensilados, encontrando valores medios de 0.26 y 0.29 $\text{g}100 \text{ mL}^{-1}$ de acetato ruminal en los tratamientos con caña de azúcar natural y ensilada, respectivamente. De acuerdo a Reis y Da Silva (2006) la concentración de los ácidos producidos durante el proceso de fermentación de los ensilajes se puede determinar el balance de AGV producidos en el rumen.

Rodríguez *et al.*, (2006) estudiaron el efecto de diferentes sistemas de alimentación en bovinos, basados en forraje de caña de azúcar en tres tratamientos: A) control (forraje de King grass) + 500 g de soya, B) forraje de caña + 50 g de urea + 1.5 kg d^{-1} de granulado Jordán® Fórmula 5 y C) forraje de caña en forma de dieta integral, observando valores medios de AGV totales superiores a los del presente trabajo.

6.2.2.7. Nitrógeno amoniacal

Los resultados de la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal se muestran en el Cuadro 20. Los valores de concentración de N-NH_3 presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos para las 0, 2, 4 y 12 h posteriores a la alimentación, siendo mayor en T1 pero no diferentes en T2 y T3 en las 2 y 4 h, y en T4 para las 12 h. El T4 mostró la menor concentración en las 4 y 12 h después de la alimentación. Se observó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) a través del tiempo, en T2 y T3 a las 2 y 12 h, respectivamente y,

una disminución significativa ($P \leq 0.05$) en T1 y T3 a las 6 h excepto en T4 que no mostró cambios.

Cuadro 20. Efecto del ECA1% con diferente ingrediente proteico en la concentración ruminal de nitrógeno amoniacal.

Tiempo de Incubación (h)	Tratamientos ¹				EEM ²
	T1	T2	T3	T4	
	mg dL ⁻¹				
-1	4.18	2.29	4.25	2.88	0.60
0	6.13a	2.21b	4.19ab	2.71b	0.60
2	6.61a	↑6.98a	5.22ab	2.68b	0.60
4	7.16a	5.14a	6.73a	1.85b	0.60
6	↓4.28	3.77	↓4.30	3.84	0.60
8	5.49	3.91	4.12	3.39	0.60
10	6.02	5.13	4.93	3.58	0.60
12	3.89b	5.78b	↑8.83a	1.80ab	0.60
EET ³	6.08	6.08	6.08	0.6084	

^{a, b} Valores en las medias en el mismo renglón con distinta literal son diferentes ($P \leq 0.05$)

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

Valores precedidos por ↑ o ↓ presentan un aumento o disminución significativa ($P \leq 0.05$) comparada con la medición previa en el mismo tratamiento.

¹ T1 = ECA 1% + pasta de soya; T2 = ECA 1% + harina de pescado; T3 = ECA 1% + canola; T4 = ECA 1% + pasta de coco.

² Error estándar de la media.

³ Error estándar de los tratamientos.

Los resultados son diferentes a los observados por Camargo (2007) quién no encontró diferencia significativa en la concentración de N-NH₃ entre los tratamientos, sin embargo a través del tiempo después de la alimentación de los animales, sí se presentó efecto significativo. Al analizar la concentración ruminal de N-NH₃ se observó un pico de producción breve en las 2 y 4 h después de la alimentación, probablemente debido a la alta solubilidad de la urea contenida en las raciones. De acuerdo con Owens y Zinn (1988), cuando las fuentes de nitrógeno no proteico son predominantes en las raciones, la concentración máxima ruminal de N-NH₃ ocurre de 1 a 2 h después de la alimentación. Sin embargo, cuando la fuente predominante es proveniente de proteína vegetal la concentración máxima ocurre entre 3 y 5 h después de la alimentación. Lo anterior está de acuerdo con el presente trabajo, donde el aumento de la concentración ruminal de N-NH₃

después de la alimentación fue contribuido en gran medida por la degradación de nitrógeno en las raciones.

Según Van Soest (1994), la concentración ruminal de N-NH₃ es consecuencia del equilibrio entre la producción, absorción y utilización por los microorganismos, siendo la última dependiente de la cantidad de energía disponible.

Las concentraciones de N-NH₃ fueron suficientes para promover un crecimiento bacteriano adecuado, conforme el valor mínimo de 5 mg de N-NH₃ determinado por Preston (1986). En este trabajo los valores medios variaron entre 2.84 y 5.47 mg dL⁻¹, incluyendo los cuatro tratamientos. Al comparar estos valores con los datos obtenidos por Schmidt *et al.* (2007), se verificó que los autores encontraron valores entre 5.6 y 13.6 mg dL⁻¹ en bovinos alimentados con raciones conteniendo ensilado de caña de azúcar. Así mismo, Marrero *et al.* (2007) observaron en bovinos que consumían caña de azúcar y concentrado valores en la concentración ruminal de N-NH₃ entre 7.13 y 5.15 mg dL⁻¹. Resultados similares encontraron Rojo *et al.* (2000) investigando con bovinos alimentados en pradera de pastos tropicales con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*, reportando valores promedio entre 7.92 y 5.38 mg dL⁻¹.

VII. CONCLUSIONES

Con base a los resultados encontrados en este trabajo se concluye que:

El ensilado de caña de azúcar con el 1% de inóculo y aditivo y el ensilado de caña de azúcar con el 3% de inóculo y aditivo mostraron los mejores valores de la digestibilidad *in situ* de la materia seca, materia orgánica.

El enriquecimiento del ensilado de caña de azúcar con inóculo y aditivo provocó un aumento en los valores de proteína bruta, pero no de proteína verdadera, reflejándose en un aumento del nitrógeno amoniacal. Además presentó una disminución en los valores de las fracciones de fibra (FDN y FDA).

La adición de inóculo y aditivo al ensilado de caña de azúcar mostraron un efecto positivo en el ambiente ruminal, observándose un pH con rangos favorables para los microorganismos celulolíticos, así como las concentraciones de AGV y N-NH₃.

El ensilado de caña de azúcar con el 1% de inóculo y aditivo (T3) presentó los valores más altos de digestibilidad de fibra detergente neutra y fibra detergente ácida, por lo tanto, se puede predecir un mayor consumo de este ingrediente por el rumiante.

La utilización de ingredientes proteicos (pasta de soya, harina de pescado, pasta de canola y pasta de coco) en dietas integrales con base en ensilado de caña de azúcar con inóculo y aditivo al 1%, presentaron un efecto positivo en la digestibilidad *in situ* de la MS, MO, FDN y FDA.

La utilización de pasta de soya como ingrediente proteico en dietas con base en ensilado de caña de azúcar con inóculo y aditivo al 1% (T1), mostró los mejores valores en las variables analizadas en este estudio (digestibilidad de MS, MO, FDN y FDA), manteniendo un ambiente ruminal (pH) favorable para los microorganismos celulolíticos y presentó concentraciones de AGV y N-NH₃ superiores a T1, T2 y T4.

VII. LITERATURA CITADA

- Abdelhadi, L.O.** 2007. Los ensilajes en la producción animal: importancia de la calidad. XI Manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal. Buenos Aires, Argentina. Tomado de la red mundial el 22 de abril de 2011.
http://www.avpa.ula.ve/eventos/xi_seminario/Conferencias/Articulo-12.pdf
- Aguilera, B. A.** 1988. Evaluación del efecto de la suplementación de rastrojo amoniado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos Pelibuey. Tesis Maestría. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuatitlan, México: 142 pp.
- Alcántara, E., Aguilera, A., Elliot, R. and Shimada A.** 1989. Fermentation and utilization by lambs of sugarcane harvested fresh and ensiled utilization with and without NaOH. 4. Ruminal Kinetics. *Anim. Feed Sci. Tech.*, Amsterdam. 23: 323-331.
- Allen, M.S.** 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* 80: 1447-1462.
- Álvarez, F. F.** 2006. Experiencia con la caña de Azúcar integral en la alimentación animal en México. Tomado de la red mundial el 10 de mayo de 2011.
<http://www.fao.org/docrep/003/s8850e/S8850E06.htm>
- Alli, I., Fairbairn, R. and Baker, B. E.** 1983. The effects of ammonia on the fermentation of chopped sugarcane. *Anim. Feed Sci. Tech.* 9: 291-299.
- Andrade, J. B., Ferrari, J. E. y Braun, G.** 2001. Valor nutritivo da silagem da cana-da-acúcar tratada com uréia e acrescida de rolo de milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília.* 36: 1169-1174.
- Angulo, R. A., Noguera, R. R. y Berdugo, J. A.** 2005. El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) un eficiente utilizador de nutrientes: aspectos sobre fermentación y digestión ruminal. *Livestock Research for Rural Development.* 17: 6-18.
- Aranda, E.M.** 2000. Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 90 pp.
- Aranda, E. M., Ruiz, P., Mendoza, G. D., Marcoff, C. F., Ramos, J. A. y Elías, A.** 2004. Cambios en la digestión de tres variedades de caña de azúcar y sus fracciones de fibra. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 38: 137-144.
- Argamentería, A. A., Roza de la, P.B., Martínez, F. A., Sánchez, L. y Martínez, A.** 1997. El ensilado en Asturias. Servicio de Publicaciones del Principado de Asturias. Consejería de Agricultura. 127 p.
- AOAC.** 2003. Official Methods of Analysis. 17th Edition current through 2nd Revision. ED. Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., U. S. A. 600 p.

- Armstrong, D. G.** and Smithard, R. R. 1979. The fate of carbohydrates in the small and large intestines of the ruminant. *J. Sci. Food Agric.* 30: 1021-1022.
- Arreaza, L. C.,** Sanchez, D. E. y Abadia, B. 2005. Degradabilidad ruminal de fracciones de carbohidratos en forrajes tropicales determinada por métodos *in vitro* e *in situ*. *Revista CARPOICA.* 6: 52-56.
- ASERCA.** 2012. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. SAGARPA. Tomado de la red mundial el 5 de abril del 2012.
http://www.infoaserca.gob.mx/fisicos/srg_pci.asp
- Ávila, C. L. S.** 2007. Isolamento e uso de *Lactobacillus buchneri* na ensilagem de capim-mombaça e cana-de-açúcar.175f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Avilés, S.** 2007. Revista Ganadero. Lo que se oye....lo que se dice. Marzo-abril 2007. Tomado de la red mundial el 20 de mayo del 2011.
<http://www.revistaganadero.com/Noticias/207/loqueseoye.html>
- Awafó, V. A.,** Chahal, D. S., Simpso, B. K. and Le, G. B. B. 1996. Production of cellulase systems by selected mutants of *Trichoderma reesei* in solid- state fermentation and their hydrolytic potentials. *Applied Bioch. and Biotech.(USA).* 57: 461-470.
- Bach, A.** y Calsamiglia, S. 2006. La fibra en los rumiantes: ¿Química o Física? Grupo de Investigación en Nutrición, Manejo y Bienestar Animal. IRTA-Unidad de Rumiantes. Universidad Autónoma de Barcelona. XII Curso de especialización FEDNA. pp: 99-103.
- Banda, M.** y Valdés, R. 1976. Efecto del estado de madurez sobre el valor nutritivo de la caña de azúcar. *Prod. Anim. Trop.* 1: 94-97.
- Becerra, J.,** Castaño, M. E. y Corrales, L. F. 2005. Ensilaje sin maquinaria para zonas de ladera en trópico cálido. *Corpoica regional 2.* Fondo ganadero de córdoba. Tomado de la red mundial el 25 de abril de 2011.
http://www.turipana.org.co/ensilaje_maquinaria.html
- Benítez, C. D.,** Delgado, C. A., Elías, D. A., García, C. R. y Herrera, C. R. 1983. Los pastos en Cuba. *Instituto de Ciencia Animal.* La Habana, Cuba. 2: 365-369.
- Bertoia, L. M.** 2004. Algunos conceptos sobre ensilaje. Secretaría de agricultura Laboratorio NIRS – Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Tomado de la red mundial el 25 de abril de 2011.
<http://mejorpasto.com.ar/UNLZ/2004/TX3.htm>
- Bird, A. R.,** Crome, W. J. Jr, Fan, Y. K., Black, B. L., McBride, B. W. and Taylor, I. L. 1996. Intestinal Peptide regulation of glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 74: 2523-2540.

- Boenker**, D. E. 1989. Fermentación Ruminal: su importancia e influencia sobre el comportamiento productivo del rumiante. SOYA. No. 28. Asociación Americana de la Soya. México.
- Bondi**, A. 1989. Nutrición Animal. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 540 p.
- Bravo-Martins**, C. E. C., Carneiro, H. and Castro-Gómez, R.J. 2006. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugarcane with different additives. **Brazilian Journal of Microbiology**. 37: 499-504.
- Bruni**, M. A. de los y Chilibroste, P. 2001. Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, ALPA. 9: 43-51.
- Calsamiglia**, S. 1997. Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. Departamento de Patología y Producción Animal. Universidad Autónoma de Barcelona. XIII Curso de especialización FEDNA. Madrid, España. Tomado de la red mundial el 25 de abril de 2011. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/UsodeFibraenRumiantes.pdf
- Calsamiglia**, S. y Ferret, A. 2002. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva. XVIII Curso de especialización FEDNA. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. pp: 97-115.
- Camargo**, A. R. 2007. Avaliação do aditivos químicos sobre as perdas e valor alimentício das silagens de cana-de-açúcar para ovinos. (Mestre em Agricultura), Universidad de Sao Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil. 165 p.
- Camargo**, A. R., Pires, A.V., Susin, I., Nussio, L. G., Ferreira, E. M. e Shinkai, G. R. 2009. Cana-de-açúcar *in natura* ou ensilada com e sem aditivos químicos: estabilidade aeróbica dos volumosos e das rações. **R. Bras. de Zootec.** 38: 1857-1864.
- Candanosa**, A. E., Mendoza, G., Salcedo, E. R. y Castillo, A. D. 2001. Efecto de algunos modificadores de la fermentación ruminal en la evaluación del equilibrio ácido-base y electrolítico en borregos con acidosis ruminal subclínica. *In* Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría. Veracruz, México. 230 p.
- Cañete** M. V. y Sacha, J. L. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. pp: 1-260.

- Castrilloón**, M. V., Shimada, A. S. y Calderon, F. M. 1978. Manipulación de la fermentación en ensilajes de caña de azúcar y su valor alimenticio para borregos. *Técnica Pecuaria en México*, Palo Alto. 35: 323-331.
- Castro Neto**, A. G. 2003. Avaliação de silagens de cana-de-açúcar submetidas a diferentes tratamentos. 53f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Cavali**, M., Gomes, P. O., Valadares, F. S. de C., E. M., Pinto, G. G. de C., Santos, M. V., Oliveira, M. P. e Ferraz, H. R. J. 2010. Bromatological and microbiological characteristics of sugarcane silages treated with calcium oxide. *R. Bras. Zootec.* 39: 1398-1408
- Chaudhary**, L. C., Srivastava, A. and Singh, K. 1995. Rumen fermentation pattern and digestion of structural carbohydrates in buffalo (*Bubalus bubalis*) calves as affected by ciliate protozoa. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 56: 11-117.
- Chesson**, A. and Forberg, C. W. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. 251-284 In Hobson, P. N. *The rumen microbial ecosystem*. Ed. Elsevier Applied Science New York. USA: 527 p.
- Church**, D. C. 1988. *The Ruminant Animal. Digestive Physiology and Nutrition*. Waveland Press, Inc. Illinois, USA. 564 p.
- Coelho da Silva**, J. F. e Leão, M. I. 1979. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Editora Livrocere, Piracicaba. 380 p.
- Correa**, C. E. S., Pereira, M. N. and Oliveira, S. G. 2003. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. *Scientia Agricola*. 60: 621-629.
- Cowan**, R.T. 1999. Uso de forrajes ensilados en sistemas de producción animal en gran escala. Estudio 3.0. Uso del ensilaje en el trópico privilegiado opciones para pequeños campesinos. *Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos 1 septiembre a 15 diciembre 1999*. FAO 2001. pp: 31-40.
- Dearriba**, C. J. 1988. Fisiología y bioquímica de la digestión en el rumiante. Editorial Oriente. Santiago de Cuba. pp: 7-35.
- Delgado**, C. D. 2002. Restricciones nutricionales y fisiológicas de la caña de azúcar para su uso como alimento para los rumiantes. *Foro Internacional. La caña de azúcar y sus derivados en la producción de leche y carne*. ICA. La Habana, Cuba.
- Dijkstra**, J. and Tamminga, S. 1995. Simulation of the effects of diet on the contribution of rumen protozoa to degradation of fibre in the rumen. *Br. J. Nutr.* 74: 617-634.

- Dirksen, C.** 1969. En: 3rd Intl. Symp. Physiology of Digestion of Ruminants (Ed. Phillipson).
- Driehuis, F., Oude-Elferink, S. J. W. H. and Van-Wikselaar, P. G.** 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. Grass and Forage Science. 56: 330-343.
- Dupchak, K.** 2004. Feeding tips from Manitoba agriculture total mixed rations for dairy cattle. Animal Nutritionist. Animal Industry Branch, Manitoba Agricultura. 204: 945 p.
- Elías, A.** 1983. Digestión de pastos y forrajes. Capítulo IV, 187-246. En: Los pastos en Cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. pp: 675.
- Estrada, J. A., Gaviria, J. M. y García, F. G.** 1993. Hongos anaeróbicos del rumen. Archivo Latinoamericano Producción Animal. 1:111
- Erwin, E. S., Marco, G. J. and Emery, E.** 1961. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by chromatography. J. Dairy Sci. 44: 1768-1771.
- Espinoza, F., Tejos, R., Chacon, E., Arriojas, L. y Argenti, P.** 1999. Producción, Valor nutritivo y consumo por ovinos de *Leucaena leucocephala*. III. Utilización y consumo. Zootecnia Tropical. 17: 213-227.
- Evangelista, R. A., Rezende, S. G., Aparecida, de L. J. Lopes, J. e Vilela, de R. A.** 2009. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. R. Bras. Zootec., 38: 20-26.
- FAO.** 1995. Manejo de proyectos de alimentación y nutrición en comunidades. Guía didáctica. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. pp: 191-202.
- FAO.** 1996. Producción de Alimento e Impacto Ambiental. Cumbre Mundial sobre la alimentación. II: 67.
- FAO.** 1998. Agricultura y sus retos. Producción de Alimento e Impacto Ambiental. I: 52.
- FAO.** 2007. Evaluación de la situación de la seguridad alimentaria mundial. 33° periodo de sesiones. Comité de Seguridad Alimentaria Mundial. Italia. 18 p.
- Fernandes, A. R. M, Sampaio, A. A. M. e Henrique, W.** 2007. Avaliação econômica e desempenho de machos e fêmeas Canchim em confinamento alimentados com dietas à base de silagem de milho e concentrado ou cana-de-açúcar e concentrado contendo grãos de girassol. Rev. Bras. Zootec. 36: 855-864.

- Fernández**, 2008. El mercado de los granos forrajeros. Asociación Mexicana de Engordadores de Ganado (AMEG). México. 22 p.
- Ferreira**, D. A., Gonçalves, L. C., Molina, L. R., Castro Neto, A. G. e Tomich, T. R. 2007. Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária y Zootecnia. 59: 423-433.
- Ferreiro**, M. H. y Preston, T. R. 1977. Digestibilidad y consumo voluntario en tallo de caña descortezado con la adición de puntas. Prod. Anim. Trop. 2: 93.
- Ferreiro**, M. H., Preston, T. R. y Sutherland, T. M. 1977. Digestibilidad de tallo y puntas de caña madura y tierna. Prod. Anim. Trop. 2:104
- Filya**, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology. 95: 1080-1086.
- Franco**, Q. L. H., Calero, Q. D. y Ávila, V. P. 2007. Alternativas para la conservación de forrajes. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.
- Fox**, D. G., Tylutki, T. P., Tedeschi, L. O., Van Amburgh, M. E., Chase, L. E., Pell, A. N., Overton, T. R. and Russell, J. B. 2000. The Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Herd Nutrition and Nutrient Excretion: Model Documentation. Mimeo No. 213, Animal Science Department, Cornell University, Ithaca, NY.
- Galarza**, M. 2008. Situación del sector pecuario en México. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA Taller sobre captura y aprovechamiento de metano proveniente de residuos agropecuarios. 25 p.
- Galina**, M. A., Ruiz, G. y Ortiz, M. A. 2002. Ceba de bovinos con punta de caña y planta de maíz suplementados con bloque proteico de urea o concentrado. Fermentación ruminal, consumo y digestibilidad. Pastos y forrajes. 25: 209-221.
- Galina**, M. A., Guerrero, M., Puga, D. C. and Haenlein, G. F. W. 2004. Effect of a slow intake urea supplementation on growing kids feed corn stubble or alfalfa with a balanced concentrate. Small Rum Res. 53: 29-38.
- Galindo**, J., Marrero, Y., González, N. y Aldana, A.I. 2004a. Caracterización de la actividad celulolítica en el líquido de rumen filtrado. Rev. Cubana Cienc. Agric. 38: 259-271.
- Galindo**, J. y Marrero, Y. 2005. Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Rev. Cubana Cienc. Agric. La Habana, Cuba. 39: 439-450

- García, H. R., Abreu, M. T. y Soto, P. J. M.** 2008. Digestión de residuos de la cosecha cañera tratados con hidróxido de sodio. 1. Determinación de la digestibilidad *in situ*. REDVET. 11: 1-8.
- Gentil, R. S.** 2006. Silagem de cana-de-acucar tratada com aditivo químico ou microbiano na alimentacao de cabras em inicio de lactacao. Dissertacao (Mestrado em Ciencia Animal e Pastagens). Escola Superior de Agricultura "Luiz Queiros". Universidad de Sao Paulo, Piracicaba. 70 p.
- González, R. F.** 1995. Contribución al estudio de los factores que limitan el consumo de forraje de caña de azúcar integral por los bovinos. Tesis Dr. Cs. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 130 p.
- González, G., Cambra, R., Duque, O. y Bernal, E.** 1995. Efecto del contenido de materia seca y aporte de urea y leguminosa sobre el ensilaje de maíz. Nota técnica. pp: 63-70.
- Goering, H. K. and Van Soest P. J.** 1970. Forage fiber analysis. Agriculture Handbook No. 379, Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C.
- Grant, R. J. and Mertens, D. R.** 1992a. Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion *in vitro*. J. Dairy Sci. 75: 1581-1587.
- Hadjipanayiotou, M.** 1984. Estiércol de aves para alimentar a los rumiantes. Revista Mundial de Zootecnia. 49: 32-38.
- Hill, J. and Leaver, J. D.** 2002. Changes in chemical composition and nutritive value of urea treated whole crop wheat during exposure to air. Anim. Feed Sci. Tech. 102: 181-195.
- Hoover, W. H., Kincaid, C. R., Varga, G. A., Thayne, W. H. and Junkins, L. L.** 1984. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous culture. IV. PH and dilution rate. J. Anim. Sci. 58: 692-699.
- Hungate, R. E.** 1966. The Rumen and its Microbes. Academic Press. New York, USA. 218 p.
- Huntington, G. B.** 1988. Nutritional problems related to the gastro-intestinal tract: Acidosis. *In: Digestive Physiology and Nutrition*. Church, D.C. (ed.). Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, USA. 564 p.
- INEGI. 2001.** Anuario estadístico del estado de Jalisco. México. pp: 5.
- Ishler, V. Heinrichs, J. y Varga, G.** 2008. De la alimentación a la leche: Comprendiendo la función del rumen. pp: 8-12. Tomado de la red mundial el 06 de abril del 2012. <http://www.das.psu.edu/research-extension/dairy/nutrition/pdf/feed-to-milk-spanish.pdf>

- Jarrige, R.** 1981. Les constituants glucidiques des fourrages: variations, digestibilité et dosage. En Demarquilly, C. (dir.), *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*. Paris (Francia): Editorial INRA, ISBN 2-85340-375-0. p. 13-40.
- Junqueira, M.C.** 2006. Aditivos químicos e inoculantes microbianos em silagens de cana-de-açúcar: perdas na conservação, estabilidade aeróbia e o desempenho de animais. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Kamra, D. N. and Agawal, N.** 2004. Bacteria and fungi of non rumen origin. En: Probiotics as feed additives for the ruminants. Indian Veterinary Res. Institute. Izatnagar. India. pp: 36.
- Kung Jr., L. and Stanley, R.W.** 1982. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. *J. Anim. Sci.* 54:689-696.
- Lascano, C. E., Quiroz, R., Zorrilla, J., Chaves, C. y Wernli, C.** 1990. Recomendaciones sobre metodología para la medición de consumo y digestibilidad in vivo. Nutrición de Rumiantes. Guía metodológica de investigación. ALPA, San Jose, Costa Rica. pp: 157-168.
- Leatherwood, J. M.** 1965. Cellulasa from *Ruminococcus albus* and mixed rumen microorganisms. *Appl. Microbiol.* 13: 771-775
- Leng, R. A.** 1989. Restricciones metabólicas para la utilización de la caña de azúcar y sus subproductos para el crecimiento y producción de leche en rumiantes mayores. Colección GEPLACEA, Serie Diversificación PNND, grupo de países latinoamericanos y del Caribe exportadores de caña de azúcar. pp: 23-32.
- Leng, R. A.** 1991. Application of biotechnology to nutrition of animal in developing countries. FAO Animal Production and Health paper 90. Roma, Italia: 146 p.
- Leng, R. A. and Nolan, J. V.** 1982. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 67: 1072-1082.
- Li, A. D. and Forsberg, C. W.** 1987. Isolation of cellodextrinase from *Bacteroides succinógenes*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 53:1034-1041.
- López, I., Aranda, E. M., Ramos, J. A. y Mendoza, G. D.** 2003. Evaluación nutricional de ocho variedades de caña de azúcar con potencial forrajero. *Rev. Cubana Cien. Agrí.* 37:381 386.
- McDonald, P., Henderson, A. R. and Heron, S. J. E.** 1991. The biochemistry of ensilage. 2.ed. Merlow: Chalcomb Publications. 340 p.
- Marrero, Y., Rodríguez, D., Galindo, J., Aldama, I. A., Moreira, O. y Noda, A.** 2007. Población microbiana ruminal e indicadores fermentativos en bovinos que consumen caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y concentrado. *Rev. Cubana Cien. Agríc.* 41: 149-156.

- Martín, P. C.** 2005. El uso de la caña de azúcar para la producción de carne y leche. Rev. Cubana Cien. Agríc. La Habana, Cuba. 39: 427-437.
- Martín, P. C.** and M. Brito, 1997. Cantidad y tipo de proteína en dietas de forraje de caña de azúcar para toros. Rev. Cubana Cienc. Agríc., 31: 265-269.
- Martínez, A.,** Roza, B. de la, Modroño, S. y Argamenteoría, A. 1998. Principios nutritivos y pH de ensilados de hierba en función del tipo de pradera y del aditivo empleado en su elaboración. En actas de la XXXVIII Reunión Científica de la SEEP. pp: 274-278.
- Matsui, H.,** Ushida, K., Miyazaki, K., and Kojima, Y. 1998. Use or ration of digested xylan to digested cellulose (X/C) as and index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms. Anim. Feed Sci. Technol. 71: 207-215.
- Mertens, D. R.** 2000. Interpretation of Forage Analysis Reports. 30th National alfalfa symposium. Las vegas, Nevada. Department of Agronomy and Range Science Extension University of California.
- McCullough, H.** 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. Clin. Chem. Acta 17: 297-304.
- Molina, A.** 1990. Principales factores que afectan el rendimiento y la composición de la canal bovina. En Producción de carne en el trópico. Instituto de Ciencia Animal (EDICA) del Ministerio de Educación Superior. La Habana, Cuba. 318 p.
- Molina, A. S.,** Febles, I. y Sierra, J. F. 1997. Ensilaje de caña de azúcar con síntesis proteica. Formulación de los aditivos. Rev. Cubana Cien. Agríc. 31:271-274.
- Molina, A.,** Leal, P.P., Vera, A., Milanés, N., Pedroso, D., Torres, V., Traba, J. y Tuero, O. 1999. Evaluación del valor forrajero de variedades industriales de caña de azúcar. Digestibilidad *in situ*. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 33: 387-392.
- Molina, A. S.,** Sierra, J. F. and Febles, I. 1999. Sugar cane silage with protein synthesis: combined effect of additives and density. Cuban J. Agric. Sci., 33: 205-208.
- Muñoz, E.,** Elías, A. y Suárez, J. de D. 1987. SNA. Suplementos nitrogenados activadores. Instituto de Ciencia Animal. Primera edición.
- Muñoz, E.** y González, R. 1998. Caña de azúcar integral para estimular el consumo a voluntad de alimentos voluminosos en vacas. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 31: 33-40.
- Moreno, A. H.** 1977. Evaluación de ensilajes de Pasto Panamá (*Saccharum sinense*), para la alimentación de vacas de doble propósito. Tesis M.Sc. Universidad de Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 98 p.

- NRC** (National Research Council). 2001. Nutrient Requirements of dairy cattle. Sixth Reimp., ed. (7th ed.). National Academy Press. Washington, D. C. 381 p.
- Naufel, F. E. F., Goldman, R. N. e Guaragna, L. B.** 1969. Estudo comparativo entre cana-de-açúcar e silagens de milho, sorgo e capim Napier na alimentação de vacas leiteiras. Boletim de Indústria animal. 26: 9-22.
- Nogueira Filho, J. C. M., Lucci, C. S. e Rocha, G. L.** 1977. Substituição parcial da silagem de sorgo por cana-de-açúcar como únicos volumosos para vacas em lactação. Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa, SP. 34: 75-84.
- Nunes, R., Berchielli, T. T., de Freitas, D., Diass, A. K., Carrillo, R. e Pasjani S, de F.** 2001. Degradabilidade *in situ* de resíduos de mandioca a cana de açúcar ensilada con pulpa citrica paletizada. XVII Reunión de la ALPA, La Habana, Cuba.
- Nussio, L. G., Schimdt, P.** 2004. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: Jobim, C.C.; Cecato, U.; Canto, M.W. (Eds.) SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2., 2004, Marigá.
- O'kiely, P.** 1997. The use of silages additives: Effects on conservation and nutritive value. Seminario sobre Uso de aditivos para ensilados. Valor nutritivo, estabilidad aeróbica y control medioambiental. CIATA. 46 p.
- Orskov, E. R.** 1986. Protein Nutrition in Ruminants. Academic Press. London, England. 160 p.
- Ørskov, E. R.** 2000. The in situ technique for the estimation of forege degradability in ruminants. pp: 175-188.
- Ørskov, E. R, Hovell, F. D. De, B. and Mould, F.** 1980. The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Trop. Anim. Prod. 5: 195-213.
- Ortega, C. M. y Mendoza, M. G.** 2003. Digestión del almidón y metabolismo de la glucosa en el rumiante. Revisión. INTERCIENCIA. 28: 380-386.
- Ortega, R. C. y Ochoa, B. R.** 2004. La caña de azúcar: El dulce que cautivó al mundo. Rev. Claridades Agropecuarias. 127: 3-17. Tomado de la red mundial el 04-02-2011: www.infocercagog.com/claridades/revistas/127/ca127.pdf.#page=1.
- Ortiz, R. M.** 2001. Efecto de un alimento complejo catalítico en asociaciones de forrajes y fuentes alternas de proteína en bovinos de engorda. Tesis de maestría. FMVZ. Universidad de Colima. Colima, Col., México. 95 p.
- Ortiz, N. C., Junges, D., Schmidt, P., Rossi, J. P., Gomes, C de. J. P. and Almeida de, T. R.** 2012. Methods of lab silos sealing and fermentation characteristics and aerobic

- stability of sugarcane silage treated with microbial additive. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 41: 264-270.
- Owens, F. N. y Zinn, R.** 1988. Protein metabolism of ruminant animals. In: Church, D. C. *The ruminant animal*. Englewood cliff: Weveland Press. pp: 227-249.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J. and Gill, D. R.** 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 275-286.
- Palma, J. M.** 2003. *Ensilaje de caña ¡Alimento sano, económico y nutritivo para ganado!* Tríptico informativo. Colima, Col. México.
- Pedroso, A. F., Nussio, L. G., Paziani, S. F.** 2005. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. *Scientia Agricola*. 62: 427-432.
- Pedroso, A. F., Nussio, L. G., Barioni, W. Jr., Rodríguez, A. A., Lourdes, D. R. S. Campos, F. Ribeiro, J. I. Mari, L. Zapplatto, M. Junqueira, M. Schmidt, P. Paziani, S. F. y Horii, J.** 2006. Performance of holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*. 41: 649-654.
- Pedroso, A. F. Nussio, L. G. Loures, D. R. S.** 2007. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Zootec.* 36: 558-564.
- Peláez, A. A., Meneses, M. M., Miranda, R. L. A., Mejías, M. R. D., Barcena, G. R. y Loera, O.** 2008. Ventajas de la fermentación sólida con *Pleurotus sapidus* en ensilajes de caña de azúcar. *Arch. Zootec.* 57: 25-33.
- Peláez, A. A., Meneses, M. M., Miranda, R. L. A., Martínez, A. M., Crosby, G. M. M., Loera, C. O. y Megías, R. D.** 2011. Enzimas fibrolíticas producidas por fermentación en estado sólido para mejorar los ensilajes de caña de azúcar. *Agrociencia*. 45: 675-685.
- Peña, P. M., Del Pozo, P.** 1992. *Explotación de pastos y forrajes*. ISCAH: La Habana, Cuba. 106 p.
- Posada, S. L. y Noguera, R. R.** 2005. Técnica in vitro de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. 17:36.
- Preston, T. R., Hinojosa, C. y Martínez, L.** 1976. Ensilaje de caña de azúcar con amoníaco, miel y ácidos minerales. *Prod. Anim. Trop.* 1: 124-131.
- Preston, R. T.** 1986. Analytical methods for characterizing feed resources for ruminant. in: preston, t. r. (ed.) *better utilization of crop residues and by products in animal*

- feeding: research guidelines. 2. A practical manual for research workers. rome: FAO. 106 p.
- Preston, R. T. y Leng, R. R.** 1989. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados al nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico, 1ª. Edición. CIPAV, Calí, Colombia. 290 p.
- Preston, T. R.** 1995. Tropical Animal Feeding. A manual for research workers. FAO Animal Production and Health Paper 126. Rome, Italy. 305 p.
- Queiroz, O. C. M., Nussio, L. G. e Schmidt, P.** 2008. Silagem de cana-de-açúcar comparada a fontes tradicionais de volumosos suplementares no desempenho de vacas de alta produção, Rev. Bras. Zootec. 37: 358-365.
- Ramos, J. J. A. Mendoza, M. G. D. Aranda, I. E. García-Bojalil, C. Bárcena, G. R. and Alanís, R. J.** 1998. Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. Anim. Feed Sci. Technol. 70: 249-256.
- Rauramaa, A., Tommila, A., Nousiainen, J., Ahlnäst, T., Luhtala, J. y Löfgren, T.,** 1995. Effect of formic acid and benzoic acid esters on grass preservation. Ann. Zootech., 44 Suppl, 96: 96.
- Reis, R. A.; Da Silva, S. C.** 2006. Consumo de forragens. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. (Ed.). Nutricao de Rumiantes: Funep. pp: 79-109.
- Relling, A. E. y Mattioli, G. A.** 2003. Fisiología Digestiva y Metabolismo de los Rumiantes. Edit. EDULP. pp: 23-40.
- Reyes, G. J. A.** 2006. Vaquillas Holstein-Friesian para reemplazo alimentadas con ensilado de caña de azúcar o maíz. Tesis de maestría. Universidad de Colima. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Colima, Colima. México. 73 p.
- Rezende, G. R., Bernardes, T. F. e Signoretti, R. D.** 2007a. A produção de volumosos conservados como componente do sistema de produção de bovinos de corte. In: LADEIRA et al. (Eds) V Simpósio de pecuária de corte: alternativas para os novos desafios. Lavras: UFLA/NEPEC. pp:165-227.
- Rezende, S. G. Andrade, R. R. Schoken, R. P. I. Fernandes, B. T. Vieira, P. A. J. Toledo, P. R. M. and Toledo de, P. R. A. P.** 2007. Chemical and bacterial addition association on the sugarcane ensilage. Rev. Bras. Zootec. 36:4.
- Rezende, S.G.** 2009. Aditivos na silagem de cana-de-açúcar “In natura” ou queimada. Tesis Doutor em Zootecnia. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Facultad de Ciencias Agrarias e Veterinarias Campus de Jobotilabal. Sao Paulo, Brasil. 107 p.
- Rezende, S. R., Andrade, R. R., Schoken, R. P. I., Vieira, P. A. J., Fernandes, B. T. e Toledo de, P.R.** 2010. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. Rev. Bras. Zootec., 39: 103-112.

- Rocha, K. D.,** Pereira, O. G., Valadares Filho, S. C., Oliveira, A. P., Pacheco, L. B. B. e Chizzotti, F.H.M. 2006. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimbacterianos. Rev. Bras. Zootecn., 35: 389-395.
- Rocha, V. A.,** Cardoso, P. J., Da Silva, A. C. L., Ricardo, E. A., Botego, T. V. and Freitas, S. R. 2009. Effect of the addition of *Lactobacillus sp.* In sugarcane silages. Rev. Bras. Zootec. 38: 1009-1017.
- Rodríguez, D.,** Marrero, Y., Martín, P. C., Alfonso, F., Vera, A. M. y Noda, M. 2006. Efecto de diferentes formas de suplementación en la población microbiana ruminal de bovinos alimentados con forraje de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*). Rev. Cubana Cienc. Agríc. 40: 289-296.
- Rojó, R. R.,** Mendoza, M. D. G., García, B. C. M., Barcena, G. J. M. y Aranda, I. E. M. 2000. Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toretes con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 17:358-370.
- Rosero, J. R.** 2002. Estudo químico, "in situ", "in vitro" e microscópico da parede celular de cinco genótipos de sorgo colhidos em três épocas de corte. Ph. D. Thesis. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. 148 p.
- Rosero, N. R. y** Posada, O. S. L. 2007. Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 20:174-182.
- Roza, D. B. de la.** 2005. El ensilado en zonas húmedas y sus indicadores de calidad. IV Jornadas de Alimentación Animal. Laboratorio de Mouriscade. Lalín (Pontevedra)
- Ruiz, P.** 2001. Digestión *in situ* de la caña de azúcar y sus fracciones de fibra. Tesis. Colegio de Postgraduados. México. 63 p.
- Russel, J.,** and Wilson, D. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH. J. Dairy Sci. 79: 1503-1509.
- Russell, J. B.,** O'Connor, J. D., Fox, D. G., Van Soest, P. J. and Sniffen, C. J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. J. Anim. Sci. 70:3562-3577.
- Sánchez, L.** 2004. Nuevas estrategias para conservación de forrajes en el trópico. Primera Reunión de la Red Temática de Recursos Forrajeros. Conrorca, Tibaitatá. Memorias. Mosquera, junio 2004. 15 p.
- Sánchez, L.** 2005. Estrategias modernas para la conservación de forrajes en sistemas de producción bovina tropical. Revista CORPOICA. 6: 69-80.
- San Martín, F.,** Pezo, D., Ruiz, E. M., Vohnout, K. y Pun, H. H. 1983a. Suplementación de bovinos con banano verde. I. Efecto sobre parámetros de digestión de la fibra en punta de caña. Prod. Anim. Trop. 8: 215-222.

- Santos, J. E. P.** 2006. Distúrbios metabólicos. In: Berchielli, T.T. *et al.* (Eds.). Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. pp:423-492.
- Santos, M. C.** Nussio, L. G. e Mourão, G. B. 2008. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Zootec.* 37: 1555-1563.
- Santos, M. C.,** Nussio, L. G. and Mourão, G. B. 2009. Nutritive value of sugarcane silage treated with chemical additives. *Scientia Agricola.* 66: pp:159-163.
- Santos, M. V. F.,** Gomez, C. A. G., Perea, J. P., García, A., Guim, A. e Perez, H. M. 2010. Fatores que afetam o valor nutritivo da silagens de forrageiras tropicais. *Arch. Zootec.* 59: 25-43.
- Satter, L. D.** and Slyter, L. L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *British Journal Nutrition.* 32: 199-208.
- Sauvat, D.,** Ginger, R. S. y Meschy, F. 2006. Le controle de l' acidose ruminale latent. *INRA Prod. Anim.* 19: 69-78.
- SAS.** 1999. User's Guide: Statistics, version 8.0. Ed. SAS Institute, Inc., Cary N.C. En CD-ROM.
- Shashirekha, M.,** Rajarathnam, S. N., and Bano, Z. 2005. Effects of supplementing rice Straw growth substrate with cotton seeds on the analytical characteristics of the mushroom, *Pleurotus florida* (Block y Tsao). *Food Chem.* 92: 255-259.
- Schettini, M. A.,** Prigge, E. C., and Nestor, E. L. 1999. Influence of mass and volume of ruminal contents on voluntary intake and digest passage of a forage diet in steers. *J. Anim. Sci.* 77: 1896-1904.
- Schmidt, P.** 2006. Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 228 p.
- Schmidt, P.,** Mari, L. J. e Nussio, L.G. 2007. Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo. *Rev. Bras. Zootec.* 36: 1666-1675.
- Schmidt, P.,** Nussio, L. G. e Zopollatto, M. 2007b. Aditivos químicos ou biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 2. Parâmetros ruminais e degradabilidade da matéria seca e das frações fibrosas. *Rev. Bras. Zootec.* 36: 1676-1684.
- Schofield, P.** 2000. Gas production methods. In: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, Chapter 10. Cab International, UK. pp: 209-232.

- Silveira, R. N., Berchielli, T. T. e Freitas, D.** 2002. Fermentação e degradabilidade ruminal em bovinos alimentados com resíduos de mandioca e cana-de-açúcar ensilados com polpa cítrica peletizada. *Rev. Bras. Zootec.* 31: 793-801.
- Silveira, P. E. A. y Franco, F. R.** 2006. Conservación de forrajes: Segunda parte. *Revista Electrónica de Veterinaria, REDVET.* España. VII (11).
- Siqueira, G. R.** 2005. Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) ensilada con aditivos químicos e microbianos. Dissertacao (Mestrado em Zootecnia). Facultad de Ciencias Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Joticabal. 92 p.
- Silvestre, R., MaLead, N. A. y Preston, T. R.** 1999a. Caña de azúcar ensilada con urea o amoníaco para el ganado de engorde. *Prod. Anim. Trop.* 1:224-233.
- Sniffen, C. J., O'Connor, J. D., Van Soest, P. J., Fox, D. G. and Russell, J. B.** 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 11. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70: 3562-3577.
- Sosa, A., Galindo, J., Aldana, A. I., Moreira, O. y González, N.** 2010. Efecto de *Aspergillus oryzae* en las poblaciones microbianas del rumen y en los productos finales de la fermentación de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115. *Rev. Cubana Cien. Agríc. La Habana, Cuba.* 44: 365-375.
- Sousa, D. P., Mattos, W. R. S. e Nussio, L. G.** 2008. Efeito de aditivo químico e inoculantes microbianos na fermentação e no controle da produção de álcool em silagens de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Zootec.* 37: 1564-1572.
- Strobel, H. J. and Russel, J. B.** 1986. Effects of pH and energy spilling on bacteria protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science, Savoy.* 69: 2941-2947.
- Theander, O.** 1981. Chemical composition of low quality roughages affected related to alkali treatment. In Kategile, J. A., Said, A. N. and Sundstol, F. (Eds) Utilization of low quality roughages in Africa. Agricultural Development Report 1, Agricultural The University of Norway. pp: 1-27.
- Theurer, C. B.** 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 63: 1649-1662.
- Tilley, J. M. and Terry, R. A.** 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society.* 18: 104-111.
- Valdez, R. E. y Leng, R. A.** 1975. Digestión *in vivo* de la fibra de la caña de azúcar. Primera reunión anual del Centro Dominicano de investigación pecuaria con caña

de azúcar del C.E.A. División Ganadería y Boyada (CEAGANA). Santo Domingo. Prod. Anim. Trop. 1:52-56.

- Valiño, E.** 1999. Fermentación en estado sólido del bagazo de caña por especies de hongos conidiales productores de celulasas. Tesis Ph. D. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.
- Van Soest, P. J.** 1970. The chemical basis for nutritive evaluation of forages. Proc. Nat. Conf. on Forage Quality Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska, USA. 78 p.
- Van Soest, P. J.** 1982. Nutrition ecology ruminant. O. B. Books. Inc. Corvallis O. R. 467 p.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A.** 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- Van Soest, P. J.** 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. New York: Cornell University Press. 476 p.
- Vanzant, E. S., Cochran, R. C. and Titgemeyer, E. C.** 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. J. Anim. Sci. 76: 2717-2729.
- Vargas, E. J., Rodríguez, O., Murgueitio, E. y Preston, R. T.** 1992. Efecto del nivel de oferta del cogollo de caña sobre el consumo y el ecosistema ruminal en ovejas africanas. Livestock Research for Rural Development, 4: 89-94.
- Vérite, R. and Peyraud, L.** 1988. Nutrition azotée. En Alimentation des Bovones, Ovines et Caprins. INRA. Francia. pp: 75-93.
- Villa, L. F. A.** 2008. Estudio microbiológico y calidad nutricional de ensilado de maíz en dos ecorregiones de Colombia. Tesis Magistral. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia. pp: 19-26.
- Walsh, K., O'kiely, P., Taweel, H. Z.** 2009. Intake, digestibility and rumen characteristics in cattle offered whole-crop wheat or barley silages of contrasting grain to straw ratios. Anim. Feed Sci. Technol. 148: 192-213.
- Wallace, R. J.** 1993. Microbiología del rumen. *In: Memorias del Curso Internacional Avanzado de Rumiantes.* Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. pp: 62-67.
- Wallace, R. J.** 1995. Ruminant microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: Progress and problems. J. Anim. Sci. 72: 2992-3003.
- Wallace, R. J., S. J. Wallace, N. Mckain, V. L. Nsereko, and G. F. Hartnell.** 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 79: 1905-1916.
- Weimer, P.** 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster. J. Dairy Sci. 79: 1496-1502.
- Williams, P. E. V. and Newbold, C. J.** 1990. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. En: Recent

advances in animal nutrition. Eds. W. Haresign and D.J.A. Cole. Butterworths, London, England. 211 p.

Wilson, J. R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. Agric. Sci. Cambridge*. 122: 173-182.

Woolford, M. 2003. *La Ciencia y Tecnología del Proceso de Ensilaje*. Alltech Biotechnology Center. Kentucky, USA. 60 p.

Xue, G. P., Orpin, C. G., Gobius, K. S., Aylward, J. H. and Simpson, G. D. 1992. Cloning and expression of multiple cellulose cDNAs from the anaerobic rumen fungus *Neocallimasti patriciarum* in *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbial*. 138:1 413-1420.

Yokoyama, M. T. and Johnson, K. A. 1988. Microbiology of the rumen and intestine. *In: The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. Church, D.C. (ed). Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, USA. 564 p.