



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES
“Indio Hatuey”

Tesis presentada en opción al título de Máster en Pastos y Forrajes

**Evaluación del valor nutritivo de ensilados de sorgo
(*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y pulpa de cítrico
(*Citrus* sp.)**

Autor:

Lic. Dariel Morales Querol

Tutores:

Dr. C. Rafael Rodríguez Hernández

M. Sc. Onel López Vigoa

Perico, Matanzas

2020

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer, en primer lugar, a mi familia querida, a quien dedico esta tesis, sin su apoyo no hubiese llegado hasta este momento. A los presentes y a los ausentes, donde quiera que esten.

A mis tutores, Don Rafael y Don Onel (mi benefactor) por hacer realidad la presentación de estos resultados, por soportar mi silencio, créanme, así es mucho mejor.

A la Dra. Tania Sánchez, por la oponencia realizada, por todos sus consejos y sugerencias, que sin dudas contribuirán a un documento de tesis con mejor calidad.

Al Dr. Félix Ojeda por enseñarme el mundo de los ensilajes y por transmitir todos sus conocimientos.

A Doña Nancy Altunaga Pérez por todo su apoyo y por soportar mis malcriadeces, si es que se pueden llamar así, aunque debo aclarar que fue de ambas partes.

A Leyanis, Flavia, Benítez, Lisset y Fernando por ayudar en la realización de los ensilajes.

A las Dras. Hilda Beatriz Wencomo y Gertrudis Pentón por los consejos estadísticos.

Al grupo de Informática de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, por todo el apoyo brindado, por el arreglo del documento, especialmente a Mirisleidys.

Al Dr. Jesús Iglesias por la revisión del documento y al Dr. Jesús Suárez por todos los consejos y sugerencias.

A Leydi, Yudit y Marianny (pelota) por guardar celosamente mi documento de tesis, además, a Marianny por no asistir al acto de defensa.

A Maritza Rizo, por todo, que no es poco.

A Don Luis Cepero, Leticia y Yosleidys por su apoyo logístico.

Al comité académico de la Maestría, muy especialmente a la Dra. Mildrey Soca Pérez por toda la ayuda, apoyo y consejos brindados, por ser como mi Madre en la Estación.

A todos mis compañeros de la X Edición de la Maestría, por todos los momentos vividos.

Agradezco también a todos los integrantes de uno de los mejores grupos de investigación de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, al grupo de Biotecnología de plantas, especialmente a la Dra. Maykelis Díaz Solares, por toda su ayuda y complicidad, a Liliet González Sierra, por poner por encima de todo mal nuestra amistad.

A todos mis compañeros de trabajo de la Filial Universitaria de Martí, especialmente Yoel, Albe e Hilda por todo su apoyo.

Por último, al SUPREMO ARQUITECTO DEL UNIVERSO, como siempre, por todo y tanto, por la vida que tengo, por mis amigos que son bien queridos y por mi familia que tanto amo.

A todos, gracias.

“Yo pienso que cuando la palabra humana es verdadera es una palabra reveladora, una palabra que ayuda a mirar. Pero también pienso, también creo, también siento, también sé que para mirar y ayudar a mirar hay que tener ojos propios y no lentes prestados, porque mejor no es el que mejor copia, mejor es el que más crea, aunque creando se equivoque.”

Eduardo Galeano.

SÍNTESIS

Con el objetivo de caracterizar la dinámica de fermentación, la composición química y el valor nutritivo *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo con niveles de inclusión de pulpa de cítrico fresca se realizaron dos experimentos. En el primero se evaluó pH, temperatura, contenido de N-NH₃, ácidos grasos de cadena corta y las características organolépticas como indicadores de calidad fermentativa de los ensilajes, además, se determinó la composición bromatológica. Se empleó un diseño factorial con distribución al azar y cuatro tratamientos con las proporciones sorgo:pulpa, 100, 75:25, 50:50 y 25:75 %, cuatro momentos (14, 28, 42 y 56 días) y seis repeticiones para cada momento. En el segundo experimento se determinó el valor nutritivo mediante la técnica de producción de gas *in vitro* para determinar la cinética de producción de gas, así como indicadores químicos y gravimétricos. Se utilizó un diseño en bloques al azar. Los valores de pH en los ensilajes evaluados oscilaron entre 3,29 y 4,32 y los de N-NH₃ entre 0,21 y 4,92 %N-NH₃/NT (P<0,0001), incrementándose con el transcurso de la evaluación. Los ensilajes evaluados presentaron indicadores de calidad fermentativa dentro de los parámetros establecidos. El contenido de MS se comportó entre 21,57 y 36,52 % y disminuyó con el incremento del nivel de pulpa de cítrico en los ensilajes. El contenido de FDN presentó diferencias significativas entre los tratamientos (P<0,0001) y se incrementó durante toda la evaluación al disminuir el porcentaje de inclusión de pulpa de cítrico. Los contenidos de Ca, Mg y P presentaron niveles adecuados para los requerimientos de rumiantes en pastoreo. En cuanto a la producción acumulada de gas, los tratamientos 75:25 y 25:75 % de sorgo y pulpa de cítrico, presentaron los mayores perfiles, mientras que la mayor DAIVMS y DAIVMO correspondió a las proporciones 50:50 y 25:75 % de sorgo y pulpa de cítrico. La evaluación de la dinámica de fermentación, la composición química y el valor nutritivo *in vitro* de las formulaciones de ensilajes de sorgo y pulpa de cítrico indican que presentaron buena calidad y que las proporciones 50:50 y 25:75 mostraron las mejores características como alimento promisorio en la suplementación de rumiantes.

Palabras claves: Ensilajes, sorgo, pulpa de cítricos, fermentación, niveles de inclusión

ABSTRACT

In order to characterize the fermentation dynamics, chemical composition and *in vitro* nutritional value of whole sorghum plant silages with inclusion levels of fresh citrus fruit pulp, two trials were conducted. In the first one, pH, temperature, content of N-NH₃, short-chain fatty acids and organoleptic characteristics, were evaluated as indicators of fermentative quality of the silages; in addition, the bromatological composition was determined. A factorial design was used with random distribution and four treatments with the sorghum:pulp ratios, 100, 75:25, 50:50 and 25:75 %, four moments (14, 28, 42 and 56 days) and six repetitions for each moment. In the second trial, the nutritional value was determined through the *in vitro* gas production technique to determine the gas production kinetics, as well as chemical and gravimetric indicators. A randomized block design was used. The pH values in the evaluated silages oscillated between 3,29 and 4,32, and the N-NH₃ values varied between 0,21 and 4,92 %N-NH₃/NT ($P < 0,0001$), increasing with the course of the evaluation. The evaluated silages showed fermentative quality indicators within the established parameters. The DM content was between 21,57 and 36,52 % and decreased with the increase of the citrus fruit pulp level in the silages. The NDF content showed significant differences among the treatments ($P < 0,0001$) and increased throughout the evaluation when decreasing the citrus fruit pulp inclusion percentage. The Ca, Mg and P contents showed adequate levels for the requirements of grazing ruminants. Regarding the cumulative gas production, the treatments 75:25 and 25:75 % of sorghum and citrus fruit pulp showed the highest profiles; while the highest IVDMD and IVOMD corresponded to the proportions 50:50 and 25:75 % of sorghum and citrus fruit pulp. The evaluation of the fermentation dynamics, chemical composition and *in vitro* nutritional value of the formulations of sorghum and citrus fruit pulp silages indicate that they showed good quality and that the proportions 50:50 and 25:75 had the best characteristics as promising feedstuff in ruminant supplementation.

ABREVIATURAS

": segundos

%: por ciento

%N-NH₃/NT: porcentaje de nitrógeno amoniacal respecto al nitrógeno total

': minutos

±: más menos

°: grados

°C: grado centígrado

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

ANOVA: análisis de varianza

AOAC: asociación oficial de análisis químicos

BPAL: bacterias productoras de ácido láctico

C₂H₄O₂: ácido acético

C₃H₆O₂: ácido propiónico

C₄H₈O₂: ácido butírico

Ca: calcio

CH₄: metano

cm: centímetro

CNF: carbohidratos no fibrosos

CO₂: dióxido de carbono

cv.: cultivar

DAIVMO: digestibilidad aparente *in vitro* de la materia orgánica

DAIVMS: digestibilidad aparente *in vitro* de la materia seca

DMO: digestibilidad de la materia orgánica

EE±: error estándar

EEPFIH: Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey

FB: fibra bruta

FDA: fibra detergente ácido

FDN: fibra detergente neutro

g: gramo

h: hora

H₂O: agua

ha: hectárea

ICA: Instituto de Ciencia Animal

kg: kilogramo

KOH: hidróxido de potasio

L: litro

LN: latitud norte

LO: longitud oeste

m: metro

Mg: magnesio

mg: miligramo

mL: mililitro

mm: milímetro

mmol: milimol

MO: materia orgánica

MOinc: materia orgánica incubada

MS: materia seca

msnm: metros sobre el nivel del mar

N: normal

NH₃: amoníaco

N-NH₃: nitrógeno amoniacal

NT: nitrógeno total

O₂: oxígeno

P: fósforo

PB: proteína bruta

PG: producción de gas

pH: grado de acidez

PLL: periodo lluvioso

PPLL: periodo poco lluvioso

ppm: partes por millón

SSP: sistema (s) silvopastoril (es)

T1: 100 % sorgo

T2: 75:25 % de sorgo y pulpa de cítrico

T3: 50:50 % de sorgo y pulpa de cítrico

T4: 25:75 % de sorgo y pulpa de cítrico

TPGIV: técnica de producción de gas *in vitro*

vs.: *versus*

ÍNDICE DE CONTENIDO

Introducción.....	1
I. Capítulo I. Revisión bibliográfica	5
I.1 Rumiantes	5
I.1.1 El rumen y sus particularidades	5
I.2 Alimentación de rumiantes en el trópico.....	7
I.3 Ensilaje como método de conservación de alimentos.....	9
I.3.1 Primera etapa: Fase Aeróbica o Enzimática	10
I.3.2 Segunda etapa: Fase de Fermentación o Anaerobia.....	11
I.3.3 Tercera etapa: Fase Estable	11
I.3.4 Cuarta etapa: Fase de Deterioro Aerobio.....	11
I.4 Valor nutritivo de ensilados para rumiantes.....	12
I.5 Residuos agroindustriales y subproductos agrícolas en la alimentación de rumiantes	14
I.6 El sorgo en la alimentación de rumiantes.....	16
I.7 La pulpa de cítrico en la alimentación de rumiantes.....	17
I.8 Métodos para estimar el valor nutritivo de alimentos para rumiantes.....	19
I.8.1 Técnica de producción de gas <i>in vitro</i>	20
II. Capítulo II. Materiales y métodos	24
II.1 Ubicación geográfica.....	24
II.2 Material vegetal	24
II.3 Experimento I. Dinámica del proceso fermentativo de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca	24
II.3.1 Preparación de las muestras.....	24
II.3.2 Análisis de calidad	25

II.3.3	Análisis químicos	27
II.3.4	Diseño Experimental	27
II.3.5	Análisis estadístico.....	27
II.4	Experimento II. Evaluación del valor nutritivo <i>in vitro</i> de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca	28
II.4.1	Preparación de las muestras.....	28
II.4.2	Cinética de producción de gas <i>in vitro</i>	29
II.4.3	Producción de gas e indicadores químicos y gravimétricos en incubaciones de 24 horas	30
II.4.4	Diseño Experimental	30
II.4.5	Análisis estadístico.....	30
III.	Capítulo III. Resultados y discusión.....	33
III.1	Composición química de las materias primas empleadas en la confección de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca.....	33
III.2	Análisis de la calidad fermentativa de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....	34
III.2.1	Características organolépticas	34
III.2.1.1	Color de los ensilados	34
III.2.1.2	Olor de los ensilados	35
III.2.1.3	Textura de los ensilados.....	36
III.2.1.4	Humedad de los ensilados	36
III.2.2	Temperatura.....	37
III.2.3	pH	39
III.2.4	Ácidos grasos de cadena corta	41
III.2.4.1	Ácido acético	41

III.2.4.2	Ácido propiónico	42
III.2.4.3	Ácido butírico	43
III.2.5	Nitrógeno amoniacal	45
III.3	Composición química de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca	47
III.3.1	Materia seca.....	47
III.3.2	Proteína bruta	49
III.3.3	Materia orgánica	50
III.3.4	Fibra detergente neutro.....	51
III.3.5	Fibra detergente ácido	53
III.3.6	Digestibilidad de la materia orgánica	54
III.3.7	Composición de los minerales calcio, magnesio y fósforo	55
III.3.7.1	Contenido de Ca de los ensilados	55
III.3.7.2	Contenido de Mg de los ensilados.....	56
III.3.7.3	Contenido de P de los ensilados	57
III.4	Evaluación <i>in vitro</i> del valor nutritivo de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca	59
III.4.1	Cinética de producción de gas <i>in vitro</i>	59
III.4.2	Parámetros cinéticos.....	61
III.4.3	Indicadores químicos y gravimétricos en incubaciones de 24 horas.....	63
III.4.3.1	Proporciones molares de los ácidos acético, propiónico y butírico.....	63
III.4.3.2	Nitrógeno amoniacal.....	65
III.4.3.3	Digestibilidad aparente <i>in vivo</i> de la MS y digestibilidad aparente <i>in vitro</i> de la MO	67
IV.	Conclusiones.....	79
V.	Recomendaciones.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporción de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca (%) para la confección de microsilos.	25
Tabla 2. Características organolépticas para la evaluación de la calidad fermentativa de los ensilajes.	26
Tabla 3. Composición química y DMO (%) del sorgo planta entera y la pulpa de cítrico fresca empleados en la elaboración de los ensilajes.	33
Tabla 4. Variables organolépticas de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	35
Tabla 5. Valor de pH de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	39
Tabla 6. Contenido de amoníaco (%N-NH ₃ /NT) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	45
Tabla 7. Contenido de MS (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	47
Tabla 8. Contenido de PB (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	49
Tabla 9. Contenido de FDN (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	51
Tabla 10. Contenido de FDA (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	53
Tabla 11. Valores de DMO (%), obtenida por KOH, en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	54
Tabla 12. Parámetros cinéticos de la incubación <i>in vitro</i> de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	61

Tabla 13. Proporciones molares (%) de los AGCC acético, propiónico, y butírico a las 24 horas en la incubación *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....63

Tabla 14. Digestibilidad aparente *in vitro* de la MS (%) y digestibilidad aparente *in vitro* de la MO (%) de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Valores de temperatura de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca durante el proceso de fermentación.....	37
Figura 2. Dinámica de producción de ácido acético (mmol L^{-1}) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....	42
Figura 3. Dinámica de producción de ácido propiónico (mmol L^{-1}) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....	43
Figura 4. Dinámica de producción de ácido butírico (mmol L^{-1}) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....	44
Figura 5. Dinámica de la composición de la MO en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	51
Figura 6. Dinámica del contenido de Ca en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	56
Figura 7. Dinámica del contenido de Mg en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	57
Figura 8. Dinámica del contenido de P en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	58
Figura 9. Dinámica de producción de gas <i>in vitro</i> de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.	69
Figura 10. Concentración de N-NH ₃ a las 24 horas en la incubación <i>in vitro</i> de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.....	66

Introducción

Los forrajes son una parte esencial de las raciones en las dietas de los rumiantes para mantener la función ruminal y el desarrollo de los microorganismos del rumen (Xue, 2020). Por tanto, conocer su valor como alimento y su forma de conservación más apropiada es de gran importancia para los sistemas de producción, tanto en la región tropical, como en la región templada donde existe una evidente estacionalidad en la producción de forrajes (Li *et al.*, 2019). Este forraje bien conservado es necesario para la producción animal durante los períodos de escasez de alimento.

En el trópico los rumiantes basan su alimentación en el consumo de pastos y forrajes. Sin embargo, el crecimiento y la productividad de las pasturas depende de las condiciones climáticas existentes en la región, principalmente la distribución anual de las lluvias, la cual determina una elevada disponibilidad de forraje en el período lluvioso (PLL), en contraste con una escasa o nula disponibilidad de alimento en el período poco lluvioso (PPLL). En conjunto con otros factores del ambiente, el manejo del rebaño y del recurso pastizal, repercuten en que los pastos no logren su potencial productivo y nutricional, así como una adecuada persistencia en el tiempo. Esto conlleva a que la producción animal enfrente situaciones de marcado déficit alimenticio, tanto en calidad como en cantidad de nutrientes, fundamentalmente en el PPLL (Ku Vera, 2010; Canesin, 2014). Como resultado de la escasez de forrajes, el ganado sufre graves pérdidas de peso, lo cual afecta la productividad, la salud y la reproducción del rebaño (Asaolu *et al.*, 2015).

Por esta razón se impone la búsqueda de alternativas tecnológicas para alimentar el ganado, que no compitan con la alimentación humana, que sean económicamente factibles, amigables con el medioambiente, que contribuyan a reducir los costos y no compliquen el sistema de manejo en las explotaciones ganaderas a la vez que mejoren su eficiencia (Campos-Granados y Arce-Vega, 2016); como la utilización de fuentes alimenticias a base de ensilaje, henolaje y subproductos agroindustriales conservados, que permiten subsanar la deficiencia nutricional del rebaño a bajo costo (Asar *et al.*, 2010), obtener productos en mayores cantidades y con alto valor biológico durante la conservación (Fernández-Herrero *et al.*, 2013) y a su vez, reducir la pérdida de nutrientes por rápido deterioro y compensar los costos de producción (Ali *et al.*, 2014).

Entre las iniciativas más ventajosas se encuentra la confección de ensilajes, que garantiza sin ocasionar grandes transformaciones en la calidad nutricional del alimento, conservar el exceso de forraje producido durante el PLL para su utilización en el período de menor disponibilidad (Morales *et al.*, 2016). Por otra parte, los ensilajes son una contribución importante para optimizar el funcionamiento de los sistemas de producción animal en zonas tropicales y subtropicales (Alonso *et al.*, 2013).

En ese sentido, el uso de la planta entera de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y de residuos agroindustriales, como el bagazo o pulpa de cítrico, pueden constituir alternativas de fuentes vegetales a utilizar en la confección de ensilajes para suplir el déficit de alimento de los rumiantes durante el PPLL.

Problema de investigación

¿Cuál es la mejor combinación de planta entera de sorgo mezclada con pulpa de cítrico fresca para lograr un buen proceso de ensilado y un alimento de adecuado valor nutritivo para la alimentación de rumiantes?

Hipótesis de trabajo

La caracterización de la calidad del proceso fermentativo, la composición química y la estimación del valor nutritivo *in vitro* de formulaciones de ensilaje en base a planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca, permitirá determinar las mejores combinaciones a evaluar como suplemento en el período seco, en rumiantes alimentados en pastoreo de gramíneas mejoradas y leucaena.

Objetivo general

Evaluar la dinámica del proceso fermentativo, la composición química y el valor nutritivo *in vitro* de formulaciones de ensilaje en base a planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Objetivos específicos

- Caracterizar la dinámica del proceso fermentativo y la composición química de formulaciones de ensilaje en base a planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.
- Determinar el valor nutritivo *in vitro* de formulaciones de ensilaje en base a planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I. Capítulo I. Revisión bibliográfica

I.1 Rumiantes

Según Elghandour *et al.* (2015), los rumiantes son mamíferos que se han especializado en consumir material vegetal fibroso como celulosa, hemicelulosa y pectina, muy poco digestibles para las especies de estómago simple (monogástricas). Basada en esta diferencia fundamental, la fisiología digestiva de este grupo animal adquiere características particulares, que los convierte en uno de los grupos más especializados y desarrollados dentro de los mamíferos (Valadares-Filho y Pina, 2006). Las principales características se observan en la porción anterior del tubo digestivo, ya que los órganos responsables del proceso de degradación de los alimentos ubicados anteriores al abomaso (estómago glandular o verdadero) son denominados preestómagos. Además, estos animales presentan una gran capacidad gástrica, la cual es necesaria para mantener los alimentos el tiempo suficiente para ser digeridos (Ehrlich *et al.*, 2019).

La degradación del alimento se realiza generalmente por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas, y los procesos fermentativos los realizan diferentes grupos de microorganismos que se alojan en los divertículos estomacales del rumiante (Castillo-González *et al.*, 2014; Díaz, 2017).

Por esta razón, se debe tener presente que, al alimentar a los rumiantes, primero se alimenta a los microorganismos ruminales (Rodríguez, 2003), y, que, según Albores-Moreno *et al.* (2017) para el buen desarrollo de esta microbiota, tiene que haber un medio ruminal favorable. De esta forma hay una simbiosis entre los microorganismos y el animal hospedador.

I.1.1 El rumen y sus particularidades

El rumen es un ecosistema anaeróbico que presenta características muy particulares de acidez (pH) y temperatura y, se encuentra habitado por una de las más complejas, variadas, densas y activas poblaciones microbianas conocidas en la naturaleza, representada por bacterias, hongos, protozoos, arqueas (Uyeno *et al.*, 2015; Patra *et al.*, 2017) y, en menor medida, bacteriófagos (Galindo *et al.*, 2017).

Este órgano no produce enzimas capaces de hidrolizar las uniones β -1,4 y β -1,6 glucosídicas presentes en la celulosa y otros componentes que constituyen las paredes celulares de los vegetales. Sin embargo, contiene el mayor complejo enzimático que se conoce, sitio principal de degradación de la celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en los materiales fibrosos (González *et al.*, 2011).

En el ecosistema ruminal los microorganismos endosimbiontes transforman los hidratos de carbono ingeridos por el rumiante en ácidos grasos de cadena corta (AGCC) Díaz (2017), estos le proporcionan al animal la mayor parte de la energía que requiere para sus procesos metabólicos (Galindo *et al.*, 2017). Por otro lado, el amonio constituye la principal fuente para la síntesis de proteína microbiana, entre un 50 y 70 % del total (Castillo-Lopez y Domínguez-Ordóñez, 2019), incrementándose el crecimiento bacteriano al incorporar péptidos y aminoácidos en la dieta.

La comunidad microbiana que habita el rumen se caracteriza por su alta densidad de población, y amplia diversidad y complejidad de interacciones. Contiene un gran número de bacterias, más de 10^{11} células/mL, que comprenden aproximadamente 200 especies (Petri *et al.*, 2012) protozoos ciliados (10^4 - 10^6 células/mL), distribuidos en 25 géneros, hongos anaerobios del rumen (10^3 - 10^5 zoosporas/mL), divididos en 6 géneros y, bacteriófagos, 10^7 - 10^9 partículas/mL (Kumar *et al.*, 2009).

Las bacterias constituyen la mayor y más diversa comunidad microbiana presente en el rumen, donde realizan varias funciones importantes para el desarrollo del rumiante. De acuerdo a la utilización de sustratos y productos finales que producen, se clasifican en celulolíticas, hemicelulolíticas (Koike y Kobayashi, 2001), amilolíticas, proteolíticas, fermentadoras de azúcares, bacterias que utilizan los ácidos, metanogénicas (Cheng *et al.*, 2009), lipolíticas, pectinolíticas, bacterias sintetizadoras de vitaminas y de aminoácidos como fuente de energía (Edwards *et al.*, 2004; Stevenson y Weimer 2007). También se presentan en cantidades diferentes, según la especie animal y la dieta que consumen (Yang *et al.*, 2010; Malmuthuge y Guan, 2017).

Los protozoos son microorganismos que presentan un tamaño relativamente grande (entre 15 y 200 micras). Son anaerobios estrictos y por lo general se dividen en dos grupos: holotricos y entodiniomorfos. Los holotricos tienen la superficie del cuerpo cubierta de cilios

y su forma es ovalada o redonda, son móviles y utilizan carbohidratos no fibrosos (CNF), fundamentalmente solubles. Los entodiniomorfos son más complejos en cuanto a su morfología, y más específicos en sus requerimientos nutritivos (Salas y Echeverry, 2010). Existen otros criterios para clasificar a los protozoos ruminales, por ejemplo, Díaz (2017) los clasifica en ciliados y flagelados. Según Galindo *et al.* (2017) estos microorganismos mejoran la digestibilidad del alimento y estabilizan el pH del rumen en los animales que consumen dietas ricas en almidón.

Por otra parte, los hongos son generalmente anaerobios y se encuentran en forma de zoosporas y esporangios (Bedoya-Mazo *et al.*, 2016). Estos microorganismos tienen gran habilidad para colonizar paredes celulares lignificadas y debilitar los tejidos fibrosos de las plantas (Díaz, 2017). Poseen una potente batería enzimática (celulasas, xilanasas y esterases), que les permiten la degradación de los componentes estructurales de la pared celular de las plantas y la fermentación de los monosacáridos resultantes (Castillo-González *et al.*, 2014).

I.2 Alimentación de rumiantes en el trópico

En los sistemas ganaderos, la alimentación del rebaño es la principal fuente de gastos, sobre todo al emplear concentrados a base de maíz o soya, los cuales tienen precios elevados, debido a su demanda para la alimentación humana y los animales monogástricos (Campos-Granados y Arce-Vega, 2016; Hernández-Montiel *et al.*, 2017). Por tanto, se hace imprescindible la búsqueda de nuevas alternativas, de menor costo y amplia disponibilidad, para la alimentación del rebaño en las explotaciones productivas (Lazo-Salas *et al.*, 2018).

En los sistemas ganaderos tropicales la alimentación de los animales es a base de pastos y forrajes. Estos son la fuente principal de nutrientes y la más económica para los rumiantes en el trópico, ya que le aportan al animal entre el 40 y el 90 % de sus requerimientos nutricionales (Uvidia *et al.*, 2015) y su digestibilidad *in vitro* fluctúa en función de la especie utilizada, la época del año, el estado de madurez de la planta, así como el manejo que esta reciba. Barros *et al.* (2012) informan valores de digestibilidad *in vitro* de la materia seca de 68,3 % para *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, mientras que *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs y *Cynodon nlemfuensis* Vandyerst presentaron 59,7 y 58,4 %, respectivamente. Estudios realizados por González *et al.* (2012) encontraron que la

digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de varias especies de gramíneas y leguminosas tropicales osciló entre 29,6 y 66,7 %, encontrándose valores mayores en las leguminosas.

Sin embargo, la producción de pastos y forrajes varía durante el año, ya que el PPLL se caracteriza por una menor disponibilidad de biomasa, mientras que en el PLL se producen excedentes de biomasa forrajera que se pierden si no se conservan de manera eficiente (Paytan *et al.*, 2017). Por lo que, es fundamental en los sistemas ganaderos disponer de forraje de calidad durante el PPLL, donde los pastizales y las pasturas tropicales prácticamente no crecen y lo que está en pie es de baja calidad.

Una de las alternativas de alimentación para rumiantes en el trópico, es la introducción de sistemas silvopastoriles (SSP), entre ellos la siembra de árboles en los potreros, el uso de cercas vivas, cortinas rompevientos y bancos forrajeros. Los SSP, al tiempo que mejoran la calidad nutricional de la dieta, también ayudan a liberar áreas degradadas para permitir en ellas la regeneración natural, convertirse en sumideros de carbono y hábitat de diversos organismos o corredores biológicos que permiten la conectividad entre ecosistemas (Villanueva-Naranjo, 2018; del Pozo, 2019; Ballesteros-Correa *et al.*, 2019).

Según Murgueitio *et al.* (2015), *L. leucocephala* (Lam.) de Wit, llamada leucaena, acacia forrajera o carbonero blanco, es una leguminosa perenne, con un amplio potencial para la alimentación de los rumiantes y capaz de crecer con gramíneas acompañantes en condiciones tropicales y subtropicales, características que le han propiciado ser una de las plantas arbóreas más utilizadas en la implementación de los SSP por su contribución para generar sistemas más productivos y sostenibles en las condiciones del trópico.

Barros *et al.* (2012) y Cardona *et al.* (2015) mencionaron que el follaje de leucaena contiene 29 % de proteína bruta (PB), es altamente digestible (63 %; *in vitro*) y su producción de biomasa permanece constante a lo largo del año. Otros estudios realizados por Cristóbal *et al.* (2019) plantean que la incorporación de esta leguminosa en los SSP representa una alternativa para incrementar la producción de carne y leche de rumiantes, ya que provee de forraje rico en nutrientes indispensables, como el nitrógeno, para el crecimiento y la productividad de los animales.

Por otra parte, una manera de lograr disminuir el déficit de alimentación que sufre el ganado durante el PPLL es conservar o transferir una porción del forraje producido en el período de

mayor producción hacia el momento en el que escasea el pasto. De esta manera, se puede mantener estable la oferta de alimento durante todo el año. El forraje se puede conservar en silos (conservación en forma húmeda, fermentación sin O₂) o como heno (forraje seco) y en forma de harina de hierba, variantes que permiten conservar el exceso de forraje producido durante el PLL, para ser suministrado en el PPLL (Morales *et al.*, 2016; Mapato y Wanapat, 2018). En ese sentido, la producción de ensilajes mixtos permite aprovechar los excedentes de forrajes que se producen en determinadas épocas del año, facilitar la inclusión de subproductos agroindustriales en la alimentación de bovinos, incrementar la carga animal y mejorar el balance de la dieta (Zu Ermgassen, 2018).

I.3 Ensilaje como método de conservación de alimentos

El ensilaje es un método de conservación de forrajes en estado húmedo mediante fermentación que conduce a la acidificación, en el que se inhibe el crecimiento de microorganismos que degradan la materia orgánica (MO). El material a ensilar puede ser preservado con ácidos, sean estos agregados o producidos en el proceso de fermentación, y es llevado a un depósito de dimensiones y forma variable denominado silo, al abrigo del aire, la luz y la humedad exterior, en el que se dispone el alimento en capas uniformes se elimina el aire mediante compresión y se cubre finalmente (Mogodiniyai, 2016).

El forraje que se ensila, según Sánchez (2018), experimenta una serie de transformaciones físicas y químicas que definen su calidad como consecuencia de la acción de las enzimas de la planta y la microbiota epífita de los forrajes, en particular las bacterias productoras de ácido láctico (BPAL) o las que se puedan incorporar de manera voluntaria (aditivos) y/o accidental (contaminación con suelo o similar).

Con el uso adecuado de esta técnica de conservación, los forrajes se almacenan con un mínimo de pérdidas de materia seca (MS) y de nutrientes, además, mantienen una buena palatabilidad por el ganado. El propósito es conseguir un valor nutricional y un estado físico-químico similar al del forraje en el momento de la cosecha (Caraballo, 2012). La utilización de ensilajes para la alimentación animal es favorable, debido al bajo costo y elevado rendimiento biológico del producto final que se obtiene (Latsch y Sauter, 2013). Además, estudios realizados por Oliviera *et al.* (2015) plantean que el ensilaje permite aumentar el número de animales por hectárea, la sustitución o complementación de los concentrados, a

la vez que favorece manejar el ganado en forma intensiva, semi-intensiva o estabulada. Por consiguiente, permite reducir los riesgos de contaminación, aminorar los niveles de metabolitos secundarios o factores anti-nutricionales que puedan estar presentes en el follaje de algunas plantas y garantizar un suministro permanente a los animales (Estrada *et al.*, 2013).

La calidad final del ensilado depende, tanto de las materias primas, como de la implementación adecuada de la técnica. Entre los factores relativos a la materia prima destacan la edad de corte, el nivel de humedad, el tamaño de las partículas, la porosidad de la masa forrajera y la resistencia a la compactación (Latsch y Sauter, 2013); mientras que la calidad fermentativa está determinada por la concentración de ácidos orgánicos, nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y pH (Santana, 2004; Mapato y Wanapat, 2018).

El proceso del ensilaje se puede dividir en cuatro etapas, según Wilkinson y Davies (2013), una vez que el material fresco ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluirlo del aire.

I.3.1 Primera etapa: Fase Aeróbica o Enzimática

Esta fase dura pocas horas. El O₂ presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de las células vegetales y los microorganismos aerobios y aerobios facultativos, como las levaduras y enterobacterias. Además, hay actividad de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco pH 6,0 a 6,5 (Rodríguez *et al.*, 2017).

La presencia en el ensilaje de las levaduras es indeseable porque bajo condiciones anaerobias fermentan los azúcares y producen etanol y CO₂ como productos finales (Beretervide, 2015). La producción de etanol disminuye el azúcar disponible para producir ácido láctico y produce un mal gusto en la leche al emplear estos ensilajes para alimentar vacas lecheras (Randby *et al.*, 1999). En condiciones aerobias muchas especies de levaduras degradan el ácido láctico en CO₂ y H₂O, lo que eleva el valor del pH del ensilaje y permite el desarrollo de otros microorganismos indeseables (McDonald *et al.*, 1991).

Gallardo (2013) y Rodríguez *et al.* (2017) mencionan que la mayoría de las enterobacterias que se encuentran en el ensilaje no son patógenas, su desarrollo en el ensilaje es perjudicial porque compiten con las BPAL por los azúcares disponibles y porque degradan las

proteínas, esta degradación proteica causa una reducción del valor nutritivo del ensilaje y genera compuestos tóxicos como aminos biogénicas y ácidos grasos de cadena múltiple.

I.3.2 Segunda etapa: Fase de Fermentación o Anaerobia

Se inicia al producirse un ambiente anaerobio, esta puede extenderse de 7 a 14 días, en función de las características del material ensilado y de las condiciones ambientales en el momento del ensilaje (Alpizar, 2010). Según Ojeda *et al.* (1991) y Beretervide (2015), si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad de las BPAL proliferará, convirtiéndose en la población predominante y, debido a la producción de AGCC, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0. Los AGCC más frecuentes en el ensilaje son: acético, butírico y láctico, y la relación entre ellos determina la calidad de conservación y la aceptabilidad posterior del ensilado por parte de los animales (Acosta, 2002).

Las BPAL pertenecen a la microbiota epifítica de los vegetales y, las más comunes que se asocian con el proceso de ensilaje, pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. Todos los miembros de las BPAL son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaerobia (Hammes *et al.*, 1992). La acidez generada por estos microorganismos evita el crecimiento de bacterias del género *Clostridium* (Gallardo, 2013; Rodríguez *et al.*, 2017) que producen fermentaciones indeseables, como la butírica.

I.3.3 Tercera etapa: Fase Estable

En esta etapa, la mayoría de los microorganismos de la fase de fermentación lentamente reducen su presencia, algunos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas, y sólo algunas proteasas y carbohidrasas y microorganismos especializados como *Lactobacillus buchneri*, que toleran ambientes ácidos, continúan activos, pero a menor ritmo (Beretervide, 2015). Si el ambiente se mantiene sin aire, ocurren pocos cambios, algunas bacterias indeseables en esta fase estable son las bacterias acidófilas, ácido tolerantes y aerobias.

I.3.4 Cuarta etapa: Fase de Deterioro Aerobio

Ocurre en todos los ensilajes, al ser abiertos y expuestos al aire para su empleo en la alimentación animal, pero puede ocurrir antes, por daño de la cobertura del silo provocado

por un accidente o la acción de aves o roedores. El período de deterioro se puede dividir en dos etapas, la primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y, ocasionalmente, por bacterias que producen ácido acético (Kung, 2000). Por lo cual aumenta el valor del pH, lo que garantiza el inicio de la segunda etapa de deterioro, donde se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje. También incluye la actividad de otros microorganismos aerobios, igualmente facultativos, como mohos y enterobacterias (Contreras-Govea *et al.*, 2011).

I.4 Valor nutritivo de ensilados para rumiantes

Los avances alcanzados en el campo de la nutrición de rumiantes hacen necesario un conocimiento cada vez más preciso del valor alimenticio de los forrajes, tanto frescos, como conservados, los cuales constituyen, en el trópico la mayor y más económica fuente para la alimentación de los animales, por lo que, es sumamente importante conocer el valor alimenticio de los diferentes forrajes verdes o conservados que pueden formar parte de la ración y que permitan exteriorizar el máximo potencial productivo de los animales (Cáceres y González, 2000). En el trópico, los ensilajes se encuentran entre los ingredientes dietéticos más comunes utilizados en los sistemas de producción de carne y leche bovina (Queiroz *et al.*, 2018), de ahí la importante para los productores de conocer su calidad como alimento para determinar su nivel de inclusión en una ración (Royón, 2017).

El conocimiento de la composición química de un alimento permite predecir su valor nutritivo, el cual viene dado por su contenido de principios alimenticios y la digestibilidad de los mismos. En consecuencia, el valor nutritivo de un forraje debe reflejar su capacidad de satisfacer los requerimientos nutricionales de un animal para un objetivo de producción particular y, la mejor manera de expresarlo, es a través de la respuesta o producción animal obtenidas (Trujillo y Urriarte, 2015). Según Piñeiro-Vázquez *et al.* (2013), la calidad nutritiva de un alimento está en función de la proporción, el nivel de consumo, la digestibilidad, el contenido de nutrientes y la eficiencia en que estos pueden ser metabolizados y utilizados por los animales.

Sin embargo, el análisis químico no es suficiente para conocer el valor nutritivo de los alimentos, también es importante considerar los procesos asociados con su digestión,

absorción y metabolismo (Posada *et al.*, 2012). Las pruebas de digestibilidad permiten estimar la proporción de nutrientes presentes en una ración que puedan ser absorbidos por el aparato digestivo del animal y que, por tanto, no se eliminan con las heces (Pond *et al.*, 2002).

En los ensilajes, el valor nutritivo está determinado, principalmente, por la composición del forraje al momento de la cosecha (fibra, materias nitrogenadas, minerales, hidratos de carbono, etc.) y por las modificaciones químicas que tienen lugar durante el proceso de ensilado, que viene definida por los productos finales de las fermentaciones que tienen lugar en el mismo. Este valor nutritivo es siempre menor en relación al material de origen y la magnitud de estos cambios es dependiente de las medidas que se adopten para conducir el proceso de conservación técnicamente en la forma más adecuada, al considerar el valor nutritivo como una función del consumo voluntario, digestibilidad y eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos (Mier Quiroz, 2009). No obstante, factores como la especie y el estado de madurez de los forrajes a la hora de ensilar pueden afectar su valor nutritivo (Méndez *et al.*, 2018).

En este sentido, Khan *et al.* (2015) al evaluar el nivel óptimo de inclusión de ensilaje de maíz en la ración de vacas lecheras en producción y en la composición de la leche, encontraron que el valor nutritivo de los ensilajes de maíz es muy variable y que la mayor parte de esta variación es causada por grandes diferencias en la madurez en la cosecha; por ejemplo, los ensilajes de maíz en una etapa muy temprana (MS<25 %) fueron particularmente bajos en el contenido de almidón y en la relación almidón/fibra detergente neutro (FDN), y por tanto, resultaron en una menor ingesta de MS, rendimiento de leche y contenido de proteína de la leche.

De igual manera, da Silva *et al.* (2018) al evaluar el valor nutritivo y la calidad de fermentación de ensilajes mixtos de pasto empalizado (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraes) y stylo (*Stylosanthes capitata* x *S. macrocephala* cv. Campo Grande) reportaron que con el aumento de la proporción de stylo en ensilajes mixtos, la MS, PB, la fibra detergente ácido (FDA) y el contenido de lignina aumentaron en los ensilajes.

I.5 Residuos agroindustriales y subproductos agrícolas en la alimentación de rumiantes

El interés por la utilización de subproductos agrícolas y residuos agroindustriales en la alimentación de rumiantes ha crecido en el ámbito mundial en los últimos años, a medida que la disponibilidad de granos se reduce (García *et al.*, 2015). El notable desarrollo de la agricultura ha generado un amplio abanico de alimentos alternativos, que permiten explorar opciones de menor costo, mayor eficiencia y mejora de la rentabilidad de los sistemas ganaderos. Según Gallardo (2018) estos alimentos poseen alto valor nutricional, debido a que en los procesos de extracción industrial se concentran en ellos uno o más compuestos químicos, tales como proteínas, lípidos y carbohidratos fibrosos. Incluso, muchos pueden constituir fuentes alternativas de energía para reemplazar una parte del clásico grano de maíz, insumo básico de las dietas concentradas de los bovinos.

Por lo tanto, disponer de estos recursos que, *per se*, constituyen actualmente un peligro ambiental, son de carácter endógeno y de gran potencial en alimentación de rumiantes (Núñez-Torres, 2017), es de gran importancia porque permite utilizar la capacidad digestiva de estos animales (Almarcha, 2016), prolongar la curva de lactación, aumentar la producción, reemplazar, total o parcialmente, los concentrados de la ración y disminuir el costo de producción (Ben Salem y Smith, 2008). Además, su uso favorece la sostenibilidad ambiental (Vargas y Pérez, 2018) y, según Philippidis *et al.* (2014), no compite con la alimentación humana y transforma el residuo en entrada de otros procesos productivos, de acuerdo con el concepto de economía circular y bioeconomía.

Existen una gran variedad de residuos de cosecha como la paja de maíz, productos del procesamiento de alimentos y de subproductos de molinería, tubérculos, raíces, frutas y subproductos de agroindustrias, que son aprovechados como suplementos forrajeros en la alimentación de rumiantes. A estos se los clasifica generalmente en suplementos proteicos y suplementos energéticos. Dentro de los proteicos están los subproductos de la industria aceitera como la harina de soja, semillas de girasol y harina de palma (palmiste). También se cuenta con subproductos de la industria cervecera como hez de malta; subproductos de origen animal de la industria frigorífica, como harinas de sangre, carne y hueso; de la industria avícola como cama de pollo (pollinaza); de la industria pesquera como la harina de

pescado. Dentro de los suplementos energéticos están los subproductos de la industria molinera, entre ellos los afrechillos de trigo y arroz; subproductos de la industria frutícola, el rechazo de banano, pulpa de cítricos, orujo de uva; subproductos de la industria azucarera, melaza, bagazo y subproductos de la industria lechera como el suero (Fernández-Mayer, 2014; Campos-Granados y Arce-Vega, 2016; Grandez-Pisco, 2018).

Sin embargo, el uso de la mayor parte de estos residuos es, en muchas ocasiones inapropiado, debido a su producción estacional, una composición variable, elevada humedad que favorece su rápido deterioro en condiciones tropicales, y la falta de conocimiento en cuanto a su valor nutritivo, su conservación, su implementación en la dieta y las pautas de uso (González, 2013). Los subproductos en el trópico tienen generalmente un alto contenido acuoso y el ensilaje puede constituir una técnica adecuada de conservación (Cândido *et al.*, 2007).

Pero en una primera etapa, para un adecuado aprovechamiento de los residuos agroindustriales y subproductos agrícolas en fresco o como ensilaje, de modo independiente, o en combinación con forrajes, es necesario caracterizar la producción y composición cuantitativa y cualitativa de dichos residuos y subproductos, su valor nutritivo en fresco, su aptitud para el ensilaje, la estabilidad del producto aeróbica y anaeróbica, así como, la composición química y el valor nutritivo de los alimentos obtenidos (Gallardo, 2018). Este conocimiento permitirá establecer el valor relativo de los mismos en las raciones para la alimentación de los animales y garantizará una inclusión apropiada en la formulación de dietas.

Rego *et al.* (2010) plantean que cada año se producen millones de toneladas de residuos y subproductos por diferentes actividades agrícolas. Muchos de estos residuos han sido ampliamente estudiados para su uso en la alimentación animal, con el fin de reducir los costos de los sistemas de producción ganadera y reducir al mínimo la contaminación del medio ambiente; por ejemplo, la inclusión de subproductos en la dieta de rumiantes puede disminuir la producción de metano (Romero-Huelva *et al.*, 2012; Romero-Huelva y Molina-Alcaide, 2013), la excreción de nitrógeno en orina (Romero-Huelva y Molina-Alcaide, 2013) y aumentar la producción de leche (Santi *et al.*, 2015; Chacha, 2016). Sin embargo, a pesar de lo expuesto, todavía existen grandes lagunas en su conocimiento, desde la forma de

preparar y conservar el subproducto para su utilización comercial, hasta el nivel de inclusión, según sea el estado fisiológico y productivo de los animales.

I.6 El sorgo en la alimentación de rumiantes

Sorghum bicolor (L.) Moench, conocido como sorgo, es una especie vegetal originaria de África, específicamente de Sudán y Etiopía (Kimber *et al.*, 2013). Es una gramínea tropical de metabolismo tipo C4, que a través del mejoramiento genético se ha difundido a las regiones templadas del mundo, estableciéndose como un cultivo de gran adaptación ambiental (Von Pinho *et al.*, 2014). Según Kimber *et al.* (2013), se trata de un cereal reconocido como altamente productivo, resistente a la sequía, que provee a la humanidad alimento, forraje, fibra y energía, particularmente en las regiones semiáridas del mundo.

Fernández *et al.* (2013) plantean que el sorgo se adapta bien a los ambientes con limitación de lluvias, altas temperaturas y baja fertilidad del suelo, usa el H₂O de forma más eficiente que el maíz, tiene mayor producción de biomasa y manifiesta un adecuado rendimiento para la producción de ensilaje. Todo lo anterior expuesto le confiere mayor estabilidad de rendimiento que el maíz en situaciones productivas de menor potencialidad.

Todos los sorgos cultivados pertenecen a *S. bicolor* (L.) Moench (Uzun *et al.*, 2009), sin embargo, sólo las subespecies bicolor y sudanense (*S. bicolor* (L.) Moench, y *S. x sudanense* (Piper) Stapf), respectivamente, son importantes en la actividad agropecuaria (Awad *et al.*, 2013).

Entre sus alternativas de uso se encuentra el grano seco o húmedo (Giorda y Ortiz, 2012), la panícula (*earlage*) (Cisint *et al.*, 2014) o ensilaje picado de planta entera (Giorda y Ortiz, 2012). Todas ellas están basadas en la potencialidad de obtener productos de una sola cosecha, debido a que el sorgo según Hall (2008) no presenta una alta capacidad de rebrote para utilizarse bajo pastoreo en verde.

Por todo lo anterior, el sorgo es un importante recurso energético en la alimentación de rumiantes, lo cual se favorece por sus características nutricionales, al presentar adecuados niveles de carbohidratos solubles, relativa baja capacidad tampón, un contenido de proteína entre 5 y 19,3 %, con un promedio de 10,7 %, en función del cultivar y factores como el suelo, el clima y el manejo empleado en el cultivo, el contenido de MS es superior al 20 %

y el contenido de fibra es bajo, por lo que aumenta su digestibilidad (Cabral-Filho *et al.*, 2013).

Desde el punto de vista nutricional, los ensilajes de sorgo se caracterizan por su aporte importante de energía y fibra en las dietas, lo que permite ganancias de peso diario de 700 a 1000 g (Pordomingo, 2013), sin embargo, su aporte en PB muchas veces no cubre las dietas para rumiantes (Bressani *et al.*, 2014). Por lo que, su potencial alimenticio, una vez cubiertos los requerimientos proteicos, ha demostrado satisfacer nutricionalmente la demanda de rumiantes en producción. Guevara *et al.* (2016) encontraron que la suplementación con ensilajes de maíz o sorgo aumentó la producción de leche y mejoró la ganancia de peso de las vacas. Por otra parte, Khosravi *et al.* (2018) observaron que el reemplazo total de ensilajes de maíz por ensilajes de sorgo forrajero no afectó la ingesta de MS, la producción de leche, la eficiencia alimenticia y las concentraciones de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos de la leche. Estos autores demostraron que la utilización de forraje de sorgo puede ser una excelente opción para granjas lecheras en áreas donde el cultivo de maíz es difícil debido a la escasez de H₂O.

Resultados similares fueron reportados por Yang *et al.* (2019) al evaluar el efecto de la suplementación enzimática con xilanasa en el rendimiento de la producción, la digestibilidad de nutrientes y el perfil de ácidos grasos de la leche en vacas lecheras de alta producción que consumen dietas basadas en ensilaje de maíz o ensilaje de sorgo. Este tipo de suplementación no afectó la ingesta de MS, el rendimiento de leche, el porcentaje y el rendimiento de grasa de la leche, el porcentaje y el rendimiento de proteína, el porcentaje y el rendimiento de lactosa. Estos autores mostraron que, en la alimentación de vacas lecheras, el tipo de ensilaje, no afecta las proteínas de la leche y las concentraciones de lactosa, además, que el rendimiento de la producción puede mantenerse al alimentar el rebaño con ensilaje de sorgo en reemplazo del ensilaje de maíz.

1.7 La pulpa de cítrico en la alimentación de rumiantes

La pulpa de cítrico es un residuo de la industria del procesamiento de estas frutas para la alimentación humana, la cual ha sido utilizada como alimento rico en energía en la dieta de bovinos debido a su valor nutricional. La cáscara (fresca, ensilada o seca) se usa para reemplazar parcialmente componentes de la dieta convencional, como los cereales (Zema

et al., 2018). El porcentaje de sustitución que se introducirá en la dieta animal depende de la raza del ganado y su estado fisiológico.

Como alimento animal, posee un contenido de nutrientes digeribles totales de aproximadamente el 80 %, debido a su alto contenido de carbohidratos y fibra (Lashkari y Taghizadeh, 2015). Es una buena fuente de calcio y antioxidantes naturales, aunque su contenido de proteínas, fósforo y carotenos es limitado (Bampidis y Robinson, 2006). Según Marino *et al.* (2013), Lashkari y Taghizadeh (2013) se caracteriza por un alto potencial nutritivo, debido a la gran cantidad de pectinas que aporta y al bajo contenido de lignina, elementos que favorece la digestibilidad de los alimentos.

Se ha observado que la pulpa de naranja dulce es una fuente de calorías y proteínas comparables con el maíz (Oluremi *et al.*, 2006). Sin embargo, Caparra *et al.* (2007) plantean que el contenido de proteína de la cáscara de los cítricos tiene una baja digestibilidad y, por lo tanto, en el caso de las dietas de animales basadas principalmente en cáscara, es necesario suplementar proteínas, así como vitaminas y minerales. Para estos autores, por sus propiedades peculiares, este residuo se utiliza mejor como alimento para rumiantes criados para la producción de carne y leche, ya que puede reemplazar parcial o totalmente la porción de cereal. Por otra parte, Cevolani (2016) reporta que el sabor amargo, debido a la presencia de aceites esenciales, le da a la fruta entera de naranja y mandarina baja palatabilidad para los animales, además del problema del aceite esencial, el uso de residuos de limón es más difícil debido a la alta acidez de su pulpa; por lo que, la alimentación del ganado con gran cantidad de pulpa seca no afecta la palatabilidad de los alimentos y la producción de leche.

Se han llevado a cabo muchas experiencias de alimentación de animales con pulpa de cítricos, principalmente en áreas mediterráneas (Zema *et al.*, 2018). Por ejemplo, la cáscara de cítricos se suministró en dietas para corderos de engorde, lo que resultó en un buen color y calidad de la carne, a la vez que mejora la digestión de los rumiantes, al aumentar la secreción de solución ácida en el estómago (Marino *et al.*, 2013). Afzalani *et al.* (2015) mostraron que la suplementación de la dieta basal a una dosis de 400 ppm de aceite esencial extraído de la cáscara de naranja es un aditivo alimenticio adecuado para

manipular la fermentación microbiana del rumen y mejorar los metabolitos sanguíneos en el engorde del ganado.

Por su parte, Domínguez (2015) comprobó que la incorporación de pulpa de cítrico en la dieta de cabras lecheras aumentó significativamente el contenido en grasa (4,7 vs. 5,1 %) y extracto seco de la leche (13,6 vs. 14,1 %) para las dietas control y pulpa de cítrico, respectivamente, pero no afectó la producción, los contenidos de proteína y lactosa, el recuento de células somáticas y al rendimiento quesero.

También, Bermúdez *et al.* (2015) al evaluar la inclusión de ensilaje de frutos enteros de naranja en 26 hembras bovinas F1 (Cebú x Holstein) encontraron efectos positivos en la producción, porcentaje de sólidos totales, PB, grasa total, pH, acidez de la leche y pH ruminal, por lo que los resultados de este estudio indican que el ensilaje de naranjas enteras es una alternativa viable para la alimentación de bovinos. Lenehan *et al.* (2017) demostraron que el tipo de suplemento no afectó la ingesta de ensilaje de hierba, el aumento de peso vivo, el peso vivo final y la composición corporal al evaluar los efectos de reemplazar la cebada enrollada (alta en almidón) con pulpa de cítricos (alta en fibra digestible). Estos autores encontraron que la pulpa de cítricos puede reemplazar la cebada en suplementos concentrados para el ganado en crecimiento sin afectar negativamente el rendimiento.

Otros estudios han utilizado residuos de la industria citrícola para el control parasitario de los rumiantes, por ejemplo, Callaway *et al.* (2011a) emplearon con éxito la cáscara de cítricos y la pulpa de naranja seca como aditivos en la dieta de las ovejas para afectar la población de *Escherichia coli in vivo*. Además, Callaway *et al.* (2011b) demostraron que la inclusión de productos de cáscara de naranja en las dietas redujo las poblaciones de *Salmonella typhimurium* en el intestino de ovejas inoculadas experimentalmente.

I.8 Métodos para estimar el valor nutritivo de alimentos para rumiantes

La evaluación de un alimento debe definir las características que determinan la producción animal, por ejemplo, la ganancia de peso, la producción de leche, el crecimiento de la lana, la predicción del consumo, etc. (Blümmel *et al.*, 1997). Esta evaluación les suministra a los nutricionistas la información necesaria para formular una dieta desde el punto de vista fisiológico y económico, con vistas a optimizar la productividad del animal.

La estimación del valor nutricional de un alimento para rumiantes se puede realizar por métodos *in vivo*, *in situ* e *in vitro* (Gutiérrez *et al.*, 2018; Iraola *et al.*, 2019). Estos métodos presentan ventajas tales como la predicción del consumo, la determinación de la calidad del alimento, el estudio de los constituyentes de los alimentos (Secombe y Lester, 2012), la predicción de la digestibilidad, el estudio de la cinética de fermentación, el nivel de aprovechamiento y su efecto en el desempeño productivo y en la salud del animal, entre otros (Vargas *et al.*, 2015; Gutiérrez *et al.*, 2018).

Según Bayona *et al.* (2013) los estudios *in vivo* del valor nutritivo son procesos laboriosos que consumen mucho tiempo, requieren un número importante de animales, cuidado para los animales, grandes cantidades de material vegetal, mano de obra y son, por tanto, económicamente costosos y difíciles de estandarizar.

Por otro lado, la técnica *in situ* de bolsa de nylon, para evaluar la degradabilidad de los alimentos, permite determinar la cinética de degradación de estos en el rumen directamente (Orskov *et al.*, 1980). Es una metodología no recomendable para alimentos solubles, con gran cantidad de partículas finas y altas proporciones de almidón y lípidos, ya que su condición los haría desaparecer de los sacos de nylon sin ser degradados. Además, para poder realizar esta técnica son necesarios animales con cánulas ruminales donde se colocan los sacos directamente en el rumen. Además, la técnica *in situ* de la bolsa de nylon está afectada por numerosos factores, destacándose el tipo de alimento, el nivel y frecuencia de ingestión, la especie animal, su estado fisiológico, tamaño de partícula del forraje, tamaño de la bolsa de nylon y el diámetro de poro, entre otros (López, 2005), por lo que se han propuesto algunas técnicas *in vitro*, como alternativas para la estimación del valor nutritivo de alimentos para rumiantes, como solución al alto costo y la limitación en el número de muestras a evaluar, asociados a las técnicas *in vivo* e *in situ* (Aguirre-Valverde *et al.*, 2017).

I.8.1 Técnica de producción de gas *in vitro*

Según Bruni y Chilbroste (2001), la mayoría de los procedimientos *in vitro* desarrollados miden la desaparición del sustrato en un punto final de medida. Con el objetivo de obtener sistemas reproducibles y repetibles, se han propuesto sistemas estáticos y estandarizados. Estas 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

como desventajas que no es posible determinar el rol de los componentes solubles del forraje y es muy difícil el estudio de las fases tempranas de fermentación (Pell y Schofield, 1993).

Según Rodríguez *et al.* (2014); Rodríguez *et al.* (2019) y Zhou *et al.* (2020) 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, como una herramienta valiosa que describe la capacidad fermentativa de los alimentos para rumiantes, a la vez que se presta especial atención en la acumulación de los productos finales de la fermentación: CO₂, CH₄ y AGCC.

La Técnica de Producción de Gas *in vitro* (TPGIV) se ha utilizado ampliamente para evaluar la interacción entre diferentes alimentos, el efecto de la inclusión de suplementos energéticos y proteicos (alimentos concentrados, forrajes de árboles y arbustos) en las características de degradación de la dieta básica de los rumiantes (Cardona *et al.*, 2015; Crosby-Galván y Ramírez-Mella, 2018; Marrero *et al.*, 2020).

Esta técnica es una valiosa herramienta que describe la capacidad fermentativa de los alimentos para rumiantes, a la vez que permite la determinación de la cinética de fermentación de los mismos (Theodorou *et al.*, 1994). Además, presenta la ventaja de que el producto final que se mide (gas) es resultado directo del metabolismo microbiano, en lugar de registrar la desaparición del sustrato. Una segunda ventaja es que la formación de productos finales de la fermentación, pueden ser monitoreados a intervalos cortos de tiempo y, por lo tanto, la cinética de fermentación puede ser descrita con precisión (Theodorou *et al.*, 1994; Bruni y Chilibroste, 2001).

Otras de las ventajas que presenta la TPGIV es que permite realizar estimaciones de degradación de proteínas, fibras, MS y MO, así como cuantificar el contenido de AGCC, la síntesis de proteínas microbianas y estimar la energía neta y metabolizable (Keim *et al.*, 2017; Pelagalli *et al.*, 2020).

Unido a lo anterior, la cinética de la TPGIV y la producción de gas a las 24 h se han utilizado para clasificar los alimentos y, también para estimar el valor de la energía de los alimentos para rumiantes (Menke y Steingass, 1988), la efectividad de diferentes aditivos para mejorar el valor nutritivo de alimentos para rumiantes (Rodríguez *et al.*, 2019) y el potencial

metanogénico de diferentes alimentos (Pirondini *et al.*, 2015; Togtokhbayar *et al.*, 2015; Fant *et al.*, 2020).

La popularidad de la TPGIV proviene principalmente de la capacidad para ejercer un mayor control experimental sobre la incubación, la posibilidad de analizar de forma no destructiva una gran cantidad de sustratos, así como sus combinaciones, la información cinética obtenida, y el relativo bajo costo de la técnica (Dijkstra *et al.*, 2005). Por lo tanto, según Getachew *et al.* (2005) la TPGIV ofrece una herramienta única para que los investigadores aborden una amplia gama de problemas nutricionales en rumiantes.

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

II. Capítulo II. Materiales y métodos

II.1 Ubicación geográfica

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Nutrición de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey (EEPFIH), ubicada entre los 22° 48'7" LN y 81° 2' LO, a 19,01 msnm; y en el Departamento de Ciencias Biofisiológicas del Instituto de Ciencia Animal (ICA), situado entre el 22° 58' LN y los 82° 02 LO, a 80 msnm.

II.2 Material vegetal

Se trabajó con la planta entera de sorgo blanco (*S. bicolor* (L.) Moench cv. UGD-110) y pulpa de cítrico fresca. El sorgo se sembró a chorrillo, en áreas experimentales de la EEPFIH, establecidas sobre suelo ferralítico rojo de buen drenaje superficial e interno y perfil uniforme (Hernández *et al.*, 2015); a una distancia de 1,0 m entre surcos (dosis de 20 kg ha⁻¹) y se fertilizó con MO. El forraje se cosechó en estado seroso, aproximadamente entre 65-70 días de sembrado.

Los residuos de frutas de cítrico (pulpa obtenida después de la extracción de los jugos a frutas en estado de maduración comercial) se acopiaron en la Empresa Citrícola de Jagüey Grande, provincia Matanzas. Las muestras se sometieron a un proceso de limpieza manual para eliminar cualquier tipo de suciedad. Además, se retiraron las partes dañadas o alteradas.

II.3 Experimento I. Dinámica del proceso fermentativo de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca

II.3.1 Preparación de las muestras

Para la confección de los ensilajes se utilizó pulpa de cítrico fresca y planta entera de sorgo en estado seroso después de pre-marchitada a la sombra durante 48 h, hasta lograr disminuir la humedad y alcanzar un valor de MS superior a 30 %. Las plantas de sorgo se trocearon en un molino para saccharina (Modelo B-625, ancho interior de 100 mm, cantidad de martillos 6 pç y cuchillas 02 pç) hasta alcanzar un tamaño de partícula de 4-5 mm aproximadamente. La pulpa de cítrico y el sorgo se combinaron, en pequeños microsilos de bolsas de polietileno, en cuatro proporciones distintas (tabla 1), las que constituyeron los tratamientos experimentales.

Tabla 1. Proporción de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca (%) para la confección de microsilos.

Tratamientos	Sorgo (%)	Pulpa de cítrico (%)
T1	100	0
T2	75	25
T3	50	50
T4	25	75

Cada microsilo (bolsas de polietileno de 12 cm de ancho por 24 cm de largo) tuvo un peso total de 500 g. Las proporciones descritas en la tabla 1 se mezclaron de forma homogénea y se compactó bien el material en el interior de la bolsa, sin perforarla. Al finalizar, se sellaron herméticamente con la ayuda de cinta adhesiva, para crear condiciones de anaerobiosis. Se produjeron 20 microsilos por tratamiento.

II.3.2 Análisis de calidad

El ensilaje se monitoreó los días 14, 28, 42 y 56 después de su elaboración hasta la apertura (56 días), para determinar la dinámica de los principales componentes químicos de los materiales a conservar y los indicadores de la fermentación, obteniéndose así un mayor control sobre la dinámica fermentativa. Para esto último se utilizó una escala de ensilajes de laboratorio propuesta por Ojeda *et al.* (1991), que muestra que un ensilaje tiene una excelente calidad al alcanzar un $\text{pH} \leq 4$, contenido de lactatos mayores a 14 mg g^{-1} de materia fresca, N-NH_3 menor a $2,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ nitrógeno total (NT), acetato en los ácidos totales de la fermentación mayor a 0,10 y menor de 0,30; así como, concentraciones despreciables de butirato y alcohol. Además, se evaluaron las características organolépticas, color, olor, textura y humedad (Tabla 2) según los indicadores propuestos por Betancourt *et al.* (2005).

Tabla 2. Características organolépticas para la evaluación de la calidad fermentativa de los ensilajes.

Indicador	Excelente	Buena	Regular	Mala
Color	Verde aceituna o amarillo oscuro	Verde amarillento. Tallos con tonalidad más pálida que las hojas	Verde oscuro	Marrón oscuro, casi negro o negro
Olor	A miel azucarado de fruta madura	Agradable con ligero olor a vinagre	Fuerte olor a vinagre	Desagradable, a mantequilla rancia
Textura	Conserva sus contornos continuos	Conserva sus contornos continuos	Se separan las hojas fácilmente de los tallos, tienden a ser transparentes y los vasos venosos muy amarillos	No se observa diferencia entre hojas y tallos. Es más amorfa y jabonosa. Al tacto es húmeda y brillante
Humedad	No humedece las manos al ser comprimido y se mantiene suelto al	No humedece las manos al ser comprimido y se mantiene suelto al retirar la presión	Presenta goteo al ser comprimido y forma una masa compacta	El material se moldea con facilidad y genera efluentes al ser comprimido

retirar presión	la		
--------------------	----	--	--

La calidad fermentativa de los ensilajes se determinó a partir del pH sobre muestra fresca; para lo cual se utilizó un potenciómetro sobre un extracto acuoso formado por una fracción de 25 g de ensilado y 250 mL de H₂O destilada, tras 1 hora de reposo (Cherney y Cherney, 2003). También, se evaluó la temperatura la cual se estudió según la metodología propuesta por O'Kiely *et al.* (2001).

Para la determinación del N-NH₃ se utilizó el procedimiento colorimétrico descrito por Chaney y Marbach (1962). La producción de AGCC, acético (C₂H₄O₂), propiónico (C₃H₆O₂) y butírico (C₄H₈O₂) se cuantificó por cromatografía gaseosa, según Cottyn y Boucqué (1968). Para estos ensayos, se conservaron 5 mL de muestra diluidas en 5 mL de ácido clorhídrico 0,1 N en el caso del N-NH₃ y en 3 gotas de ácido orto-fosfórico para los AGCC, posteriormente se guardaron a -20 °C para su posterior análisis.

II.3.3 Análisis químicos

Para evaluar la composición química de los ensilajes obtenidos y las materias primas originales, los materiales se secaron hasta peso constante en estufas de aire forzado a 55 °C. Luego se les determinó MS, MO, PB, los minerales Ca, Mg, P y la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), según las técnicas de la AOAC (2016). El contenido de FDN y FDA se analizó de acuerdo con el procedimiento propuesto por Van Soest *et al.* (1991).

II.3.4 Diseño Experimental

Se empleó un diseño factorial con distribución al azar, cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4), cuatro momentos (14, 28, 42 y 56 días) y seis repeticiones para cada momento. Se consideró el microsilo como la unidad experimental.

II.3.5 Análisis estadístico

Se verificó la normalidad de la distribución de los datos en todas las variables por la prueba modificada de Shapiro Wilk, y la homogeneidad de varianza por la prueba de Levene. Para

el análisis de los datos de dinámica del proceso fermentativo se usó un modelo lineal en el que se tomaron como efectos los tratamientos, los tiempos y las interacciones tratamientos*tiempos. La expresión del modelo lineal fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

μ : media común a todos los tratamientos

α_i : efecto del *i*-ésimo tratamiento (*i*= 1..., 4)

β_j : efecto del *j*-ésimo tiempo (*j*= 14, 28, 42, y 56)

$\alpha\beta_{ij}$: efecto del *i*-ésimo tratamiento en interacción con el *j*-ésimo tiempo (*ij*= 1..., 16)

e_{ijk} : error común a todas las observaciones.

Cuando se detectaron diferencias ($p < 0,05$), las medias de los tratamientos se compararon mediante la dócima de rangos múltiples de Duncan (1955). Se empleó el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

II.4 Experimento II. Evaluación del valor nutritivo *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca

Para determinar el valor nutritivo *in vitro* de formulaciones de ensilaje en base a planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca, se realizaron dos estudios *in vitro*, mediante la técnica de producción de gas (Theodorou *et al.*, 1994), así como determinaciones químicas y gravimétricas.

II.4.1 Preparación de las muestras

El ensilado, posterior a la apertura de los microsilos, se deshidrató en una estufa de ventilación forzada a 55 °C, durante 72 h, para estimar el contenido de MS. Posteriormente, se molió en un molino estacionario de cuchillas, con criba de 1 mm de diámetro en sus orificios, se envasó 50 g de muestra en bolsas de nailon, y finalmente estas se sellaron y se trasladaron al Departamento de Ciencias Biofisiológicas del ICA donde fueron analizadas.

II.4.2 Cinética de producción de gas *in vitro*

Se utilizó la TPGIV descrita por Theodorou *et al.* (1994). Para lo cual fue incubado 1,0 g de MS de cada tratamiento en botellas de vidrio de 100 mL, en medio de cultivo (Menke y Steingass 1988) y un inóculo de microorganismos ruminales, en proporción de 0,20 del volumen total de incubación (80 mL).

Como inóculo se empleó el contenido ruminal de dos bovinos adultos, canulados en el saco dorsal del rumen, alimentados *ad libitum* con forraje de gramíneas y con libre acceso al H₂O y a las sales minerales. El contenido ruminal de cada animal se recolectó antes de ofrecer el alimento de la mañana y se conservó en termos cerrados hasta llegar al laboratorio, donde se filtró a través de varias capas de gasa. Durante el proceso, se mantuvo la temperatura de los inóculos a 39 ± 1 °C, y las condiciones de anaerobiosis mediante flujo continuo de CO₂. Las botellas se sellaron y se incubaron en baño a temperatura controlada (39 °C). Se tomó ese momento como la hora cero de la incubación.

La producción de gas se midió a las 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 h, por medio de un manómetro HD8804, acoplado a un calibrador de presión TP804 (DELTA OHM, Italia). Después de cada medición, se liberó el gas hasta igualar las presiones externa e interna de las botellas. El volumen de gas, a partir de los datos de presión, se estimó mediante una ecuación de regresión lineal pre-establecida (Rodríguez *et al.*, 2013):

$$\text{Gas (mL)} = (\text{presión [10}^3 \text{ Pa]} + 4,95) / 2,5858, n = 132; r^2 = 0,991$$

El volumen de gas se expresó por gramo de MO incubada (Moinc). Para estimar la cinética de producción de gas, se utilizó el modelo de Krishnamoorthy *et al.* (1991):

$$Y = D * \{1 - e^{-c(t-L)}\}$$

Donde:

Y: producción de gas al tiempo t (mL g⁻¹ Moinc)

D: potencial de producción de gas (asíntota cuando t = ∞; mL g⁻¹ Moinc)

C: tasa fraccional de producción de gas (h⁻¹)

t: tiempo de incubación (h)

L: fase de retardo en el inicio de la fermentación (*Lag Time*, h).

II.4.3 Producción de gas e indicadores químicos y gravimétricos en incubaciones de 24 horas

El segundo ensayo *in vitro* tuvo 24 h de duración y se llevó a cabo para estimar indicadores químicos y, por gravimetría, determinar la degradabilidad *in vitro* de la MS y MO. El procedimiento que se siguió fue similar al descrito en el ensayo anterior. La producción de gas se midió a las 3, 6, 9, 12, 16, 20 y 24 h. A las 24 h, se filtraron los residuos de los sustratos y del filtrado se tomaron muestras y se preservaron para determinar los productos finales de la fermentación. Los análisis químicos de N-NH₃ se realizaron según Chaney y Marbach (1962) y los AGCC por cromatografía gaseosa según Cottyn y Boucqué (1968).

II.4.4 Diseño Experimental

En ambos estudios *in vitro*, se empleó un diseño experimental de bloques al azar. Se consideraron las incubaciones realizadas como réplicas (4) y las botellas de un mismo tratamiento, en cada réplica, como repeticiones.

II.4.5 Análisis estadístico

Los resultados de producción de gas, al ser medidas repetidas en la misma unidad experimental, se analizaron mediante Modelos Lineales Mixtos. Se consideraron como efectos fijos los tratamientos y los horarios de muestreo. La interacción de ambos efectos y el error fueron los efectos aleatorios, respectivamente. Para la estimación del modelo se utilizó el método de Laplace que es el adecuado para el análisis de diseños con medidas repetidas en el tiempo. La expresión general del modelo para ambos casos fue:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + b_j + (\alpha b)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} : variable respuesta esperada en estudio

μ : media común a todas las observaciones

α_i : efecto fijo del *i*-ésimo tratamiento ($i=1, \dots, 4$)

b_j : efecto fijo del *j*-ésimo horario de muestreo ($j= 3, 6, 9, 12, 16, 20$ y 24)

$(\alpha b)_{ij}$: efecto aleatorio del *i*-ésimo tratamiento en interacción con el efecto aleatorio del *j*-ésimo horario de muestreo ($ij=1, \dots, 96$)

e_{ijk} : error aleatorio asociado a todas las observaciones.

El resto de las variables se analizaron según ANOVA. En todos los análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012). Al encontrar diferencias ($p < 0,05$), las medias de los tratamientos se compararon mediante la dócima de rangos múltiples de Duncan (1955).

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. Capítulo III. Resultados y discusión

III.1 Composición química de las materias primas empleadas en la confección de ensilajes de planta entera de sorgo con pulpa de cítrico fresca

En la tabla 3 se muestra la composición química y la DMO de las materias primas empleadas en la confección de los ensilajes evaluados.

Tabla 3. Composición química y DMO (%) del sorgo planta entera y la pulpa de cítrico fresca empleados en la elaboración de los ensilajes.

Materia prima	MS (%)	MO (%)	Ca (g/kg MS)	Mg (g/kg MS)	P (g/kg MS)	PB (%)	FB (%)	FDN (%)	FDA (%)	DMO (%)
PF	15,9	93,6	4,6	2,3	0,51	7,9	6,4	33,1	34,1	34,8
SF	26,8	93,6	4,5	2,2	0,47	11,1	15,6	68,3	34,0	61,2
SP	41,7	93,5	4,1	2,1	0,34	8,0	9,4	64,4	25,9	76,6

PF: pulpa de cítrico fresca; SF: sorgo fresco; SP: sorgo presecado; MS: materia seca; MO: materia orgánica; Ca: calcio; Mg: magnesio; P: fósforo; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; DMO: digestibilidad de la materia orgánica.

En la pulpa de cítrico se observó un contenido de MS (15,9 %) y fibra bruta (FB) de 6,4 %, que difieren con lo reportado por Ojeda *et al.* (2003) donde la MS alcanzó el valor de 14,8 % y la FB de 14,3 %. Por otra parte, el valor de PB (7,9 %) fue similar al obtenido por Ojeda *et al.* (2003); Ojeda *et al.* (2010) y Lashkari y Taghizadeh (2013) quienes alcanzaron valores entre 7,6 y 7,7 % de PB en la pulpa de cítrico. Por su parte, Villanueva *et al.* (2013), informaron valores de MS, PB, FB, FDN y FDA diferentes a los encontrados en este estudio, cuando evaluaron niveles de sustitución del grano de sorgo por residuo fresco de naranja, en la dieta de corderos Dorper.

Tanto el sorgo fresco como presecado mostraron mayores valores de FB y DMO que la pulpa de cítrico fresca; por otro lado, la DMO fue mayor en la planta de sorgo presecada. Los valores de MS, PB, FDA y FDN encontrados en el presente estudio no difieren de los

reportados por Padilla-Montes (2018) para ensilajes de sorgo forrajero con niveles de inclusión de pulpa de jícara (*Crescentia alata* Kunth), donde alcanzaron valores de 25,99; 12,15; 34,25 y 66,53 %, respectivamente. Estudios realizados por Mejía-Kerguelén *et al.* (2019) donde evaluaron la productividad y calidad del forraje verde de *S. bicolor* (L.) Moench cv. Corpoica JJT-18 en siembras en monocultivo e intercalado con maíz y frijol, reportaron valores de MS de 16 %, PB de 6,7 %, FDN de 58 % y FDA de 36 %, para *S. bicolor* en monocultivo, lo cual difiere de lo reportado en el presente estudio en la planta fresca y presecada, posiblemente porque no evaluaron la misma variedad y las condiciones de manejo de las plantaciones fueron diferentes.

Tanto el sorgo fresco o presecado como la pulpa de cítrico fresca mostraron contenidos similares de MO, Ca y Mg (tabla 3). La pulpa de cítrico fue más rica en P que el sorgo. En cuanto a los valores de PB el sorgo fresco presentó el mayor porcentaje con 11,1 %. Por todas las características antes expuestas la evaluación de la composición química del sorgo y la pulpa de cítrico fresca demostró que constituyen recursos importantes a considerar en la alimentación de rumiantes en pastoreo, ya sea como forrajes o ensilados.

III.2 Análisis de la calidad fermentativa de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca

III.2.1 Características organolépticas

III.2.1.1 Color de los ensilados

La evaluación del color se realizó en función de la materia prima ensilada, ya que de esta depende en cierta medida el color final de los ensilajes obtenidos. En cuanto a esta variable, durante el periodo de evaluación, los tratamientos T1 y T2 presentaron una coloración verde aceituna a diferencia de T3 y T4 que su color fue verde amarillento (tabla 4). Esta diferencia en los colores de los ensilajes evaluados pudo deberse por la inclusión de pulpa de cítrico, de modo que, a medida que aumentaba la proporción de esta, el color amarillento se acentuaba más. Así el material obtenido en los ensilajes T1 y T2 se calificaron de excelente calidad, mientras que T3 y T4 presentaron buena calidad, según los indicadores propuestos por Betancourt *et al.* (2005).

Tabla 4. Características organolépticas de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Color	Olor	Textura	Humedad	Calidad Final
T1	Verde aceituna ¹	Ligero acético ²	Contornos continuos ¹	No humedece al ser comprimido ¹	Excelente
T2	Verde aceituna ¹	Fruta madura ¹	Contornos continuos ¹	No humedece al ser comprimido ¹	Excelente
T3	Verde amarillento ²	Fruta madura ¹	Contornos continuos ¹	Humedece al ser comprimido ³	Buena
T4	Verde amarillento ²	Fruta madura ¹	Contornos continuos ¹	Humedece al ser comprimido ³	Buena

¹Excelente; ²Buena; ³Regular; T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Maza *et al.* (2011) en su estudio de evaluación de la composición química y características organolépticas del ensilado de maralfalfa (*Pennisetum* sp.) con diferentes proporciones de yuca fresca (*Manihot esculenta* Crantz) encontraron en los tratamientos experimentales una calificación excelente (tonalidad verde aceituna), mejor que la del tratamiento testigo (tonalidad verde amarillento).

III.2.1.2 Olor de los ensilados

En la determinación del olor se distinguieron dos olores, ligero a vinagre y a fruta madura. Los ensilajes bien fermentados no deben tener un olor fuerte, debido al ácido láctico, ya que el principal ácido orgánico de la fermentación es casi inodoro. Sin embargo, la mayoría de los ensilajes tienden a tener un ligero olor a vinagre (ácido acético), porque este ácido se produce en la segunda concentración más alta, después del ácido láctico y es muy volátil (Kung *et al.*, 2018).

En las determinaciones realizadas, solo el tratamiento T1 presentó olor ligero a vinagre, mientras que el resto tuvo olor a fruta madura (tabla 4) haciéndose más acentuado a medida que aumentaba el nivel de inclusión de pulpa de cítrico en los ensilajes. Este resultado caracteriza a los ensilajes T2, T3 y T4 de excelente calidad, mientras que el tratamiento T1 presentó una calidad buena de acuerdo con lo reportado por Betancourt *et al.* (2005). Estos resultados no son similares a los obtenidos por Villalba *et al.* (2011) quienes al evaluar la calidad bromatológica y organoléptica de ensilajes de residuos orgánicos del sistema de producción café-musáceas encontraron olores desde ligero y fuerte a vinagre hasta fruta madura. Por otra parte, Maza *et al.* (2011) clasificaron de excelente y bueno en cuanto al olor a ensilajes de maralfalfa y yuca, al igual que en el presente estudio.

III.2.1.3 Textura de los ensilados

Según lo señalado por Betancourt *et al.* (2005), los materiales evaluados se caracterizan por presentar una calidad excelente al mostrar todos sus contornos bien definidos, lo que garantiza una textura firme durante todo el periodo de evaluación (tabla 4), esto se evidenció en todos los tratamientos experimentales de esta investigación. Resultados que no se corroboran con los encontrados por Villalba *et al.* (2011) donde la textura de los ensilajes evaluados fue regular al utilizar materiales fibrosos que presentan un poco más de resistencia a la presión por el puño.

III.2.1.4 Humedad de los ensilados

Debido al tipo de microsilo utilizado (bolsas de nylon) no hubo pérdidas por efluentes, lo que provocó una retención de la humedad durante el proceso de fermentación, que, al momento de abrir las bolsas y homogenizar, se combinó con todo el material presente. Debido a esto, los tratamientos T1 y T2 al ser comprimidos no presentaron pérdidas por efluentes ni humedecimiento de las manos (tabla 4) mientras que las proporciones T3 y T4 al ser comprimidas presentaron cierto tenor de humedad, encontrándose ligeramente mayor en el ensilaje con mayor proporción de pulpa de cítrico, por lo que según los indicadores reportados por Betancourt *et al.* (2005), los ensilajes evaluados mostraron una calidad de excelente (T1 y T2) a regular (T3 y T4). No obstante, esta calificación de regular no los descarta como ensilajes bien fermentados (tabla 4) donde el resto de las variables organolépticas evaluadas tienen un comportamiento adecuado que los incluye dentro de

ensilajes de buena calidad. Resultados similares reportan Villalba *et al.* (2011) al utilizar la técnica de microsilos en su estudio.

En sentido general, al abrir los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca, se constató que las características organolépticas evaluadas tuvieron una calidad de buena a excelente (ver tabla 4), independiente de la materia prima y las combinaciones entre ellas, lo que confirmó que el proceso de ensilaje se llevó a cabo de manera adecuada al clasificar a los tratamientos en estudio, según Bertoia (2007), como ensilajes bien fermentados, los cuales se caracterizan por ser de color amarillo verdoso, olor agradable, avinagrado y picante; además tener la textura firme, y un valor nutritivo similar al del forraje verde.

III.2.2 Temperatura

Entre los factores que favorecen un adecuado proceso de ensilaje se encuentra la temperatura. En la figura 1 se muestran los valores de esta variable en los ensilajes durante los días de evaluación.

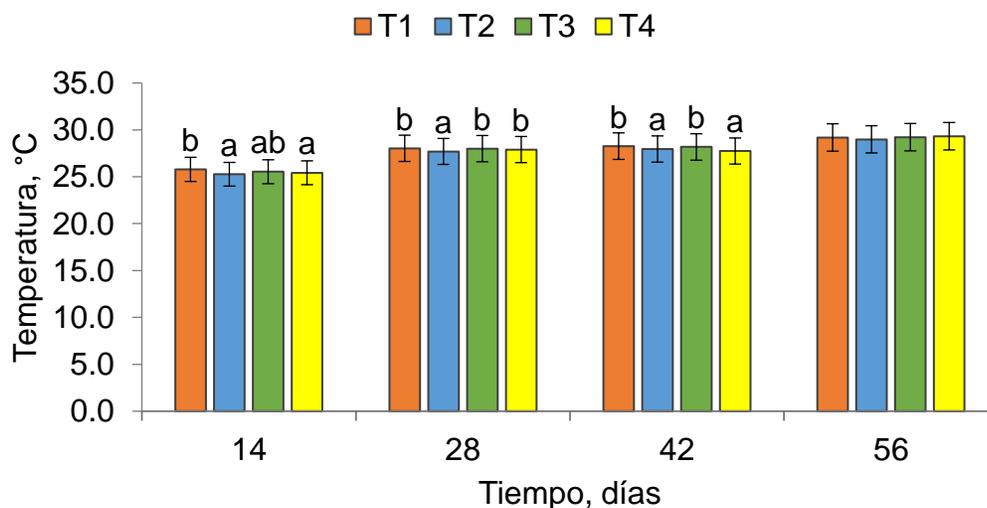


Figura 1. Valores de la temperatura de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca durante el proceso de fermentación.

Se puede observar que este indicador osciló entre los 25 y 29 °C, con un ligero aumento durante la dinámica de fermentación. Villalba *et al.* (2011) reportan un comportamiento contrario al encontrado en el presente estudio.

A los 14 días se encontraron diferencias entre los tratamientos T1, T2 y T4 ($p < 0,05$), sin que se mostraran diferencias entre los tratamientos con inclusión de la pulpa de cítrico. La temperatura a los 14 días osciló entre los 25 y 26 °C (figura 1). Se conoce que en la primera fase del ensilaje se genera, a causa de la respiración, el aumento de la temperatura en un rango de 4 a 6 °C por encima de la temperatura ambiental (Ferrari y Alarcón, 2015). A los 28 días solo el tratamiento T2 mostró menor temperatura que el resto (27,7 °C), mientras que, a los 42 días, las proporciones T2 y T4 tuvieron las menores temperaturas (27,7 y 27,9 °C, respectivamente) con diferencias con el resto de los tratamientos ($p < 0,01$). Sin embargo, a los 56 días no se apreciaron diferencias entre tratamientos, lo que puede estar asociado a que todos los ensilajes se encontraban en su fase estable al presentar temperaturas entre 29 y 29,3 °C, lo cual, según Caicedo *et al.* (2016) puede atribuirse a que hubo una buena colonización de BPAL.

Varios estudios señalan que la variación de la temperatura al comienzo del proceso de fermentación está asociada con las células de las plantas que continúan respirando hasta que consumen todo el O₂ presente en la materia prima vegetal. Simultáneamente, durante este proceso respiratorio se produce calor, H₂O y CO₂ (McDonald *et al.*, 1991; Blanco-Valdes *et al.*, 2016). De igual manera, en la superficie de los vegetales se encuentran grupos de microorganismos pertenecientes a la microbiota epifítica (bacterias, hongos y levaduras) que generan una actividad microbiológica y enzimática importantes, al producir calor (Zahiroddini *et al.*, 2004).

No obstante, no se apreció un calentamiento importante de la superficie de los microsilos en los primeros 14 días de fermentación y en los subsiguientes días de evaluación, la temperatura tuvo solo pequeñas variaciones, entre 3,4 y 3,9 °C. La poca variación en la temperatura puede atribuirse a que no hubo actividad de microorganismos patógenos probablemente por la exclusión competitiva de las BPAL desarrolladas en el medio (Caicedo *et al.*, 2017). Por otra parte, si la temperatura en los silos cambia drásticamente se afecta la viabilidad y la actividad de acidificación de las BPAL y se inhibe la síntesis proteica (Song *et al.*, 2014), y según Elferink *et al.* (2001) estas, en su mayoría, son bacterias mesófilas que poseen mayor velocidad de crecimiento a temperaturas entre 5 y 50 °C, con un óptimo entre 25 y 40 °C; por lo que las temperaturas observadas en todos los tratamientos estuvieron en el rango óptimo de crecimiento de BPAL. Además, según Wang *et al.* (2017)

este rango de temperatura ayuda a mantener el pH idóneo con valores de 3,9 a 4,3 para producir un ensilaje de buena calidad.

III.2.3 pH

En la tabla 5 se muestran las variaciones del pH de los ensilajes evaluados durante la dinámica de fermentación, los valores oscilaron entre 3,29 y 4,32.

Tabla 5. Valores del pH durante el proceso de fermentación en ensilajes elaborados con planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	4,24 ^c	4,32 ^c	4,07	4,18 ^c
T2	3,86 ^b	3,82 ^b	3,90	3,78 ^b
T3	3,62 ^a	3,58 ^a	3,64	3,47 ^a
T4	3,58 ^a	3,42 ^a	3,49	3,29 ^a
EE (±)	0,025	0,058	0,122	0,065
p-valor	<0,0001	<0,0002	<0,0547	<0,0003

a, b, c: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Se observó la disminución de esta variable con el incremento de pulpa de cítrico. Durante los días de evaluación 14, 28 y 56 se encontraron diferencias entre los ensilajes T1 y T2 ($p < 0,05$), no se encontraron diferencias entre las proporciones T3 y T4. A los 42 días los tratamientos evaluados no presentaron diferencias estadísticas, además se observa un ligero aumento del pH en todos los tratamientos excepto en el ensilaje T1; aumento que fue

corregido a los 56 días excepto en dicho tratamiento que aumentó, con respecto a la evaluación realizada en el día 42. No obstante, este aumento del pH, los ensilajes se mantienen dentro de un rango permisible, que los clasifica como ensilajes bien fermentados.

Estos resultados difieren de los reportados por Padilla-Montes (2018) quien informó valores de pH entre 4,3 y 5,8. Por otra parte, para que un ensilaje sea considerado de bueno es necesario que preserve al máximo posible las características nutricionales del material original. Esto ocurre al lograr reducciones en la respiración del tejido de la planta, en la actividad proteolítica y en el desarrollo de clostridios, lo que garantiza una estabilización del producto (Martínez *et al.*, 1998 y Fulgueira *et al.*, 2007), lo que según McDonald *et al.* (1991) se obtiene con el rápido descenso del pH luego del ensilaje.

Este indicador es uno de los mejores parámetros para definir la calidad fermentativa del ensilaje. La fase fermentativa dura, desde varios días, hasta varias semanas, en dependencia de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito y la actividad de las BPAL prolifera y se convierten en la población predominante, a causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 y 5,0; en función de la especie y características del forraje (Garcés Molina *et al.*, 2004).

Existen varios criterios para determinar la calidad fermentativa de un ensilaje por sus valores de pH. Según Paiva (1976), un ensilaje muy bueno presenta valores de pH entre 3,6 y 3,8; un ensilaje bueno entre 3,8 y 4,2; un ensilaje medio de 4,2 a 4,6; y uno malo valores de pH mayores que 4,6. En un ensilaje con alto contenido de MS (por encima de 35 %), el pH es un criterio menos útil para medir calidad, desde que la falta de H₂O y una alta presión osmótica pueden restringir la fermentación y la producción de ácido, por tanto, aún con pH alto, estos ensilajes pueden ser considerados de buena calidad (Leibensperger y Pitt, 1987). Por su parte, Ojeda *et al.* (1991) señalan que un buen ensilaje posee un pH entre 3,7 y 4,2; lo cual coincide con lo planteado por Hiriart (2008), quien plantea que la caída del pH debe ser lo más rápido posible con valores menores a 4,2; aunque se prefiere que sea menor de 4,0; para producir un ensilaje estable en corto tiempo. Por otra parte, McDonald *et al.* (1991) y Sánchez (2018) plantean que el pH recomendado para obtener ensilados de buena calidad es 4,0. Según Moura *et al.* (2017) un pH de esta magnitud indica que los forrajes ensilados

presentaron cantidades suficientes de carbohidratos solubles, y que su fermentación garantizó una adecuada conservación del material vegetal a través de la producción de ácido láctico. Sin embargo, Ososanya y Olorunnisomo (2015) consideran que un pH de 4,5 también permite obtener un producto de buena calidad.

En todos los tratamientos con pulpa se obtuvieron pH inferiores a 4,0 (tabla 5) y solo en el tratamiento A fue que se apreció un pH superior a ese valor (máximo 4,32); al no presentar pulpa de cítrico, esto puede deberse a que los frutos de cítrico presentan niveles de acidez que oscilan entre 1,01 y 4,11 para el limón y la naranja, respectivamente (Yfran-Elvira *et al.*, 2019).

III.2.4 Ácidos grasos de cadena corta

III.2.4.1 Ácido acético

En la figura 2 se muestra la dinámica de producción de $C_2H_4O_2$ de los ensilajes evaluados. Las concentraciones de este ácido oscilaron entre 1,7 y 17,2 $mmol L^{-1}$. Los menores valores lo presentaron los tratamientos T1 y T4 y el mayor, la proporción T3. A los 14 días de la fermentación no se encontraron diferencias en la presencia de $C_2H_4O_2$ entre los tratamientos evaluados ($p < 0,05$), mientras que a los 28 días la concentración de $C_2H_4O_2$ en los tratamientos T1 y T2 fue de 2,6 y 3,6 $mmol L^{-1}$ respectivamente, sin diferencias entre sí, la concentración de la proporción T3 (5,7 $mmol L^{-1}$) tampoco presentó diferencias con el tratamiento T4.

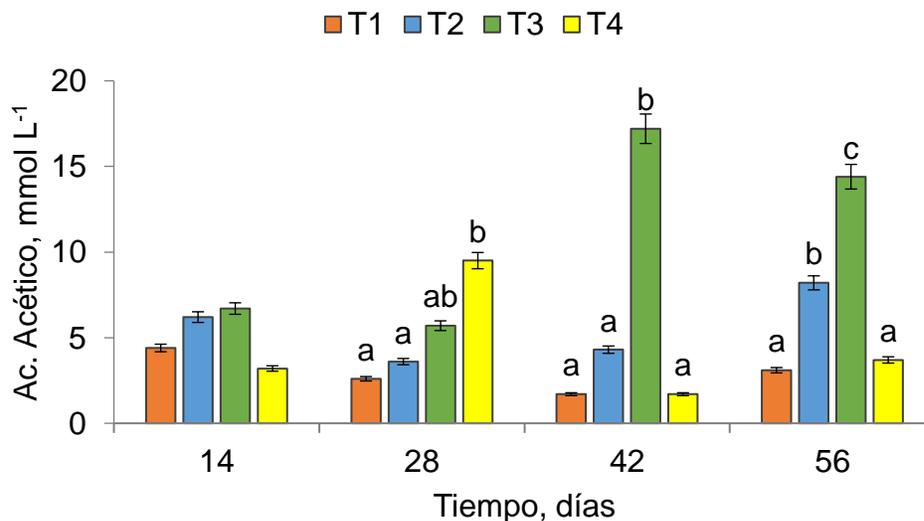


Figura 2. Dinámica de producción de ácido acético (mmol L^{-1}) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

En el día 42, la proporción T3 tuvo mayor concentración que el resto de los tratamientos ($p < 0,05$) con diferencias significativas respecto a los mismos (figura 2). A los 56 días, se mantuvo la misma proporción T3 como la que más $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ produjo, seguido del tratamiento T2, 14,4 y 8,2 mmol L^{-1} , respectivamente ($p < 0,05$).

El $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ es un constituyente normal del ensilaje, que procede de las fermentaciones producidas por las bacterias coliformes, butíricas y lácticas heterofermentativas; este ácido orgánico, en altas cantidades en los ensilajes, afecta la palatabilidad (Castro, 2011). Según Jalc *et al.* (2010) y Kung *et al.* (2018) se le considera mayor inhibidor de levaduras y mejor estabilizante aeróbico que el ácido láctico, los ensilajes con concentraciones muy bajas de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ pueden ser inestables al exponerlos al aire, esto se debe principalmente a las características antifúngicas de este ácido. Por otra parte, Kung *et al.* (2018) plantean que el $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ de un ensilaje, consumido por un rumiante, puede ser absorbido en el rumen y utilizado para obtener energía o ser incorporado a la grasa en la leche. No obstante, los valores de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ encontrados en el presente estudio se consideran adecuados para ensilajes bien preservados.

III.2.4.2 Ácido propiónico

La producción de $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ es indicador de la degradación que han sufrido los compuestos nitrogenados en un proceso de fermentación, donde, a altas concentraciones, provoca que el ensilaje sea de mala calidad (Kaiser *et al.*, 2004). En los ensilajes evaluados la presencia de $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ no difirió hasta los 42 días de fermentación (figura 3), en que los tratamientos T3 y T4 produjeron más de este compuesto (0,21 y 0,25 mmol L^{-1}) que los tratamientos T1 y T2 ($p < 0,001$).

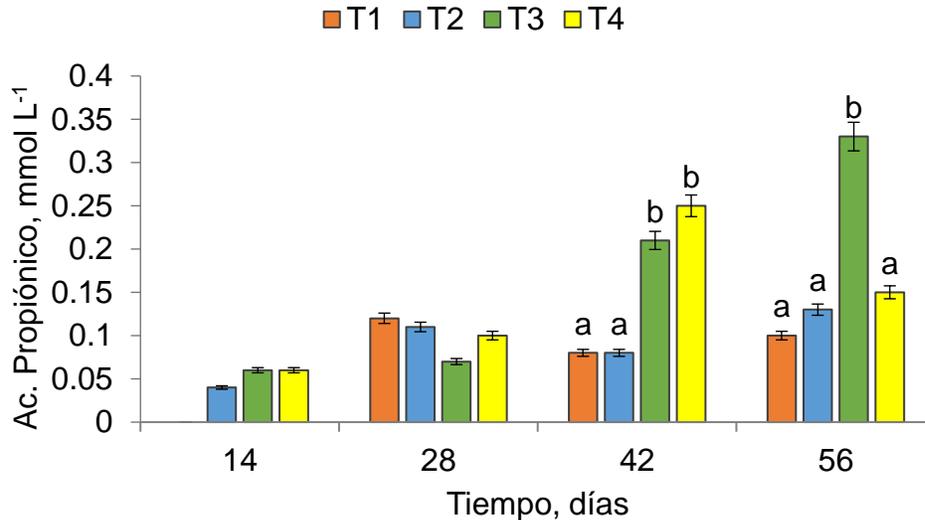


Figura 3. Dinámica de producción de ácido propiónico (mmol L^{-1}) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Sin embargo, a los 56 días, se observó que la proporción T3 superó al resto de los tratamientos con $0,33 \text{ mmol L}^{-1}$, al ser este el valor más alto de $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ encontrado durante la dinámica de fermentación de los ensilajes en estudio, no obstante, se considera una concentración dentro del rango permisible para catalogar los ensilajes como bien fermentados. Según Kung *et al.* (2018) el $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ suele ser indetectable (especialmente en ensilajes secos) o en concentraciones muy bajas ($<0,1\%$) en buenos ensilajes; altas concentraciones de este ácido ($>0,3 - 0,5\%$) se encuentran más comúnmente en las fermentaciones clostridiales, probablemente un resultado de *Clostridium propionicum*. Por otra parte, ese mismo autor plantea que el $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ consumido es absorbido en el rumen y convertido en glucosa por el hígado del rumiante.

III.2.4.3 Ácido butírico

En la figura 4 se muestra la dinámica de producción de $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados. Los valores de este AGCC oscilaron entre $0,004$ y $0,056 \text{ mmol L}^{-1}$, lo que, según Ojeda *et al.* (1991) son cantidades despreciables en ensilajes de buena calidad.

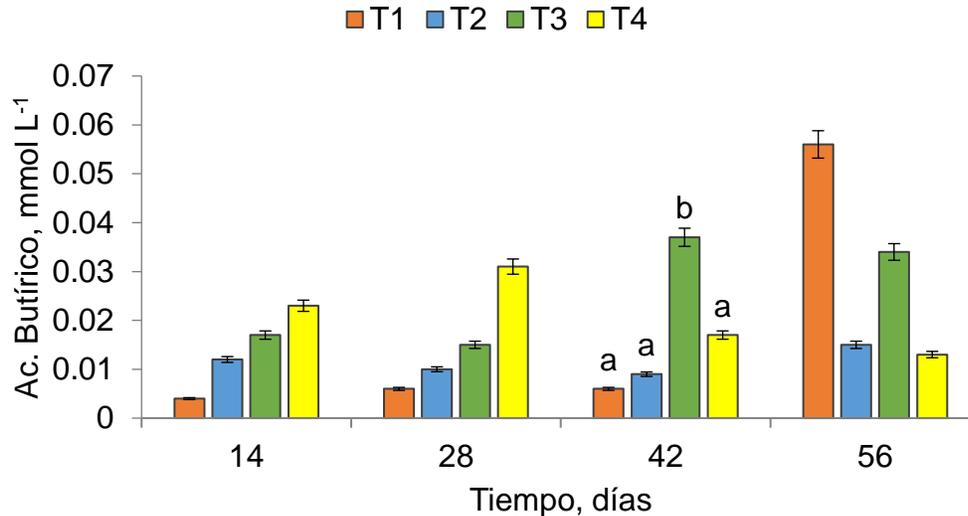


Figura 4. Dinámica de producción de ácido butírico (mmol L⁻¹) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Hasta el día 28 de la fermentación se apreció un aumento de C₄H₈O₂ en la medida que aumenta la proporción de pulpa de cítrico en la mezcla ensilada (figura 4). A los 42 días de fermentación se encontraron diferencias (p<0,001), entre la proporción T3 y el resto de las formulaciones evaluadas. Estas diferencias no se observaron a los 56 días, donde el tratamiento T1 presentó el valor más elevado de C₄H₈O₂ 0,056 mmol L⁻¹.

El C₄H₈O₂ puede ser producido bajo condiciones de anaerobiosis, debido a una variedad de factores, entre los que se incluyen: la alta contaminación con suelo, la baja tasa de fermentación y el bajo contenido de MS (Castro, 2011). Es producido por bacterias butíricas e indica actividad metabólica de organismos clostridiales, que conduce a grandes pérdidas de MS y mala recuperación de energía. En ensilajes bien fermentados no debe ser detectable, la presencia de este ácido, por lo que es un buen indicador del producto conservado (Pahlow *et al.*, 2003). Además, según Kung *et al.* (2018), paradójicamente, ensilajes con C₄H₈O₂ tienden a ser estables al exponerse al aire porque este ácido tiene fuertes características antifúngicas.

Según Nogueira (1995) ensilajes con cantidades de C₂H₄O₂ y C₄H₈O₂ inferiores a 2,5 y 0,1 %, respectivamente, pueden ser considerados de muy buena calidad. Al respecto, Noguera *et al.* (2014), al evaluar el efecto de diferentes aditivos en la calidad nutricional y el perfil de

la fermentación de ensilajes en base a cáscara y semillas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.) reportaron valores de $C_2H_4O_2$ entre 3,9 y 5,7 %; $3C$ de 0,19 y 0,28 % y $C_4H_8O_2$ entre 0,52 y 0,77 % los cuales no coinciden con los encontrados en este estudio.

De manera general, los AGCC son el producto de otras fermentaciones distintas a la láctica en condiciones de anaerobiosis (Van Soest *et al.*, 1991; Rodríguez-Muela *et al.*, 2017) y que contribuyen al deterioro e inestabilidad del ensilado, además, al presentarse en altas cantidades son indicadores de una pobre fermentación (Martínez *et al.*, 1998). Según Sánchez (2018) los más importantes son el $C_2H_4O_2$, $C_3H_6O_2$ y $C_4H_8O_2$. En un ensilado excelente, los dos primeros deben estar presente en pequeñas cantidades, y el butírico ausente o en cantidades despreciables lo cual se pone de manifiesto en los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados en este estudio.

III.2.5 Nitrógeno amoniacal

En la tabla 6 se muestra que el contenido de $N-NH_3$ respecto al nitrógeno total (% $N-NH_3/NT$) de las mezclas ensiladas fue afectado de manera significativa por el nivel de inclusión de pulpa de cítrico en los tratamientos ($p < 0,05$). De esta manera, conforme aumentó el contenido de pulpa en la mezcla, disminuyó el nivel de $N-NH_3$ encontrándose valores entre 0,21 y 4,92 %.

Tabla 6. Contenido de amoníaco (% $N-NH_3/NT$) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	4,43 ^d	3,39 ^c	4,37 ^d	4,92 ^d
T2	2,21 ^c	1,75 ^b	2,69 ^c	3,76 ^c
T3	1,49 ^b	1,47 ^b	1,96 ^b	2,48 ^b

T4	0,21 ^a	0,57 ^a	1,02 ^a	1,31 ^a
EE (±)	0,11	0,27	0,13	0,17
p-valor	<0,0001	<0,0005	<0,0001	<0,0001

a, b, c, d: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Según Hiriart (2008) y Kung *et al.* (2018) la presencia de N-NH₃ en los ensilajes está condicionada al contenido de los aminoácidos libres, los nitratos presentes en el forraje y, a la degradación de las proteínas, debida al metabolismo de las bacterias durante la fermentación. Su concentración da una idea de la proporción de las proteínas que se han desdoblado durante el ensilaje, cuando este se expresa como porcentaje del NT. Esta cantidad de proteínas desdobladas, puede ser alta o baja de acuerdo a la calidad del proceso fermentativo en el silo.

De acuerdo con varios autores (Kleinschmit y Kung, 2006; Borges *et al.*, 2011), el N-NH₃ puede ser afectado por el nivel de pH dentro del silo, si el pH es ácido, el contenido de N-NH₃/NT es menor, mientras que si el pH es menos ácido los valores de N-NH₃/NT son mayores. En este sentido, en los ensilajes evaluados a pesar de que se puede apreciar cierto incremento del N-NH₃ desde el día 14 hasta el día 56 (tabla 6), este incremento se debió probablemente al NH₃ generado por los procesos de proteólisis que pudieron estar presentes durante las primeras fases de la producción del ensilaje, no obstante, no fue en tal magnitud como para que influyera en la calidad del ensilado, dado que se apreció un descenso importante del pH.

El contenido de N-NH₃ de las formulaciones analizadas fue menor que los resultados encontrados por Padilla-Montes (2018). Mientras que Royo (2018) al evaluar el efecto de enzimas exógenas sobre la fermentación y calidad nutricional de ensilaje de sorgo, presentó resultados similares al presente estudio con valores de N-NH₃/NT entre 4,83 y 4,99 %.

Los valores de N-NH₃ para un ensilado de buena calidad varían según el tipo de forraje. En todos los tratamientos evaluados, el N-NH₃ fue menor a los valores descritos por Ojeda *et al.* (1991), Betancourt *et al.* (2005) e Hiriart (2008) quienes indican que concentraciones

menores al 11 % de N-NH₃/NT se califican como ensilajes aceptables, mientras que ensilajes de mala calidad se relacionan a valores superiores al 15 % de N-NH₃/NT, por otra parte, valores menores del 7 % se consideran ensilajes bien conservados.

III.3 Composición química de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca

III.3.1 Materia seca

En la tabla 7 se muestran los resultados de MS de los ensilajes evaluados. En todos los días muestreados, a medida que aumentó el nivel de pulpa de cítrico, disminuyó el contenido de MS de los ensilados obtenidos, con valores que oscilaron entre 21,57 y 36,52 %, observándose diferencias a los 28, 42 y 56 días de evaluación ($p < 0,001$).

Tabla 7. Contenido de MS (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	34,37 ^c	36,45 ^d	36,52 ^d	36,02 ^d
T2	31,89 ^c	32,27 ^c	33,89 ^c	32,08 ^c
T3	27,01 ^b	26,18 ^b	27,43 ^b	25,66 ^b
T4	22,34 ^a	21,57 ^a	22,46 ^a	21,64 ^a
EE (±)	0,939	0,460	0,693	0,320
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

a, b, c, d: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Sin embargo, el día 14 no se encontraron diferencias entre los tratamientos T1 y T2. Estos resultados superan a los obtenidos por Padilla-Montes (2018). Solo en la proporción T3 se encontraron semejanzas con los resultados informados por este autor (27,2 %) en comparación con el rango observado en este estudio que osciló entre 25,66 y 27,43 %.

Un factor importante que determina el tipo de fermentación en el proceso de ensilaje es el tenor de MS de la planta. Estudios realizados por Pinho *et al.* (2015) y Martínez (2017), encontraron que en las distintas variedades de sorgo el contenido de MS varía con la edad de corte y con la naturaleza del tallo de la planta. En este sentido, a los contenidos de MS observados en el presente estudio contribuyó el presecado de la planta entera de sorgo durante 48 h, ya que se conoce que dicho proceso incrementa el valor de ese componente (Sánchez, 2018). El presecado fue necesario para reducir en lo posible la humedad durante la fermentación, pues es conocido que altos niveles de humedad en los forrajes a ensilar pueden provocar pérdidas por efluentes y favorecer fermentaciones indeseables (Sánchez, 2018). Además, según McDonald *et al.* (1991), estos efluentes contienen la mayoría de los componentes solubles del forraje, como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas y otros compuestos nitrogenados.

En este sentido, Michelena y Molina (1990) sugirieron que, para obtener ensilados de buena calidad y disminuir las pérdidas por efluentes, el contenido de MS debe ser como mínimo de 30 %. Por su parte, Ojeda *et al.* (2006) señalaron que, si un ensilaje presenta entre 25 y 30 % de MS y su pH es inferior a 4,3 se puede considerar que el proceso se desarrolló de manera satisfactoria. Sin embargo, otros autores señalan que ensilajes de buena calidad deben tener entre 30 y 35 % de MS (Flores, 2015), aunque Sánchez (2018) plantea que se puede lograr un adecuado proceso de fermentación con al menos 25 %.

En base a lo propuesto por estos autores, los tratamientos T1, T2 y T3 alcanzaron desde el 25 hasta el 36 % de MS (tabla 7), por lo que se considera que las pérdidas por efluentes en estos ensilajes deberían ser mínimas; considerándolos de ese modo como ensilajes de buena calidad; no comportándose así el ensilaje con mayor contenido de pulpa de cítrico (T4) donde los valores de MS alcanzados oscilaron entre 21 y 22 %. No obstante, este último también fue considerado un ensilaje de buena calidad, independientemente de su contenido de MS, ya que su proceso fermentativo ocurrió de manera eficiente y así lo corroboran los

valores de pH (3,29-3,58); el contenido despreciable de propionato ($C_3H_6O_2$) y butirato ($C_4H_8O_2$) (ver figuras 3 y 4, respectivamente); y los valores de N-NH₃/NT (0,21-1,31 %).

III.3.2 Proteína bruta

La tabla 8 muestra los valores de proteína alcanzados durante la fermentación de los ensilajes. Los resultados oscilan entre 6,70 y 9,88 % y, varían de acuerdo a los contenidos de PB de las materias primas antes de ensilar (ver tabla 3).

Tabla 8. Contenido de PB (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	8,94 ^b	9,70	8,69 ^{ab}	9,04 ^b
T2	9,42 ^b	9,10	9,57 ^b	7,35 ^a
T3	8,63 ^b	8,19	9,88 ^b	8,61 ^b
T4	6,70 ^a	8,27	7,96 ^a	8,34 ^{ab}
EE (±)	0,221	0,508	0,497	0,317
p-valor	<0,0001	0,0503	<0,0064	<0,0387

a, b: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Al día 14 el tratamiento T4 mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el resto de los ensilajes evaluados, con el menor valor de esta variable durante todo el proceso de evaluación (6,70 %). Mientras que al día 28, no hubo diferencias entre las proporciones evaluadas. En el día 42 las diferencias se presentaron entre los tratamientos T2 y T3 en

relación al T4 ($p < 0,0064$). A los 56 días el tratamiento T2 mostró diferencias con el T1 y la proporción T3 ($p < 0,0387$).

En sentido general, la proteína se vio influenciada posiblemente por el estado de madurez del material ensilado. Por otro lado, los días de conservación influyeron en el contenido de proteína de los ensilajes, este contenido fue mayor a los 28 y 42 días con valores de 9,70 y 9,88 % en los tratamientos T1 y T4, respectivamente, mientras que los días 14 y 56 los ensilajes con las proporciones T4 (6,70 %) y T2 (7,35 %) obtuvieron los valores más bajos.

De León *et al.* (2011), al determinar la aptitud productiva y cualitativa de dos genotipos de sorgo, conservados como ensilajes de planta entera, en comparación con maíz, encontraron valores de proteína entre 6,48 y 7,30 %, inferiores a los obtenidos en este estudio, los cuales oscilaron entre 8,69 y 9,70 % en el tratamiento A, posiblemente porque utilizaron variedades diferentes a la empleada en el presente estudio. Sin embargo, Padilla-Montes (2018) informó valores de PB superiores a los alcanzados en este estudio, cuando utilizó como material fresco sorgo y pulpa integral de jícara, con contenidos de proteína mayores que el sorgo y la pulpa de cítrico analizadas (12,15 %; 16,50 % vs. 8,0 %; 7,9 %, respectivamente), por lo que sus mezclas alcanzaron valores entre 12,1 y 17,4 %, por encima de los resultados que se alcanzaron en esta investigación (6,70-9,88 %).

III.3.3 Materia orgánica

Respecto a la composición de la MO, en la figura 5 no se aprecian diferencias entre los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca en ninguno de los días muestreados. En todos los tratamientos se apreciaron valores de MO superiores al 90%, con variaciones entre 91,43 y 96,08 %.

En el día 14 la proporción T3 mostró el mayor porcentaje de MO con 96,08 %, mientras que el tratamiento T2 presentó el menor valor 92,5 %. Durante la evaluación del día 28 se observó una ligera tendencia al aumento de la MO a medida que aumentaba el nivel de inclusión de la pulpa de cítrico, aunque siempre el tratamiento T4 mostró valores ligeramente por debajo la proporción T3.

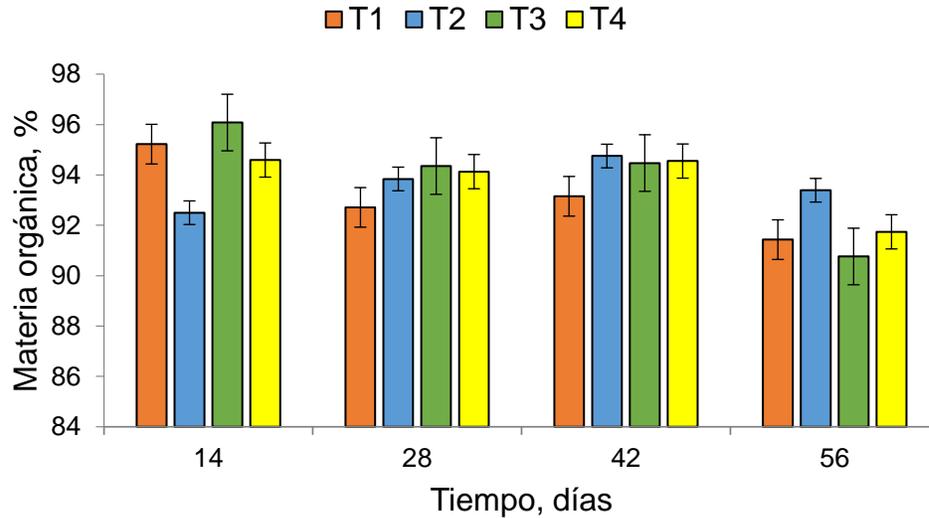


Figura 5. Dinámica de la composición de la MO en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

El día 42 el tratamiento T1 alcanzó el menor valor de MO con 93,15 %, el resto de los tratamientos oscilaron en el orden de los 94-95 %. Mientras que, a los 56 días las proporciones T2 y T3 presentaron el mayor y el menor porcentaje de MO con 93,39 y 90,76 %, respectivamente, el resto de los tratamientos mostraron resultados similares.

III.3.4 Fibra detergente neutro

En la tabla 9 se muestran los cambios en el contenido de FDN de los tratamientos durante la dinámica de fermentación de los ensilajes en estudio. Se observa en todos los momentos de evaluación, un incremento en el contenido de FDN al disminuir el porcentaje de inclusión de pulpa con diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$). De igual forma, se aprecia un aumento del contenido de este componente en el tiempo (tabla 9). Al respecto, Rodríguez *et al.* (2016) plantean que este incremento indica desaparición de una parte del material soluble durante la fermentación, lo que incrementa el porcentaje de la proporción del material fibroso.

Tabla 9. Contenido de FDN (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	63,44 ^d	68,62 ^d	69,41 ^d	70,09 ^d
T2	56,86 ^c	59,43 ^c	62,91 ^c	64,22 ^c
T3	54,47 ^b	54,90 ^b	55,95 ^b	57,29 ^b
T4	46,98 ^a	51,53 ^a	49,11 ^a	52,10 ^a
EE (±)	0,432	0,577	0,648	0,947
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

a, b, c, d: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Desde el punto de vista de la fisiología de la nutrición, la fibra es la porción del alimento que limita la digestión, requiere ser masticada para la reducción del tamaño de partícula y ocupa espacio en el rumen (Grant, 1996). De esta forma, la fracción FDN brinda una estimación de la fibra presente en el alimento, fundamentalmente celulosa, hemicelulosa y lignina y, está íntimamente relacionada al consumo de MS. A medida que el valor de FDN se incrementa, el consumo animal disminuye, por lo que proveer dietas con altos contenidos de FDN limita el consumo del forraje, debido a una sensación de llenado en el rumen. Según García (2003) se estima que los rumiantes pueden llegar a consumir un máximo de FDN cercano al 1-2 % del peso vivo.

Resultados similares reportaron Nava-Berumen *et al.* (2017) al evaluar el rendimiento y la calidad forrajera de tres variedades de sorgo. Estos autores encontraron niveles de FDN dentro del rango observado para el tratamiento 100 % de sorgo, que osciló entre 63,44 y 70,09 %. Por otra parte, Van Saun (2006) aseveró que los forrajes de gramíneas de alta calidad deben presentar valores de FDN menores a 50%, lo cual no se corresponde con los resultados alcanzados en este estudio, salvo en el tratamiento T4 donde la proporción de

pulpa es la más alta entre todos los ensilajes evaluados, por lo que se lograron valores entre 46,98 y 52,10 %. Por otra parte, la proporción T3 no presentó resultados elevados (54,47 y 57,29 % de FDN, tabla 9), por lo que se estima que los tratamientos T3 y T4 ostentan valores deseables de FDN para suplementar rumiantes en pastoreo.

III.3.5 Fibra detergente ácido

En la tabla 10 se aprecia el contenido de FDA de las diferentes combinaciones de ensilajes en estudio. Solo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos los días 14 y 42 ($p < 0,05$).

Tabla 10. Contenido de FDA (%) en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	34,96 ^b	38,37	38,16 ^b	34,61
T2	31,41 ^a	36,35	36,79 ^b	35,35
T3	31,12 ^a	35,13	34,00 ^a	34,59
T4	34,08 ^b	35,32	37,00 ^b	35,62
EE (\pm)	0,680	0,855	0,561	0,891
p-valor	0,016	0,116	0,001	0,795

a, b: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

A los 14 días, se obtuvieron valores superiores en los tratamientos T1 y T4 con respecto a los restantes; 34,96 y 34,08 %, respectivamente. A los 42 días, la proporción T3 fue menor que el resto (34,0%), mientras que, al finalizar el proceso de conservación (56 días), se

obtuvieron contenidos de FDA que variaron en el estrecho rango de 34,6 a 35,6 %. Nava-Berumen *et al.* (2017) encontraron valores de 41,1 % de FDA, los cuales no coinciden con los obtenidos en el presente estudio, los que variaron entre 34,61 y 38,37 % para el tratamiento T1, estos resultados alcanzados en este estudio pudieran deberse a factores como el clima, la edad de corte y la variedad del sorgo utilizado. Van Saun (2006) también ratificó que un forraje de alta calidad de gramíneas debe ostentar valores de FDA menores a 35 %, por lo que los resultados anteriores ratifican a los tratamientos T3 y T4 como los más promisorios para suplementar rumiantes en pastoreo.

III.3.6 Digestibilidad de la materia orgánica

En la tabla 11 se muestran los valores de digestibilidad de la materia orgánica (DMO) alcanzados por los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados en el presente estudio.

Tabla 11. Valores de DMO (%), obtenida por KOH, en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Momentos, días			
	14	28	42	56
T1	67,70 ^b	25,59	30,37 ^a	27,54 ^b
T2	66,37 ^b	27,31	30,58 ^a	26,74 ^{ab}
T3	60,94 ^{ab}	25,28	32,27 ^a	24,34 ^a
T4	52,03 ^a	25,47	36,48 ^b	25,40 ^{ab}
EE (±)	2,934	0,756	0,978	0,763
P-valor	0,0322	0,2427	0,0016	0,0436

a, b: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Los resultados oscilaron entre 24,34 y 67,70 %. A los 14 días, los tratamientos mostraron una alta degradabilidad, superior al 50%, que aumentó en la medida que se redujo la proporción de pulpa de cítrico en la mezcla a ensilar, aunque el tratamiento T4 difirió del T1 y el T2 ($p < 0,05$). Sin embargo, a los 28 días las diferencias desaparecieron ($p < 0,05$) y, al día 42 el comportamiento observado en el primer muestreo se invirtió, disminuyendo la DMO con la reducción del nivel de pulpa, aunque solo se apreciaron diferencias entre el tratamiento T4 y el resto (tabla 11). Finalmente, a los 56 días solo se encontraron diferencias entre las proporciones T1 y T3.

Un elemento importante respecto a los resultados de DMO lo constituye que entre el día 14 y el día 56 hay una importante reducción de la degradabilidad en todos los tratamientos, probablemente producto de la fermentación de los compuestos solubles y más fermentables de los materiales a conservar, lo que pudo incidir en el valor nutritivo de los productos obtenidos. Al respecto, se conoce que el ensilaje se basa en la fermentación de los carbohidratos solubles de las plantas en condiciones anaerobias, por medio de bacterias ácido lácticas, lo que provoca una disminución del pH y evita la proliferación de microorganismos que realizan fermentaciones indeseables (Sánchez, 2018). Además, esto se puede asociar a las elevadas proporciones de fibra observadas, otro indicador que evidenció que una parte del material soluble desapareció durante la fermentación, lo que incrementó la proporción de los carbohidratos estructurales (ver tabla 9 y 10). Al respecto, Cruz y Sánchez (2000) y Detmann *et al.* (2005) plantean que el valor de la fibra está negativamente relacionado a la digestibilidad, es decir, cuanto mayor sea el contenido de fibra, menor la digestibilidad del ensilaje y, por tanto, también es menor el contenido de energía que aporta al animal.

III.3.7 Composición de los minerales calcio, magnesio y fósforo

III.3.7.1 Contenido de Ca de los ensilados

En la figura 6 se muestra el contenido de Ca de los ensilados evaluados en los diferentes momentos. Los valores oscilaron entre 3,39 y 4,52 g/kg MS. A los 14 días el tratamiento T1 mostró menor contenido de Ca que el resto ($p < 0,05$). Sin embargo, a los 28 días, las proporciones T3 y T4 no difirieron entre sí y tuvieron menor contenido de este mineral (3,39 y 3,49 g/kg MS, respectivamente), que el resto de los tratamientos.

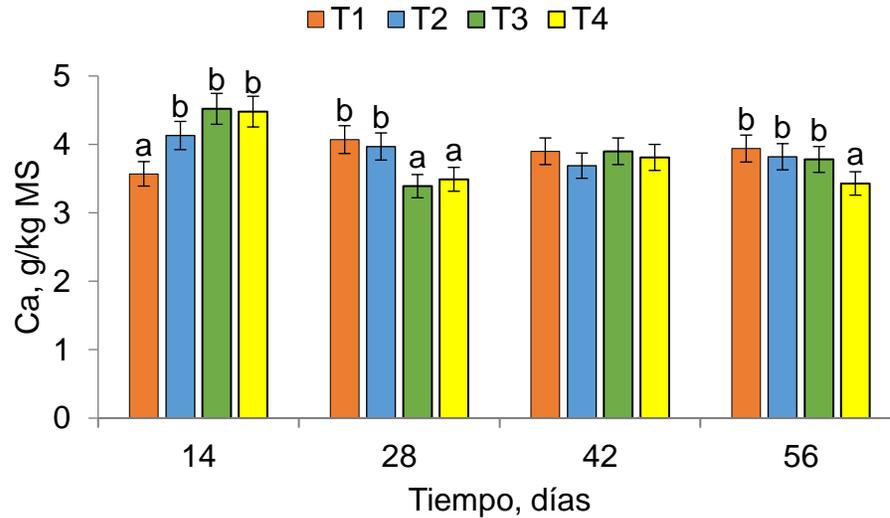


Figura 6. Dinámica del contenido de Ca en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

A los 42 días no se apreciaron diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$) y, finalmente, a los 56 días, el tratamiento T4 presentó menos Ca que el resto.

Respecto a los sustratos originales, se apreció una disminución del contenido de Ca en los ensilajes obtenidos (ver tabla 3). Sin embargo, los valores de Ca de los ensilados evaluados estuvieron en el rango observado en forrajes por Martínez-Sáez *et al.* (2018) y en el de los requerimientos para rumiantes en pastoreo (McDowell y Arthington 2005). Por otra parte, los valores obtenidos en este estudio están en correspondencia con los reportados por Sales (2017) para la dieta de bovinos de carne, quien informa como promedio 3,4 g/kg MS.

III.3.7.2 Contenido de Mg de los ensilados

La figura 7 muestra el contenido de Mg de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados. Se observan diferencias a los 28 y 56 días de evaluación. El día 28 de conservación la proporción T3 mostró menor contenido del mineral (1,98 g/kg MS) que el resto de los tratamientos ($p < 0,05$).

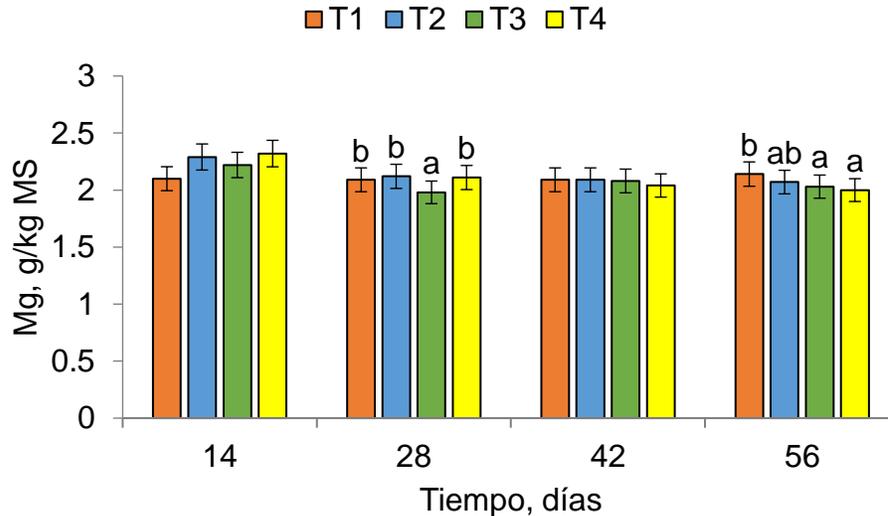


Figura 7. Dinámica del contenido de Mg en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

A los 56 días el mayor contenido de Mg lo mostró el tratamiento T1 (2,14 g/kg MS), aunque no difirió del tratamiento T2 ($p < 0,05$).

En relación a los sustratos originales sin ensilar no se observó mucha variación, solo se apreció cambios en el contenido de Mg en el tratamiento T4. Sin embargo, en todas las formulaciones evaluadas, los valores de Mg estuvieron en el rango observado en forrajes por Martínez-Sáez *et al.* (2018) y en el de los requerimientos de rumiantes en pastoreo, descrito por McDowell y Arthington (2005). Por su parte, Sales (2017) reporta valores de 1,4 g/kg MS de Mg en la dieta de bovinos para la producción de carne, mientras que los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados presentaron un rango entre 1,98 y 2,32 g/kg MS de este mineral, lo que los hace adecuados para la suplementación de rumiantes.

III.3.7.3 Contenido de P de los ensilados

En la figura 8 se muestran el contenido de P determinado en los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca evaluados a los diferentes días de muestreo. Los valores oscilaron entre 0,32 y 0,96 g/kg MS.

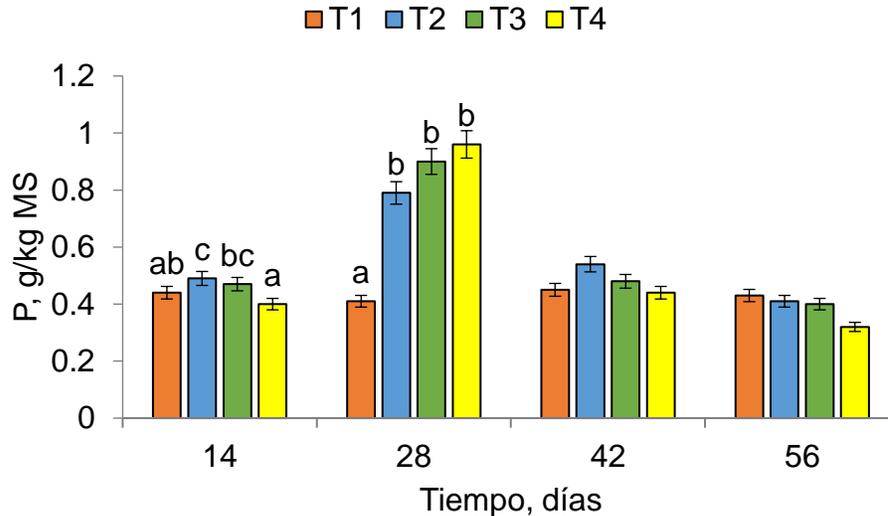


Figura 8. Dinámica del contenido de P en ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

A los 14 días de conservación los menores valores de este mineral se encontraron en los tratamientos T1 y T4 ($p < 0,05$). Sin embargo, T1 no difirió de la proporción T3. A los 28 días, se observó el aumento de este mineral con el mayor porcentaje de inclusión de pulpa de cítrico en los ensilajes, posiblemente porque al alcanzar los ensilajes la anaerobiosis total aumentó la solubilidad de este elemento. El día 28 el menor contenido de P con 0,41 g/kg MS, lo mostró el tratamiento T1 (figura 8).

A partir de los 42 hasta los 56 días no hubo diferencias entre las proporciones evaluadas ($p > 0,05$), al presentar una ligera disminución del contenido de P en los tratamientos respecto a los 28 días, probablemente por la utilización de este mineral en sus reacciones enzimáticas por los microorganismos que participan en la fermentación del ensilaje.

En relación con los materiales sin ensilar, no se aprecian cambios en el contenido de P en los ensilajes obtenidos. Como en los demás minerales analizados anteriormente, los valores de P de los ensilados evaluados estuvieron en el rango observado en forrajes por Martínez-Sáez *et al.* (2018) y en el de los requerimientos para rumiantes en pastoreo, descrito por McDowell y Arthington (2005). No obstante, Sales (2017) plantea la utilización de 3,1 g/kg MS de P en la dieta de bovinos de carne, valores no alcanzados en el presente estudio.

De manera general, según Gadberry (2011) los animales requieren de una cantidad de nutrientes para cada propósito específico; estos requerimientos de minerales para los rumiantes dependen de la especie, el peso del animal, la edad, la raza, el sexo, la etapa de producción, la gestación, la lactación, la actividad física, el nivel y forma química del elemento, la interrelación con otros minerales, el medio ambiente y, por último, la adaptación del animal a un suplemento en particular.

III.4 Evaluación *in vitro* del valor nutritivo de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca

III.4.1 Cinética de producción de gas *in vitro*

Al analizar la producción de gas (PG) *in vitro* (mL de gas/g MOinc) de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca representada en la figura 9, no se apreciaron diferencias entre los tratamientos en ninguno de los horarios evaluados, entre las 3 y las 96 h ($p>0,05$).

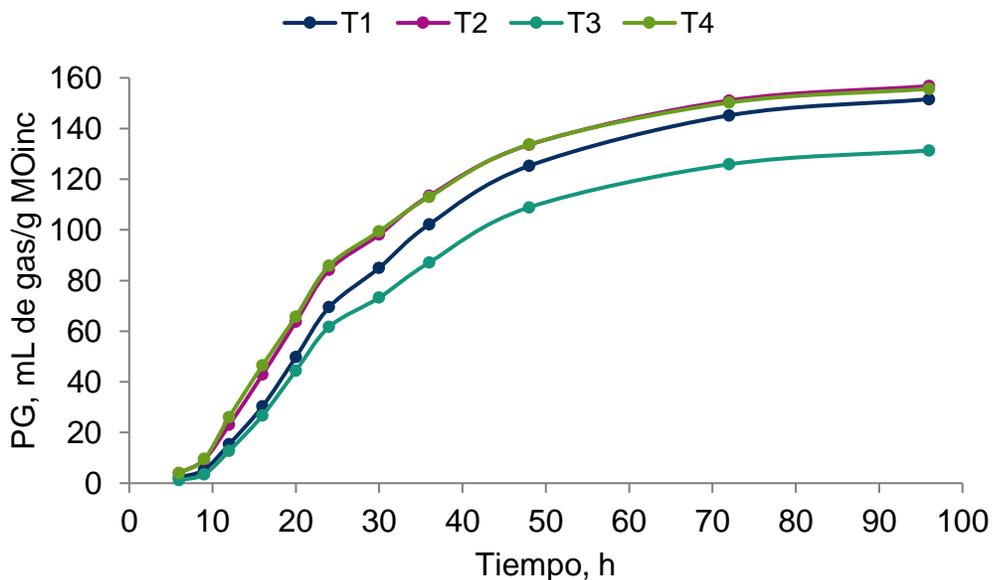


Figura 9. Dinámica de producción de gas *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

En las curvas de PG, se observa que, durante las primeras 9 h post incubación la PG acumulada es similar entre los tratamientos (figura 9), posiblemente porque el sustrato primero debe ser hidratado, para que luego los microorganismos del rumen lo puedan

colonizar y comiencen a degradar los componentes más solubles del alimento, esto explica que, al inicio de procesos de incubación con líquido ruminal, la PG inicia de forma lenta.

Entre las 9 y las primeras 24 h los perfiles de acumulación de gas aumentaron rápidamente, al mostrar que las tasas de generación que se obtuvieron en los tratamientos T2 y T4 (figura 9) presentaron valores superiores, sin embargo, la proporción T3 presentó una ligera disminución; mientras que el tratamiento T1 mostró valores de PG acumulada cercanos a la proporción T3. A partir de las 24, hasta las 48 h, el incremento en la PG acumulada fue proporcionalmente menor en los cuatro tratamientos evaluados, con respecto a los horarios anteriores, manteniéndose los perfiles de PG con el mismo comportamiento entre las 9 y las primeras 24 h. Esta vez el tratamiento T1 presentó valores intermedios entre los tratamientos T2 y T4 y la proporción T3 (figura 9). Así mismo, desde las 48 y, hasta las 96 h, hubo una ligera disminución de la PG acumulada en todos los tratamientos evaluados, manteniéndose la misma tendencia en los tratamientos en cuanto a la acumulación de gas. En esos horarios de evaluación el tratamiento T1 se acercó más a la PG acumulada de las proporciones T2 y T4.

El incremento en la PG de los tratamientos T2 y T4, durante todo el proceso de fermentación *in vitro*, indica que estos pudieran tener una mayor concentración y disponibilidad de energía y una digestibilidad superior, posiblemente porque la cantidad de CNF fue mayor que en el resto de los tratamientos, ya que, según Getachew *et al.* (2004) y Van Dung *et al.* (2014) la cantidad de gas que se produce mediante la incubación *in vitro* de un sustrato está relacionada con su digestibilidad y, por tanto, con su valor energético, ya que los CNF liberan mayor cantidad de energía en menor tiempo. Por otra parte, Bakhashwain *et al.*, 2010 y Arce-Ramírez *et al.*, 2020 plantean que la PG se ve afectada negativamente por altas concentraciones de FDN y FDA, lo cual no coincide con lo obtenido en este estudio (ver tablas 9 y 10), donde los tratamientos con un incremento en la PG presentaron valores relativamente altos de estos compuestos estructurales, sin embargo, se debe tener en consideración que la relación existente entre el contenido de FDN y FDA y la amplitud de este efecto varía entre especies y, en gramíneas, como el sorgo, la influencia es mucho mayor que en otras especies de plantas (Getachew *et al.*, 2004), lo cual es consistente con lo encontrado en este estudio.

En este sentido, Blümmel *et al.* (1999) y Liu *et al.* (2002) plantean que la PG es una medida indirecta de la degradación de los sustratos, particularmente de los carbohidratos. Así mismo, la velocidad y grado de fermentación de estos en el rumen varía según el tipo y estructura de los mismos (Ivan *et al.*, 2005) y, según la población microbiana predominante (Dehority, 2003). De aquí que la medición de la PG *in vitro* pueda utilizarse para evaluar la tasa y extensión de la digestión de los ingredientes de un alimento en particular (Keim *et al.*, 2017 y Pelagalli *et al.*, 2020) y para predecir los valores de energía de los ingredientes del mismo, o de una dieta en general (Menke y Steingass 1988 y Mena *et al.*, 2020). Además, la interpretación de la curva de PG brinda elementos para la evaluación de alimentos para rumiantes, dada la simulación de las condiciones ruminales, los alimentos con acumulación de mayores volúmenes de gas en tiempo reducido pueden correlacionarse con el aumento en el consumo de MS, tasa de pasaje y mayor aporte energético, lo que se traduce en una mejora productiva.

III.4.2 Parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos de la producción acumulada de gas de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico estimados a partir del modelo exponencial de Krishnamoorthy *et al.* (1991) se muestran en la tabla 12.

El potencial de producción de gas (parámetro D) de los ensilajes no varió mucho con el nivel de inclusión de pulpa de cítrico, encontrándose diferencias inferiores a 25 mL entre el mayor y el menor valor de potencial (14%) correspondientes a los tratamientos T1 y T3, respectivamente.

Tabla 12. Parámetros cinéticos de la incubación *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	D (mLg ⁻¹ MOinc) (±EE)	C (h ⁻¹) (±EE)	L (h) (±EE)	EE _{curva}	R ²
T1	174,2 (±20,15)	0,026 (±0,006)	6,0 (±1,45)	26,11	0,816

T2	170,6 (±8,65)	0,033 (±0,004)	5,4 (±0,72)	14,80	0,936
T3	150,4 (±15,62)	0,027 (±0,006)	6,1 (±1,30)	20,63	0,844
T4	167,7 (±10,49)	0,034 (±0,005)	5,2 (±0,91)	18,83	0,899

D: el potencial de producción de gas (asíntota cuando $t = \infty$; mL g⁻¹ MOinc); C: la tasa fraccional de producción de gas (h⁻¹); L: la fase de retardo en el inicio de la fermentación (*Lag Time*, h); T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Los mayores valores del potencial de producción de gas de los tratamientos T1, T2 y T4 pudieran estar relacionados con una mayor disponibilidad de nutrientes, condiciones que favorecen el crecimiento de los microorganismos ruminales y, en consecuencia, el aumento de la PG. Este comportamiento, según Solís *et al.* (2020) tiene que ver con el contenido de carbohidratos solubles disponibles, así como con la cantidad y calidad de la fibra de las dietas con ensilado.

De igual forma, la tasa fraccional (parámetro C) osciló entre 0,026 y 0,034 h⁻¹ (tabla 12), sin que se apreciara una tendencia respecto al nivel de inclusión de pulpa de cítrico. Finalmente, la fase de retardo en el inicio de la fermentación o fase Lag (parámetro L) fue mayor en los ensilajes T3 y T1, donde se reportaron valores de 6,1 y 6,0 h; respectivamente, este resultado pudiera relacionarse con bajas producciones de gas, lo cual implica un retardo en la colonización del sustrato por los microorganismos del rumen, sin embargo, en el presente estudio el tratamiento T1 obtuvo los mayores valores del parámetro D. Por otra parte, con los menores valores observados (5,2 y 5,4 h) en la fase Lag se encuentran los tratamientos T4 y T2 donde se puede observar, desde los primeros horarios de la fermentación *in vitro*, una alta PG (ver figura 9), lo cual pudiera estar relacionado con una rápida y fácil utilización de los carbohidratos y la fibra solubles presente en la pulpa de cítrico los cuales pueden ser utilizados por los microorganismos del rumen como fuente de energía fermentable (Lashkari y Taghizadeh, 2015).

III.4.3 Indicadores químicos y gravimétricos en incubaciones de 24 horas

III.4.3.1 Proporciones molares de C₂H₄O₂, C₃H₆O₂ y C₄H₈O₂

Las proporciones molares de los AGCC C₂H₄O₂, C₃H₆O₂ y C₄H₈O₂ se observan en la tabla 13. Se aprecian diferencias significativas ($p < 0,01$) entre los tratamientos en la incubación *in vitro* de 24 h de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico.

Tabla 13. Proporciones molares (%) de los AGCC C₂H₄O₂, C₃H₆O₂ y C₄H₈O₂ a las 24 horas en la incubación *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	Ac. Acético	Ac. Propiónico	Ac. Butírico
T1	71,0 ^{ab}	23,5 ^c	1,4 ^a
T2	69,9 ^a	23,3 ^{bc}	1,7 ^c
T3	72,3 ^{bc}	22,3 ^a	1,6 ^b
T4	72,6 ^c	22,8 ^{ab}	1,4 ^a
EE (±)	0,43	0,19	0,05
p-valor	0,0051	0,0051	0,0013

a, b, c: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,01$). T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Las mayores proporciones para el C₂H₄O₂ (72,6 y 72,3 %) correspondieron a los ensilajes T4 y T3, respectivamente, entre los cuales no se hallaron diferencias ($p < 0,01$). Esto pudo deberse a que la pulpa de cítrico tiene en su composición una elevada concentración de pectinas (aproximadamente 250 g/kg MS), que son altamente digestibles (Arthington *et al.*, 2002). Además, como la pectina se considera una fibra soluble, su fermentación produce más acetato (C₂H₄O₂) (Liu *et al.*, 2014) y, por tanto, menos propionato (C₃H₆O₂) que dietas

ricas en almidón. El menor contenido del $C_2H_4O_2$ se encontró en el tratamiento T2, que no difirió del T1 con valores de 69,9 y 71,0 %; respectivamente.

En el caso de la proporción molar del $C_3H_6O_2$, los mayores valores se reportaron en los ensilajes T1 (23,5 %) y T2 (23,3 %) sin diferencias entre ellos ($p < 0,01$). Este resultado se debió, posiblemente, por el aumento del almidón en los tratamientos donde el nivel de sorgo fue mayor que el de pulpa de cítrico. Las menores proporciones (22,3 y 22,8 %) las presentaron los tratamientos T3 y T4, respectivamente.

Finalmente, las proporciones molares del $C_4H_8O_2$ fueron inferiores al 2% para todos los tratamientos, con los mayores valores obtenidos en el orden de 1,7 y 1,6 % en los tratamientos T2 y T3, respectivamente ($p < 0,01$), con diferencias entre sí, mientras que con 1,4 %, los tratamientos T1 y T4 presentaron el menor contenido de $C_4H_8O_2$.

Según Van Soest (1994), la fermentación microbiana en el rumen da lugar a la aparición de muchos AGCC distintos, como resultado del metabolismo de los microorganismos y, la producción de estos depende de la composición de la ración, la actividad microbiana, el pH del medio, la frecuencia de ingestión de alimentos, la relación forraje-concentrado y el empleo de aditivos.

En el caso de los ácidos $C_2H_4O_2$, $C_3H_6O_2$ y $C_4H_8O_2$ se producen en cantidades tales que no pueden ser completamente utilizados en los procesos de síntesis y degradación de los microorganismos y estos quedan disponibles para el rumiante. En ese sentido Ros Berruezo *et al.* (2011) y Galindo *et al.* (2017) plantean que los índices de producción microbiana y de absorción son tan altos que los AGCC son la mayor fuente de energía (70-80 %) en mamíferos como los rumiantes. Además de su papel energético, van a intervenir en diversos procesos como el transporte de H_2O y electrolitos en el colon, debido a su carácter hidrofílico; también contribuyen al mantenimiento de las funciones del intestino grueso, a prevenir patologías en la luz intestinal, sobre la musculatura y vasos del colon a través de su metabolismo por los colonocitos. Por otra parte, según Manrique-Vergara y González-Sánchez (2017) parece ser, que el $C_4H_8O_2$ en particular, juega un papel importante en el mantenimiento de la población de colonocitos sanos.

Normalmente, las proporciones de los ácidos $C_2H_4O_2$, $C_3H_6O_2$ y $C_4H_8O_2$ oscilan entre 60-75, 15-25 y 10-15 %, respectivamente (Rivarola, 2015). Estas proporciones varían con la

calidad, cantidad y la textura de los componentes de la ración alimenticia, principalmente sustratos fermentables, por lo que, la presencia predominante de estos en la ración tiene una influencia marcada sobre la producción final de AGCC y su relación con la producción de CH_4 y el CO_2 , productos finales de la fermentación. Por ejemplo, según Van Soest (1994) la síntesis del $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ es favorecida por la fermentación del almidón por las bacterias amilolíticas del rumen, por lo que una dieta rica en este componente favorece la síntesis de AGCC hacia el aumento de propionato, disminuyendo así, de forma más eficaz, la pérdida de energía en forma de CH_4 y CO_2 . Esta afirmación se pone de manifiesto en los tratamientos T1 y T2 donde las proporciones de inclusión de sorgo fue mayor en los ensilajes, y por consiguiente la cantidad de almidón.

No obstante, en los tratamientos evaluados en este estudio, se observó que las incubaciones de diferentes proporciones de sorgo y pulpa de cítrico mantuvieron un patrón similar al reportado por Rivarola (2015) en las cantidades de los ácidos $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ y $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$, no así en el $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$, donde se reportaron valores por debajo del 2 % (ver tabla 13). En las formulaciones de ensilajes de sorgo y pulpa de cítrico estudiadas la producción de AGCC está favorecida hacia la síntesis de acetato, lo que demuestra el bajo contenido de las formulaciones en carbohidratos fácilmente fermentables y, el alto contenido en fibra de los tratamientos, a pesar de incluir la pulpa de cítrico (ver tabla 9 y 10), donde se evidencia que el tratamiento T1 presentó mayor producción total de AGCC, probablemente por la mayor cantidad de celulosa y hemicelulosa presente en la pared celular de este material, mientras que en el resto de los tratamientos evaluados la producción total de AGCC fue menor.

III.4.3.2 Nitrógeno amoniacal (N-NH_3)

La concentración de N-NH_3 a las 24 h, en las incubaciones *in vitro* de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico se muestra en la figura 10. Se puede observar que hubo diferencias ($p < 0,0001$) entre los tratamientos T2 y T4, mientras que el T1 y el T3 no presentaron diferencias entre sí. Las mayores concentraciones se observaron en los ensilajes T1 y T3, con valores de 88,0 y 83,7 mg L^{-1} , respectivamente. Mientras que el tratamiento T2 tuvo un comportamiento intermedio entre los de mayor concentración (figura 10). Por su parte, la proporción T4 con 55,1 mg L^{-1} presentó el menor valor de N-NH_3 .

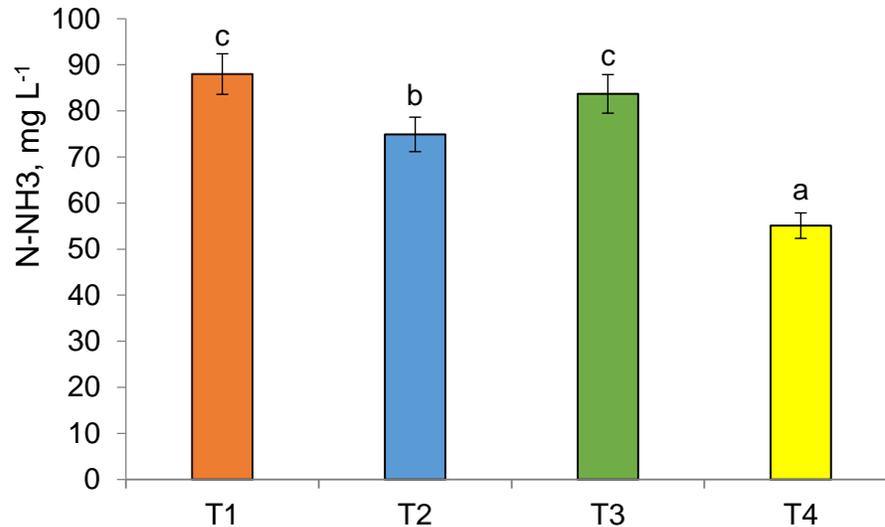


Figura 10. Concentración de N-NH₃ a las 24 horas en la incubación *in vitro* de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

La concentración de N-NH₃ en el rumen es un balance que resulta entre la producción y el uso del mismo. Este uso se explica por su utilización, debida a los microorganismos ruminales, o por la absorción llevada a cabo en las paredes del rumen. De acuerdo con Cheeke (2004), la concentración adecuada de N-NH₃ en el rumen, para una fermentación ruminal más eficiente, varía de 5 a 25 mg/100 ml de líquido ruminal, la cual no coincide con la obtenida en la evaluación *in vitro* de los ensilajes del presente estudio, en la que se informan valores superiores, asociados, posiblemente, al aumento de la actividad proteolítica, lo que provocaría una mayor degradabilidad de la proteína a nivel ruminal. No obstante, estos valores elevados de N-NH₃ son el sustrato necesario en la síntesis de proteína microbiana, por ejemplo, Russell *et al.* (1992) y Carro *et al.* (1999) informan que las bacterias celulolíticas utilizan como única fuente nitrogenada el N-NH₃. Este elemento es importante, al considerar que es necesario un óptimo crecimiento microbiano para lograr una tasa eficiente de fermentación ruminal. Así mismo, es probable que una mayor cantidad de nitrógeno disponible en el rumen mejore la eficiencia con la que se utiliza la energía al estimular el crecimiento de la población bacteriana. Esto indica que, si la energía obtenida de los carbohidratos para el crecimiento microbiano no es limitante, los péptidos y aminoácidos resultantes son utilizados de manera más eficiente para la síntesis de proteínas microbianas (Castillo-Lopez y Domínguez-Ordóñez, 2019).

III.4.3.3 Digestibilidad aparente *in vitro* de la MS y digestibilidad aparente *in vitro* de la MO

Los resultados de DAIVMS y DAIVMO a las 24 h de incubación *in vitro* de los ensilajes de sorgo y pulpa de cítrico evaluados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Digestibilidad aparente *in vitro* de la MS (%) y digestibilidad aparente *in vitro* de la MO (%) de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca.

Tratamientos	DAIVMS (%)	DAIVMO (%)
T1	35,5 ^a	35,2 ^a
T2	41,2 ^a	41,1 ^{ab}
T3	55,0 ^b	55,0 ^b
T4	53,7 ^b	53,8 ^b
EE (±)	4,30	4,30
P-valor	0,0270	0,0243

a, b: Letras diferentes en una misma columna indican diferencias ($p < 0,05$). DAIVMS: Digestibilidad aparente *in vitro* de la materia seca, DAIVMO: Digestibilidad aparente *in vitro* de la materia orgánica, T1: 100 % sorgo; T2: 75 % sorgo + 25 % pulpa de cítrico; T3: 50 % sorgo + 50 % pulpa de cítrico; T4: 25 % sorgo + 75 % pulpa de cítrico.

Se puede observar que la DAIVMS obtuvo los valores más altos en las proporciones T3 y T4, con 55,0 y 53,7 % de degradabilidad, respectivamente, sin que se observaran diferencias significativas ($p < 0,05$). Mientras que, los tratamientos T1 y T2 con resultados de menos degradabilidad, 35,5 y 41,2 % respectivamente, tampoco mostraron diferencias entre sí.

De igual modo, los tratamientos T3 y T4 presentaron los valores más altos en la DAIVMO (tabla 14) con resultados de 53,8 y 55,0 % sin diferencias entre ellos ni con la proporción T2 ($p < 0,05$) que no difiere del tratamiento T1.

Esta alta degradabilidad de la MS y la MO en los ensilajes con mayor porcentaje de inclusión de pulpa de cítrico pudiera deberse a que, en esta, aproximadamente el 80 % de la MS está constituida por carbohidratos que son altamente digestibles (Lashkari y Taghizadeh, 2015). Por otra parte, Lashkari y Taghizadeh (2013) plantean que su rápida degradación en el rumen esta justificada por su elevado potencial de degradación ruminal y una alta digestibilidad aparente. Además, más del 36 % de la MS es fibra soluble, la que se puede utilizar por los microorganismos simbiotes del rumen como una fuente de energía fermentable.

Los resultados alcanzados en la DAIVMS y DAIVMO a las 24 h de incubación *in vitro* de los ensilajes de sorgo y pulpa de cítrico evaluados en el presente estudio demuestran que constituyen alternativas importantes a considerar en la alimentación de rumiantes en pastoreo.

CONCLUSIONES

IV. Conclusiones

- i. La planta entera de sorgo y la pulpa de cítrico fresca, por sus características y composición química, constituyen recursos alimenticios valiosos para la elaboración de ensilajes mixtos, cuyo valor nutricional es adecuado para la suplementación de rumiantes en pastoreo de gramíneas mejoradas y *Leucaena leucocephala*.
- ii. La evaluación de la dinámica de fermentación y la composición química de los ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico demostraron que presentaron una buena dinámica de fermentación y una adecuada composición química.
- iii. Las características fermentativas, la composición química y el valor nutritivo *in vitro* de las formulaciones de ensilajes mixtos, permitió seleccionar que las proporciones 50:50 y 25:75 % de sorgo y pulpa de cítrico presentaron las mejores características como alimento promisorio en la suplementación de rumiantes en pastoreo de gramíneas mejoradas y *Leucaena leucocephala*.

RECOMENDACIONES

V. Recomendaciones.

- i. Realizar evaluaciones con animales en pastoreo suplementados con las mejores variantes de ensilajes mixtos de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca para determinar indicadores relacionados con el consumo, la digestibilidad *in vivo*, y el desempeño productivo.
- ii. Determinar la estabilidad aeróbica de ensilajes mixtos de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca con la finalidad de extender su tecnología a pequeña o gran escala.
- iii. Evaluar el desarrollo de los principales grupos de microorganismos presentes en el material conservado, así como su relación con la actividad bioquímica de ensilajes de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico.
- iv. Valorar la contribución de ensilajes mixtos de planta entera de sorgo y pulpa de cítrico fresca en la producción de metano y la síntesis de proteína microbiana, así como la inclusión de aditivos para mejorar el valor nutritivo, la composición química y la fermentación ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias bibliográficas

- Acosta, Y. M. Ensilajes de pasturas: algunas consideraciones para su confección. Boletín de Divulgación No. 80, 13 p., 2002.
- Afzalani, M.; Zein, N. J. & Musnandar, E. Effect of increasing doses of essential oil extracted from Berastagi orange (*Citrus sinensis* L.) peels on performance, rumen fermentation and blood metabolites in fattening Bali cattle. *Pakistan Journal Nutrition*. 14 (8):480-486, 2015.
- Aguirre-Valverde, C.; Medina Villacís, M.; Montenegro Vivas, L.; Sánchez Laiño, A.; Barrera-Alvárez, A. & Espinoza Guerra, I. Cinética de fermentación y degradabilidad ruminal *in vitro* de dietas con diferente fuente de nitrógeno. *Ciencia y Tecnología*. 10 (2):69-73, 2017.
- Albores-Moreno, S.; Alayón-Gamboa, J. A.; Ayala-Burgos, A. J.; Solorio- Sánchez, F. J.; Aguilar-Pérez, C. F.; Olivera-Castillo, L. & Ku-Vera, J. C. Effects of feeding ground pods of *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. Griseb on dry matter intake, rumen fermentation, and enteric methane production by Pelibuey sheep fed tropical grass. *Trop. Anim. Health and Prod*. 49 (4):857-866, 2017.
- Ali, M.; Cone, J. W.; van Duinkerken, G.; Klop, A.; Kruisdijk, J.; Blok, M. C.; Bruinenberg, M. & Hendriks, W. H. Relationship between chemical composition and *in situ* rumen degradation characteristics of grasssilages in dairy cows. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*. 70:9-15, 2014.
- Almarcha, R. Estudio de subproductos para alimentación animal en la Vega Baja. Universidad Miguel Hernández de Elche. Escuela Politécnica Superior de Orihuela, 54, 2016.
- Alonso, V.; Pereyra, C.; Keller, L.; Dalcerro, A.; Rosa, C.; Chiacchiera, S. & Cavaglieri, L. Fungi and mycotoxins in silage: an overview. *J. Appl. Microbiol*. 115 (3):637-643, 2013.
- Alpizar Naranjo, A. *Efecto de la incorporación de diferentes niveles de morera (Morus alba), en el ensilaje de sorgo (Sorghum alnum) sobre la calidad nutricional y el costo por kilogramo de materia seca digestible*. (No. Thesis A457a). Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza (Argentina). Facultad de Ciencias Agrarias, 2010.

- AOAC. Official Methods of Analysis. (20th ed). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 2016.
- Arce-Ramírez, W.; Rojas-Bourrillon, A. & Campos-Granados, C. M. Determinación del contenido energético de materiales forrajeros a través de la relación entre la técnica de producción de gas in vitro y la ecuación mecanicista del NRC (2001). *Nutrición Animal Tropical*. 14 (1):13-35, 2020.
- Arthington, J. D.; Kunkle, W. E. & Martin, A. M. Citrus pulp for cattle. The Veterinary Clinics of North America. *Vet. Clin. N. Am-Food A*. 18 (2):317-326, 2002.
- Asaolu, V.; Binuomote, R.; Okunlola, D. & Oyelam, O. Characteristics of *Moringa oleifera* silage with mixtures of *Panicum maximum* and wheat offals. *J. Natural Sci. Res.* 5 (18):121-130, 2015.
- Asar, M. A.; Osman, M.; Yakout, H. M. & Safoat, A. Utilization of corn-cob meal and faba bean straw in growing rabbits diets and their effects on performance, digestibility and economical efficiency. *Poult. Sci.* 30 (2):415-442, 2010.
- Awad, A.; Hafiz, S.; Hammada, M. S.; El-Nouby, A. & El-Hendawy, S. Grain yield production of Sudan grass (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf) as influenced by cutting numbers, potassium rates, and intrarow spacing in a semiarid environment. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 37 (6):657-664, 2013.
- Bakhashwain, A. A.; Sallam, S. M. A. & Allam, A. M. Nutritive value assessment of some Saudi Arabian foliages by gas production technique *in vitro*. *Journal of King Abdulaziz University: Metrology, Environment and Arid Land Agricultural Sciences*. 142 (574):1-31, 2010.
- Ballesteros-Correa, J.; Morelo-García, L. & Pérez-Torres, J. Composición y estructura vegetal de fragmentos de bosque seco tropical en paisajes de ganadería extensiva bajo manejo silvopastoril y convencional en Córdoba, Colombia. *Caldasia*. 41 (1):224-234, 2019.
- Bampidis, V. A. & Robinson, P. H. Citrus by-products as ruminant feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128 (3-4):175-217, 2006.

- Barros, R.M.; Solorio, S.J.; Ku, V.J.; Ayala, B.A.; Sandoval, C.C. & Solís, P.G. Productive performance and urinary excretion of mimosine metabolites by hair sheep grazing in a silvopastoral system with high densities of *Leucaena leucocephala*. *Trop Anim Health and Prod.* 44 (8):1873-1878, 2012.
- Bayona, J. E. V.; Porras, G. M.; Mashuth, J. B. & Patiño, J. F. G. Estimación de la técnica *in vitro* de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. *Spei Domus.* 9 (18):59-70, 2013.
- Bedoya-Mazo, S.; Noguera, R. R. & Posada, S. L. Efecto de la especie donadora de inóculo ruminal sobre la degradación de la materia seca y producción de metano *in vitro*. *LRRD.* 28 (5):1-9. <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd28/5/bedo28086.html>. [13/08/2019], 2016.
- Ben Salem, H. & Smith, T. Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. *Small Ruminant Research.* 77 (2-3):174-194, 2008.
- Beretervide, L. *Efecto de la inoculación con Lactobacillus buchneri en la calidad nutritiva y la estabilidad aeróbica en ensilajes de maíz, cosechado en tres estados de madurez*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina, Argentina, 2015.
- Bermúdez, J. A.; Melo, E. P. & Estrada, J. Evaluación de ensilaje de naranja entera (*Citrus sinensis*) como alternativa de suplementación en bovinos. *Veterinaria y Zootecnia.* 9 (2):38-53, 2015.
- Bertoia, M. L. Algunos conceptos sobre el cultivo de maíz para ensilaje. Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2007.
- Betancourt, M.; Gonzalez, I. & Martinez De Acurero M. Evaluación de la calidad de los ensilajes. *Revista Digital Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela.* (8):1-5, 2005.
- Blanco-Valdes, Y.; Durañona, H. & Acosta, R. Efecto de la temperatura y la humedad en la conservación de granos de maíz en silos metálicos refrigerados. *Cultivos Tropicales.* 37 (4):105-114, 2016.
- Blümmel, M.; Makkar, H. P. S.; Chisanga, G.; Mtimuni, J. & Becker, K. The prediction of dry matter intake of temperate and tropical roughages from *in vitro* digestibility/gas production

- data, and the dry matter intake and *in vitro* digestibility of African roughages in relation to ruminant liveweight. *Anim. Feed Sci. Technol.* 69 (1-3):131-141, 1997.
- Blümmel, M.; Aiple, K.P.; Steingar, H. & Becker, K. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas formation *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *J. Anim. Physiol.* 81 (3):157-167, 1999.
- Borges, J. A.; Bastardo, Y.; Sandoval, E.; Barrios, M. & Ortega, R. Efecto de la adición de urea y el tipo de fermentación en la estabilidad de silajes de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Zootecnia Trop.* 23, 283-291, 2011.
- Bressani, R.; Rodas, B.; Gudiel, E. & Lezana, C. Composición química y valor nutritivo del maicillo (sorgo) dulce. *Revista de la Universidad del valle de Guatemala.* 29, 31-38, 2014.
- Bruni, M. D. L. A. & Chilbroste, P. Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.* 9 (1):43-51, 2001.
- Cabral-Filho, S. L. S.; Abdalla; A. L.; Bueno, I. C. S.; Gobbo, S. P. & Oliveira, A. A. M. Effect of sorghum tannins in sheep fed with high-concentrate diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65 (6):1759-1766, 2013.
- Cáceres, O. & Gonzalez, E. Metodología para la determinación del valor nutritivo de los forrajes tropicales. *Pastos y Forrajes.* 23 (2):87-103, 2000.
- Caicedo, W.; Rodríguez, R.; Lezcano, P.; Ly, J.; Valle, S.; Flores, L. & Ferreira, F. N. A. Physicochemical and biological indicators in silages of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) tubers for animal feeding. *Cuban J. Agric. Sci.* 50 (1):121-129, 2016.
- Caicedo, W.; Vargas, J. C.; Uvidia, H.; Samaniego, E.; Valle, S.; Flores, L. & Aguiar, S. Physicochemical, biological and organoleptic indicators in banana silage (*Musa sapientum*) for pig feeding. *Cuban J. Agric. Sci.* 51 (1):85-92, 2017.
- Callaway, T. R.; Carrol, J. A.; Arthington, J. D.; Edrington, T. S.; Rossman, M. L.; Carr, M. A.; Kreuger N. A.; Ricke, S. C.; Crandall, P. & Nisbet, D. J. *Escherichia coli* O157:H7 populations in ruminants can be reduced by orange peel product feeding. *J. Food Protect.* 74 (11):1917-1921, 2011a.

- Callaway, T. R.; Carroll, J. A.; Arthington, J. D.; Edrington, T. S.; Anderson, R. C.; Rossman, M. L.; Carr, M. A.; Genovese, K. J.; Ricke, S. C.; Crandall, P. & Nisbet, D. J. Orange peel products can reduce *Salmonella* populations in ruminants. *Foodborne Pathog and Dis.* 8 (10):1071-1075, 2011b.
- Campos-Granados, C. M. & Arce-Vega, J. Sustitutos de maíz utilizados en la alimentación animal en Costa Rica. *Nutrición Animal Tropical.* 10 (2):91-113, 2016.
- Cândido, M. J. D.; Neiva, J. N. M.; Rodriguez, N. M. & Ferreira, A. C. H. Características fermentativas e composição química de silagens de capim-elefante contendo subproduto desidratado do maracujá. *R. Bras. Zootec.* 36 (5):1489-1494, 2007.
- Canesin, R.; Berchielli, T.; Messana, J.; Baldi, F.; Pires, A. & Frighetto R. Effects of supplementation frequency on the ruminal fermentation and enteric methane production of beef cattle grazing in tropical pastures. *R. Bras. Zootec.* 43 (11):590-600, 2014.
- Caparra, P.; Foti, F.; Scerra, M.; Sinatra, M. C. & Scerra, V. Solar-dried citrus pulp as an alternative energy source in lamb diets: Effects on growth and carcass and meat quality. *Small Ruminant Res.* 68 (3):303-311, 2007.
- Caraballo, A. Efecto de la melaza, estado fisiológico del pasto y tamaño del material cosechado sobre el ensilado de pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) y Maíz (*Zea mays* L.). https://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid.es. [14/08/2019], 2012.
- Cardona, C. A. C.; Ramírez, J. F. N.; Morales, A. M. T.; Rosales, R. B.; Herrera, J. E. R.; Sánchez, F. A. A. & Londoño, G. A. C. Valor nutritivo y cinética de fermentación *in vitro* de mezclas forrajeras utilizadas en sistemas silvopastoriles intensivos. *Zootecnia Trop.* 33 (4):295-306, 2015.
- Carro, M. D.; López, S.; Valdés, C. & Ranilla, M. J. Effect of nitrogen supplementation on the *in vitro* rumen fermentation of nitrogen deficient forages. *Arch Zootec.* 48 (183):295-306, 1999.
- Castillo-González, A. R.; Burrola-Barraza, M. E.; Domínguez-Viveros, J. & Chávez-Martínez, A. Rumen microorganisms and fermentation. *Archivos de Medicina Veterinaria.* 46 (3):349-361, 2014.

- Castillo-Lopez, E. & Domínguez-Ordóñez, M. G. Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microbiana. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 10 (1): 120-148, 2019.
- Castro, V. E. M. *Efecto de métodos de conservación y tiempo de almacenamiento de ensilajes en dos tipos de praderas sobre sus indicadores de calidad nutricional*. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias, mención Producción Animal. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile, 2011.
- Cevolani, D. Materie prime ad alto tenore in fibra. In *Alimenti per la vacca da latte e il bovino da carne*. Edagricole. p. 640, 2016.
- Chacha, E. G. *Evaluación y aprovechamiento biotecnológico de residuos agroindustriales de zanahoria y suero de leche generados en el Cantón Riobamba en la elaboración de bioensilaje como alimento para rumiantes*. Tesis presentada en opción al título de Ingeniero en Biotecnología Ambiental Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, 2016.
- Chaney, A. L. & Marbach, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8:130, 1962.
- Cheeke, P. R. *Applied animal nutrition: Feeds and feeding* (3^a. ed.). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2004.
- Cheng, Y. F.; Mao, S. Y.; Liu, J. X. & Zhu, W. Y. Molecular diversity analysis of rumen methanogenic Archaea from goat in eastern China by DGGE methods using different primer pairs. *Letters in Applied Microbiology*. 48 (5):585-592, 2009.
- Cherney, J. H. & Cherney, D. J. R. Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. *Silage Science and Technology*. Madison, Wisconsin, USA. p141-198, 2003.
- Cisint, J.C.; Martín, G.O. & Medina, C.F. 2014. Rendimiento de forrajero y calidad nutricional de silaje de panojas (*earlage*) de sorgo. *Rev. agron. noroeste argent.* 34 (2):136-138, 2014.
- Contreras-Govea, F. E.; Muck, R. E.; Mertens, D. R. & Weimer, P. J. Microbial inoculant effects on silage and *in vitro* ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, bmr corn, and corn silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163 (1):2-10, 2011.

- Cottyn, B.C. & Boucqué, C.H. Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *J. Agriculture Feed Chem.* 16:105, 1968.
- Cristóbal, C. V.; Hernández, P. A. M.; Diaz, E. C.; Vásquez, R. P.; García, J. M. P. & Rodríguez, P. P. D. P. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit a key species for a sustainable bovine production in tropic. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 22 (2):331-357, 2019.
- Crosby-Galván, M. M. & Ramírez-Mella, M. Técnica de producción de gas *in vitro* para estimar la producción de metano. *AGROProductividad.* 11 (2):64-70, 2018.
- Cruz, M. M. & Sánchez, J. La fibra en la alimentación del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical.* 6 (1):39-74, 2000.
- da Silva, J. S.; Ribeiro, K. G.; Pereira, O. G.; Mantovani, H. C.; Cecon, P. R.; Pereira, R. C. & Silva, J. D. L. Nutritive value and fermentation quality of palisadegrass and stylo mixed silages. *Animal Science Journal.* 89 (1):72-78, 2018.
- De León, M.; Giménez, R. A. & de Forrajes, I. E. M. E. Ensilajes de sorgo y maíz: rendimiento, composición, valor nutritivo y respuesta animal. https://inta.gob.ar/sites/default/files/scripttmpensilajes_de_sorgo_y_maíz_rendimiento_composicin_va.pdf. [07/04/2020], 2011.
- Dehority, B.A. Rumen Microbiology. Nottingham University Press. p. 19-43, 2003.
- del Pozo, P. P. Los sistemas Silvopastoriles. Una alternativa para el manejo ecológico de los pastizales: Experiencias de su aplicación en Cuba. *Cademos de Agroecología.* 14 (2), 2019.
- Detmann, E.; Paulino, M.; Cabral, L.; Valadares-Filho, S.; Cecon, P.; Zervoudakis, J.; Lana, R.; Leão, M.; Melo, A. Simulation and validation of digestive kinetic parameters using an *in vitro* gas production system in crossbred steers with pasture supplementation. *R. Bras. Zootec.* 34 (6):2112-2122, 2005.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; González, L.; Tablada, M. & Robledo, C. W. InfoStat. version 2012, [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat. <http://www.infostat.com.ar/> [16/08/2019], 2012.

- Díaz, A. *Estrategias para mejorar el valor nutritivo de los forrajes en producción convencional y ecológica*. Tesis de Doctorado. Universidad de León, España, 2017.
- Dijkstra, J.; Kebreab, E.; Bannink, A.; France, J. & López, S. Application of the gas production technique to feed evaluation systems for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123, 561-578, 2005.
- Domínguez, M. J. *Efecto de la incorporación de la pulpa de naranja en la dieta de cabras lecheras sobre la producción, las características tecnológicas y el rendimiento quesero*. Tesis presentada en opción al grado científico de Master en producción Animal. Universidad Politecnica de Valencia. España, 2015.
- Duncan, D. B. Multiple range and multiple F test. *Biometrics.* 11:1, 1955.
- Edwards, J. E.; McEwan, N. R.; Travis, A. J. & Wallace, R. J. 16S rDNA library-based analysis of ruminal bacterial diversity. *Antonie van Leeuwenhoek.* 86 (3):263-281, 2004.
- Ehrlich, C.; Codron, D.; Hofmann, R. R.; Hummel, J. & Clauss, M. Comparative omasum anatomy in ruminants: Relationships with natural diet, digestive physiology, and general considerations on allometric investigations. *Journal of Morphology.* 280 (2):259-277, 2019.
- Elferink, S. J. O.; Krooneman, J.; Gottschal, J. C.; Spoelstra, S. F.; Faber, F. & Driehuis, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (1):125-132, 2001.
- Elghandour, M.; Salem, J.; Castañeda, L.; Camacho, A.; Kholif, Y. & Chagoyán, A. Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization of low-quality roughages in ruminants. *Journal of Integrative Agriculture.* 14 (3):526-533, 2015.
- Estrada, J.; Aranda, E. M.; Pichard, G. & Henao, F. J. Ensilaje de caña de azúcar integral enriquecido con porcinoza fresca. *Revista Orinoquía.* 17 (1):38-49, 2013.
- Fant, P.; Ramin, M.; Jaakkola, S.; Grimberg, A.; Carlsson, A. S. & Huhtanen, P. Effects of different barley and oat varieties on methane production, digestibility, and fermentation pattern *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 103 (2):1404-1415, 2020.

- Fernández, A. E.; Stuart, R. J.; Bertha Chongo & Martín, P. C. Terminación de novillos británicos en pastoreo, suplementados con grano de sorgo alto en taninos. *Pastos y Forrajes*. 36 (2):238-245, 2013.
- Fernández-Herrero, A.; Tabera, A.; Agüeria, D. & Manca, E. Obtención, caracterización microbiológica y físicoquímica de ensilado biológico de anchoíta (*Engraulis anchoita*). *REDVET*. 14 (2), 2013.
- Fernández-Mayer, A. E. Transformación de subproductos y residuos de agroindustria de cultivos templados, subtropicales y tropicales en carne y leche bovina. - 1ra ed. - Bordenave, Buenos Aires: Ediciones INTA. 200 p, 2014.
- Ferrari, C. & Alarcón, A. Ensilaje. <https://goo.gl/N3zF8Z.pdf>. [02/03/2020], 2015.
- Flores, A. J. Claves de un buen silo de sorgo. *Noticias y Comentarios*. 518:3. https://fornatec.com.ar/newsletter/_2016/fls-2016-12-17.html. [30/03/2020], 2015.
- Fulgueira, C.; Amigot, S.; Gaggiotti, M.; Romero, L. & Basílico, J. Forage quality: Technique for testing. *Fresh Produce*. 1 (2):121-131, 2007.
- Gadberry S. Part 1: Nutrition basics. Beef cattle nutrition series. University of Arkansas, USA. 24p, 2011.
- Galindo, J.; Elías, A.; Muñoz, E.; Marrero, Y.; González, N. & Sosa, A. Activadores ruminales, aspectos generales y sus ventajas en la alimentación de animales rumiantes. *Cuban J. Agric. Sci*. 51 (1):11-23, 2017.
- Gallardo, M. Ganadería de Precisión: Uso de subproductos de la agroindustria. Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar>. [4/09/2019], 2018.
- Gallardo, M. Valor nutritivo de los cultivos de maíz y sorgo para ensilar bajo estrés (climático e hídrico). <http://www.fornatec.com.ar>. [14/08/2019], 2013.
- Garcés-Molina, A.; Berrio Roa, L.; Ruíz Alzate, S.; Serna DLeón, J. & Builes Arango, A. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*. 1 (1):66-71, 2004.

- García, A. Interpreting corn silage analysis. Extension Extra 4027. South Dakota State University, 2003.
- García, M.; Darren, H.; Schulmeister, T.; Benítez, J.; Ruiz Moreno, M.; Cuenca, J. & Ponce, C. Nutrición animal en sistemas tropicales: Uso de residuos agrícolas en la producción animal. <http://www.dspace.ucuenca.edu.ec>. [14/08/2019], 2015.
- Getachew, G.; DePeters, E. J.; Robinson, P. H. & Fadel, J. G. Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123, 547-559, 2005.
- Getachew, G.; Robinson, P. H.; De Peters, E. J. & Taylor, S. J. Relationships between chemical compositions, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111 (1-4):57-71, 2004.
- Giorda, L. M. & Ortiz, D. Sorgo para la sustentabilidad y producción animal del NEA. Estrategias para una mayor productividad. 1° Jornada de Silaje del NEA. EEA INTA Colorado, Formosa. 18 pp, 2012.
- González, D. *Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de alimentos funcionales: una aproximación desde la nutrición animal*. Trabajo de grado, Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia, Colombia, 2013.
- González, M. L.; Sáez, S. J. M.; Olivera, R. M. P. & Pérez, C. E. G. Indicadores de la composición química y digestibilidad *in vitro* de 14 forrajes tropicales. *Revista de Producción Animal.* 24 (1), 2012.
- González, N.; Galindo, J.; Aldana, A. I.; Moreira, O. & Sarduy, L. Effect of four mulberry (*Morus alba* Linn.) varieties on microbial population and fermentative products with rumen liquid from river buffaloes (*Bubalus bubalis*) under *in vitro* conditions. *Cuban J. Agric. Sci.* 45 (4):399-404, 2011.
- Grandez-Pisco, N. Y. *Caracterización nutricional de once variedades de residuos de cosecha en la Región Amazonas*. Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas. Perú, 2018.

- Grant, R. Evaluating the feeding value of fibrous feeds for dairy cattle. Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln. http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/feeding/evaluating_fibrous_feed_for_dairy_cattle.html. [31/03/2020], 1996.
- Guevara, C., Patiño, R. & Mejía, C. Respuesta productiva de vacas lactantes F1 Holstein x Gyr recibiendo ensilajes de maíz o sorgo como suplemento alimenticio en época seca. *Rev. Colom. Cienc. Anim.-RECIA*. 8 (Supl):319-324, 2016.
- Gutiérrez, G. D.; Elías, A.; Lima, O. R.; Tuero, O.; Monteagudo, F. & Medina, L. B. Degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca del bagazo de henequén (*Agave fourcroydes*). Nota técnica. *Cuban J. Agric. Sci.* 52 (1):19-23, 2018.
- Hall, M. H. Summer Annual Grasses for Supplemental or Emergency Forage. Penn State Extension, Pennsylvania and U.S. Department of Agriculture, 4 p, 2008.
- Hammes, W. P.; Weiss, N. & Holzapfel, W. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium* In: A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer (Eds.) *The Prokaryotes*, 2nd ed Springer-Verlag New York, NY 1535-1594, 1992.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. Clasificación de los suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA, 2015.
- Hernández-Montiel, W.; Ramos-Juárez, J. A.; Aranda-Ibáñez, E. M.; Hernández-Mendo, O.; Munguía-Flores, V. M. & Oliva-Hernández, J. Uso potencial y limitantes de la leguminosa *Canavalia ensiformis* en la salud y productividad de los ovinos. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. 4 (10):187-200, 2017.
- Hiriart M. Ensilados. Procesamiento y Calidad. Editorial Trillas. México. p. 110, 2008.
- Iraola, J.; Rodríguez, R.; Elías, A.; García, Y. & Hernández, J. L. Live weight evaluation of grazing bulls, supplemented with Cenchrus, Moringa silage, a starchy source and VITAFERT®. *Cuban J. Agric. Sci.* 53 (1):1-6, 2019.
- Ivan, S. K.; Grant, R.J.; Weakley, D. & Beck, J. Comparison of a corn silage hybrid with high cell wall content and digestibility with a hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88 (1):244-254, 2005.

- Jalc, D.; Laukova, A. & Kisidayova S. Effect of inoculants on fermentation parameters and chemical composition of grass and corn silages. *Slovak J. Anim. Sci.* 43 (3):141-146, 2010.
- Kaiser, A. G.; Piltz, J. W.; Burns, H. M. & Griffiths, N. W. Successful silage. *Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries.* 331-419, 2004.
- Keim, J. P.; Alvarado-Gilis, C.; Arias, R. A.; Gandarillas, M. & Cabanilla, J. Evaluation of sources of variation on *in vitro* fermentation kinetics of feedstuffs in a gas production system. *Animal Science Journal.* 88 (10):1547-1555, 2017.
- Khan, N. A.; Yu, P.; Ali, M.; Cone, J. W. & Hendriks, W. H. Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 95 (2):238-252, 2015.
- Khosravi, M.; Rouzbehan, Y.; Rezaei, M. & Rezaei, J. Total replacement of corn silage with sorghum silage improves milk fatty acid profile and antioxidant capacity of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101 (12):10953-10961, 2018.
- Kimber C. T.; Dahlberg J. A. & Kresovich, S. The genepool of *Sorghum bicolor* and its improvement. In: Genetics and Genomics of the Saccharinae, edited by Paterson A.H., Heidelberg: Springer p-23-42, 2013.
- Kleinschmit, D.H. & Kung, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *J. Dairy Sci.* 89 (10):4005-4013, 2006.
- Koike, S. & Kobayashi, Y. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*. *FEMS Microbiology Letters.* 204 (2):361-366, 2001.
- Krishnamoorthy, U.; Soller, H.; Steingass, H. & Menke, K.H. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements *in vitro*. *J. Anim. Phys. Anim. Nut.* 65 (1-5):28-35, 1991.
- Ku Vera, J. C. Requerimientos de energía en rumiantes en el trópico, implicaciones del concepto de mantenimiento. III Congreso de Producción Animal Tropical y I Simposio FOCAL. La Habana. Cuba, 2010.

- Kumar, S.; Puniya, A. K.; Puniya, M.; Dagar, S. S.; Sirohi, S. K.; Singh, K. & Griffith, G. W. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25 (9):1557-1566, 2009.
- Kung Jr, L.; Shaver, R. D.; Grant, R. J. & Schmidt, R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *J. Dairy Sci.* 101 (5):4020-4033, 2018.
- Kung, L.; Treacher, R. J.; Nauman, G. A.; Smagala, A. M.; Endres, K. M. & Cohen, M. A. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83 (1):115-122, 2000.
- Lashkari, S. & Taghizadeh, A. Digestion kinetics of carbohydrate fractions of citrus by-products. *Vet. Res. Forum.* 6 (1):41-48, 2015.
- Lashkari, S. & Taghizadeh, A. Nutrient digestibility and evaluation of protein and carbohydrate fractionation of citrus by-products. *J. Anim. Phys. Anim. Nut.* 97 (4):701-709, 2013.
- Latsch, R. & Sauter, J. Comparison of methods for determining the density of grass silage. *Agricultural and food science.* 22 (1):198-193, 2013.
- Lazo-Salas, G.; Rojas-Bourrillon, A.; Campos-Granados, C.; Zumbado-Ramírez, C. & López-Herrera, M. Caracterización fermentativa y nutricional de mezclas ensiladas de corona de piña con guineo cuadrado Musa (ABB) I. Parámetros fermentativos, análisis bromatológico y digestibilidad *in vitro*. *Nutrición Animal Tropical.* 12 (1):59-79, 2018.
- Leibensperger, R. Y., & Pitt, R. E. A model of clostridial dominance in ensilage. *Grass and Forage Science.* 42 (3):297-317, 1987.
- Lenehan, C.; Moloney, A. P.; O'Riordan, E. G.; Kelly, A. & McGee, M. Comparison of rolled barley with citrus pulp as a supplement for growing cattle offered grass silage. *Advances in Animal Biosciences.* 8 (suplemento1):33-37, 2017.
- Li, D.; Ni, K.; Zhang, Y.; Lin, Y. & Yang, F. Fermentation characteristics, chemical composition and microbial community of tropical forage silage under different temperatures. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 32 (5):665-674, 2019.

- Liu, J. X.; Susenbeth, A. & Südekum, K. H. *In vitro* gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves. *J. Anim. Sci.* 80 (2):517-524, 2002.
- Liu, J.; Pu, Y-Y.; Xie, Q.; Wang, J-K. & Liu, J-X. Pectin induces an *in vitro* rumen microbial population shift attributed to the pectinolytic Treponema group. *Curr. Microbiol.* 70 (1):67-74, 2014.
- López, S. *In vitro* and *in situ* techniques for estimating digestibility. Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK, 87-121, 2005.
- Malmuthuge, N. & Guan, L. L. Understanding host-microbial interactions in rumen: searching the best opportunity for microbiota manipulation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8 (1):8, 2017.
- Manrique-Vergara, D. & González-Sánchez, M. E. Ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico) y patologías intestinales. *Nutrición Hospitalaria.* 34 (Supl.4):58-61, 2017.
- Mapato, C. & M. Wanapat. Comparison of silage and hay of dwarf Napier grass (*Pennisetum purpureum*) fed to Thai native beef bulls. *Trop. Anim. Health Prod.* 50 (7):1473-1477, 2018.
- Marino, A. M. F.; Corpina, G.; Puglisi, M. L.; Inserra, L.; Luciano, G.; Caracappa, G.; Salvaggio, A. & Giunta, R.P. Analisi dei principali parametri microbiologici utilizzabili per la valutazione della shelf life di campioni di carne di agnello. In XX Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C., 21, 2013.
- Marrero, Y.; Rodríguez, R.; Torres, V.; Jay, O. & Galindo, J. Efecto de las levaduras en la producción de gas de *Cynodon nlemfuensis* en una incubación ruminal *in vitro*. *LRRD.* 32(1), 2020.
- Martínez, R. L. *Evaluación de la calidad de fibra y de la productividad de materia seca en diferentes híbridos de sorgo*. Trabajo final de graduación presentado para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, Argentina, 2017.
- Martínez, V. C.; Saldaña, J. L. S. & de Madrid, I. C. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. Ediciones Mundi-Prensa, 1998.

- Martínez-Sáez, S. J., Deribew, H. & Entele, T. Contenidos minerales de algunos macro y microelementos en forrajes producidos en Finca Modelo, de la región de Asela, Etiopía. *Revista de Producción Animal*. 30 (2):72-74, 2018.
- Maza, L.; Vergara, O. & Paternina, E. Evaluación química y organoléptica del ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum* sp.) más yuca fresca (*Manihot esculenta*). *Revista MVZ Córdoba*. 16 (2):2528-2537, 2011.
- McDonald, P.; Henderson, A. R. & Heron, S. The biochemistry of silage. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications. 340p, 1991.
- McDowell, L. & Arthington, R. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Gainesville, EE.UU. Centro de Agricultura Tropical, Universidad de Florida, 2005.
- Mejía-Kerguelén, S.; Tapia-Coronado, J. J.; Atencio-Solano, L. M. & Cadena-Torres, J. Producción y calidad nutricional del forraje del sorgo dulce en monocultivo e intercalado con maíz y frijol. *Pastos y Forrajes*. 42 (2):133-142, 2019.
- Mena, J. L. S.; Salazar, J. A. E. & Bourillón, A. R. La producción de gas *in vitro* para estimar la energía neta de lactancia. *Agronomía Mesoamericana*. 31 (1):311-328, 2020.
- Méndez, Y.; Suárez, F. O.; Verdecia, D. M.; Herrera, R.; Labrada, J. A. & Murillo, B. Bromatological characterization of *Moringa oleifera* foliage in different development stages. *Cuban J. Agric. Sci*. 52 (3):1-10, 2018.
- Menke, K. H. & Steingass, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analyses and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28:7-55, 1988.
- Michelena, J. B. & Molina, A. The effect of time of sun exposure of king grass on silage quality. *Cuban J. Agric. Sci*. 24 (2):219-224, 1990.
- Mier Quiroz, M. de los A. *Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero*. Tesis de grado de maestría. Universidad de Córdoba. Departamento de producción animal. Córdoba, España, 2009.
- Mogodiniyai, K. *Methods to Study the Relationship between Forage Composition and Silage Fermentation and Aerobic Stability*. Tesis presentada en opción al título académico de

Doctor en Ciencias. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala: Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Department of Animal Nutrition and Management, 2016.

Morales, A.; Rodríguez, R.; Gutiérrez, D.; Elías, A.; Gómez, S. & Sarduy, L. Evaluación de la inclusión de VITAFERT en el valor nutritivo de ensilajes de *Tithonia diversifolia* y *Pennisetum purpureum*. *Cuban J. Agric. Sci.* 50 (4):619-930, 2016.

Moura, M. M. A.; de Assis, D. A.; Ferreira, R.; Cangussú, D.; Sampaio, J. P. & Junqueira, E. C. Nutritional value of sorghum silages. *Acta Sci. Anim. Sci.* 39 (2):137-142, 2017.

Murgueitio, E.; Xóchitl, M.; Calle, Zoraida; Chará, J.; Barahona-Rosales, R.; Molina, C. H. & Uribe, F. Productividad en sistemas silvopastoriles intensivos en América Latina. En: Florencia Montagnini, E. Somarriba, E. Murgueitio, H. Fassola y B. Eibl, eds. Sistemas agroforestales. Funciones productivas, socioeconómicas y ambientales. Turrialba, Costa Rica, Cali, Colombia: CATIE, CIPAV. p. 59-101, 2015.

Nava-Berumen, C. A.; Rosales-Serna, R.; Jiménez-Ocampo, R.; Carrete-Carreón, F. Ó.; Domínguez-Martínez, P. A. & Murillo-Ortiz, M. Rendimiento y valor nutricional de tres variedades de sorgo dulce cultivadas en cuatro ambientes de Durango. *Revista mexicana de ciencias pecuarias.* 8 (2):147-155, 2017.

Nogueira, F.A.S. *Qualidade das silagens de híbridos de sorgo de porte baixo com e sem teores de taninos e de colmo seco e succulento, e seus padrões de fermentação em condições de laboratório.* Tesis para optar el título de Máster en Zootecnia. Escola de Veterinária, UFMG. Belo Horizonte, 1995.

Noguera, R. R.; Valencia, S. & Posada, S. L. Efecto de diferentes aditivos sobre la composición y el perfil de fermentación del ensilaje de cáscaras de maracuyá (*Passiflora edulis*). *LRRD.* 26 (9). <http://www.lrrd.org/lrrd26/9/nogu26168.html>. [04/03/2020], 2014.

Núñez-Torres, O. P. Utilización de alimentos no tradicionales y subproductos agrícolas en la nutrición animal. *J. Selva Andina Anim. Sci.* 4 (1):1-2, 2017.

O'Kiely, P. O.; Clancy, M. & Doyle, E. M. Aerobic stability of grass silage mixed with a range of concentrate feedstuffs at feed-out. In: International Grassland Congress. Proceedings. São Pedro-SP. Piracicaba-FEALQ. Brasil. p. 794-795, 2001.

- Ojeda, F. Conservación de hollejo de cítrico fresco como ensilaje, Inf. Final Contrato No. 6.17 MES. Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. pp. 14, 2003.
- Ojeda, F.; Cáceres, O. & Esperance, M. Sistema de evaluación para ensilajes tropicales. Conservación de Forrajes. Pueblo y Educación. Ciudad de La Habana, Cuba. pp. 15-65, 1991.
- Ojeda, F.; Montejo, I. & López, O. Estudio de la calidad fermentativa de la morera y la hierba de guinea ensiladas en diferentes proporciones. *Pastos y Forrajes*. 29 (2):195-202, 2006.
- Ojeda, F.; Pino, B. N.; Lamela, L. & Montejo, I. Efecto de la suplementación proteínica en la respuesta productiva de toros alimentados con dietas mixtas basadas en hollejo de cítrico. *Pastos y Forrajes*. 33 (2), 2010.
- Oliviera, J.; Nunes, R.; Rodrigues, L. & Rocha, A. Efeito de aditivo em silagens de leguminosas forrageiras. *Ciencia et Praxis*. 8 (15):53-58, 2015.
- Oluremi, O. I. A.; Ojighen, V. O. & Ejembi, E. H. The nutritive potentials of sweet orange (*Citrus sinensis*) rind in broiler production. *Int. J. Poult. Sci*. 5 (7):613-617, 2006.
- Orskov, E. R.; Hovell, F. D. & Mould, F. T. A. P. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5 (3):195-213, 1980.
- Ososanya, T. O. & Olorunnisomo, O. A. Silage characteristics and preference of sheep for wet brewer's grain ensiled with maize cob. *LRRD*. 27 (1). <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd27/1/osos27012.html>. [15/07/2019], 2015.
- Padilla-Montes, M. A. *Patrones de fermentación y estabilidad aeróbica de ensilaje de sorgo forrajero (Sorghum bicolor (L.) Moench) con diferentes niveles de inclusión de pulpa integral de jícara (Crescentia alata Kunth)*. Tesis para optar por el al Grado de Maestro en Ciencias en Producción Animal Sostenible. Facultad de Ciencia Animal, Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua, 2018.
- Pahlow, G.; Muck, R. E.; Driehuis, F.; Oude Elferink, S. J. W. H. & Spoelstra, S. F. Microbiology of ensiling. Pages 31-93 in *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, 2003.

- Paiva, J. A. J. Qualidade das silagens da região metalúrgica de Minas Gerais. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 85p, 1976.
- Patra, A.K.; Park, T.; Kim, M. & Yu, Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8 (1):1-18, 2017.
- Paytan, L. M.; Sáez, M.; Cordero, A. G.; Contreras, J. L.; Curasma, J.; Tunque, M. & Rojas, Y. C. Efecto de aditivos químicos en la composición del ensilado de avena (*Avena sativa* L). *RCCV*. 11 (1):69-75, 2017.
- Pelagalli, A.; Musco, N.; Trotta, N.; Cutrignelli, M. I.; Di Francia, A.; Infascelli, F.; Tudisco, R.; Lombardi, P.; Vastolo, A. & Calabrò, S. Chemical characterisation and *in vitro* gas production kinetics of eight faba bean varieties. *Animals*. 10 (3):398, 2020.
- Pell, A. N. & Schofield P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *J. Dairy Sci*. 76 (4):1063-1073, 1993.
- Petri, R.M.; Forster, R.J.; Yang, W.; McKinnon, J. J. & McAllister, T.A. Characterization of rumen bacterial diversity and fermentation parameters in concentrate fed cattle with and without forage. *J. Appl. Microbiol*. 112 (6):1152-1162, 2012.
- Philippidis, G.; Sanjuán, A.; Ferrari, E. & M'barek, R. Employing social accounting matrix multipliers to profile the bioeconomy in the EU member states: is there a structural patten. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 12 (4):913-926, 2014.
- Piñeiro-Vázquez, A. T.; Ayala-Burgos, A. J.; Chay-Canul, A. J. & Ku-Vera, J. C. Dry matter intake and digestibility of rations replacing concentrates with graded levels of *Enterolobium cyclocarpum* in Pelibuey lambs. *Tropical Animal Health and Production*. 45 (2):577-583, 2013.
- Pinho, R. M. A.; Santos, E. M.; Oliveira, J. S. D.; Bezerra, H. F. C.; Freitas, P. M. D. D.; Perazzo, A. F.; Silva, R. C. & Silva, A. P. G. D. Sorghum cultivars of different purposes silage. *Ciência Rural*. 45 (2):298-303, 2015.

- Pirondini, M.; Colombini, S.; Malagutti, L.; Rapetti, L.; Galassi, G.; Zanchi, R. & Crovetto, G. M. Effects of a selection of additives on *in vitro* ruminal methanogenesis and *in situ* and *in vivo* NDF digestibility. *Anim. Sci. J.* 86 (1):59-68, 2015.
- Pond, W. G.; Church, D.C. & Pond, K. R. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. 2 ed. México: Limusa SA. 2002.
- Pordomingo, A. J. Feedlot: Alimentación, diseño y manejo. EEA INTA Anguil. Publicación técnica N° 95, 170 pp, 2013.
- Posada, S.; Rosero, R.; Rodríguez, N. & Costa, A. Comparación de métodos para la determinación del valor energético de alimentos para rumiantes. *Revista MVZ Córdoba.* 17 (3):3184-3192, 2012.
- Queiroz, O. C. M.; Ogunade, I. M.; Weinberg, Z. & Adesogan, A. T. Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 101 (5):4132-4142, 2018.
- Randby, A. T.; Selmer-Olsen, I. & Baevre, L. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. *J. Dairy Sci.* 82 (2):420-428, 1999.
- Rego, M.; Neiva, J.; Do Rego, A.; Cândido, M.; Clementino, R. & Restle, J. Nutritional evaluation of elephant-grass silages with byproduct of annatto. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 39 (10):2281-2287, 2010.
- Rivarola J. Á. Concentración de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de toretes Charoláis en engorda alimentados con diferentes niveles de masilla y levadura de Cerveza. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", 2015.
- Rodríguez, P. M. *Factores que afectan la fermentación microbiana y al perfil y flujo de aminoácidos de las bacterias asociadas con las fracciones líquida y sólida en un sistema de cultivo continuo.* Tesis presentada en opción al título de Doctor en el programa de Producción animal de la Universidad Autónoma de Barcelona, 2003.
- Rodríguez, R.; Elías, A.; Herrera, F.; González, N.; Moreira, O.; Gutiérrez, D.; Gómez, S.; Sarduy, L. & Medina, Y. Valor nutritivo de ensilajes mixtos *Pennisetum purpureum* (vc. CUBA CT-169): *Moringa oleifera*: *Ipomoea batata*, inoculados con el producto biológico VITAFERT. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia->

carne/nutricion/articulos/cuba2015valor-nutritivo-ensilajes-t39536/141-p0.html.
[15/07/2019], 2016.

- Rodríguez, R.; González, N.; Ramírez, A.; Gómez, S.; Moreira, O.; Sarduy, L. & Medina, Y. Taninos de leguminosas arbustivas tropicales: su efecto en la protección de proteínas de harina de soya. *Cuban J. Agric. Sci.* 48 (3):247-252, 2014.
- Rodríguez, R.; Herrera, F.; Gómez, S.; González, N.; Galeana, J. A.; Elías, A.; Moreira, O.; Sarduy, L. & Medina, Y. Effects of including sweet potato (*Ipomoea batatas*) and Vitafert as additives on the nutritional value of *Cenchrus purpureus* cv. CUBA CT-169 and *Moringa oleifera* silages. *Cuban J. Agric. Sci.* 53 (2):119-133, 2019.
- Rodríguez, R.; Lores, J.; Gutiérrez, D.; Ramírez, A.; Gómez, S.; Elías, A.; Aldana, A. I.; Moreira, O.; Sarduy, L. & Jay, O. Inclusion of the microbial additive Vitafert in the *in vitro* ruminal fermentation of a goat diet. *Cuban J. Agric. Sci.* 47:1, 2013.
- Rodríguez, R.; Michelena, J. B.; Torres, M.; Elías, A.; Gutiérrez, D. & Iraola, J. Ensilajes de calidad con forrajes tropicales. Alternativas para el ganadero en Cuba. Registro CENDA No. 3554-11-2017. La Habana, Cuba, 2017.
- Rodríguez-Muela, C.; Rodríguez-Ramírez, H. E.; Díaz-Plascencia, D.; Bocourt-Salabarría, R. & Arzola-Álvarez, C. Concentración de fibra detergente ácido, fibra detergente neutro y lignina durante la fermentación en estado sólido de subproductos de manzana (*Malus domestica*). *Cuban J. Agric. Sci.* 51 (1):47-60, 2017.
- Romero-Huelva, M. & Molina-Alcaide, E. Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial nitrogen flow, microbial abundances, and methane emissions in goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *J. Anim. Sci.* 91 (2):914-923, 2013.
- Romero-Huelva, M.; Ramos-Morales, E. & Molina-Alcaide, E. Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *J. Dairy Sci.* 95 (10):6015-6026, 2012.
- Ros Berruezo, G.; Martínez Gracia, C. & Valencia Arques, J. A. Biodisponibilidad de los ácidos grasos de cadena corta: mecanismos de absorción. *Anales.* 24 (1):125-134, 2011.

- Royo, L. S. *Efecto de enzimas exógenas sobre la fermentación y calidad nutricional de ensilaje de sorgo*. Doctoral dissertation, Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 2018.
- Royón, F. D. Importancia de la calidad en los forrajes en dietas de alta producción. *Frisona española*. 37 (218):88-89, 2017.
- Russell, J. B.; O'Connor. J.D.; Fox. D.G.; Van Soest, P.J. & Sniffen, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70 (11):3551-3561, 1992.
- Salas, R. Z. & Echeverry, D. P. Estructuras de los protozoos ciliados ruminales relevantes para la caracterización morfológica. *Hechos Microbiológicos*. 1 (2): 67-69, 2010.
- Sales, F. Importancia de los minerales para la alimentación de bovinos en Magallanes. Ministerio de Agricultura, Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA Kampenaike - INFORMATIVO N° 77: 1-4, 2017.
- Sánchez, W. Potencial de los forrajes para producir ensilaje de calidad. *Alc. Tecnol.* 12 (1):49-58, 2018.
- Santana Lourdes, D. R. *Enzimas fibrolíticas e emurchecimento no controle de perdas da ensilagem e na digestão de nutrientes em bovinos alimentados com rações contendo silagem de Capim Tanzania*. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Doutor em Ciencia Animal e Pastagens, 2004.
- Santi, G.; Proietti, S.; Moscatello, S.; Stefanoni, W. & Battistelli, A. Anaerobic digestion of corn silage on a commercial scale: Differential utilization of its chemical constituents and characterization of the solid digestate. *Biomass and Bioenergy*. 83:17-22, 2015.
- Secombe, C.J. & Lester, G.D. The role of diet in the prevention and management of several equine diseases. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 173 (1-2):86-101, 2012.
- Solís, C.; Rodríguez, R.; Marrero, Y.; Moreira, O.; Sarduy, L. & Ruiloba, M. H. Changes in the *in vitro* ruminal fermentation dynamics of diets for cattle, based on corn grains and different levels of sweet potato (*Ipomoea batatas*, L.) integral silage. *Cuban J. Agric. Sci.* 54 (1):45-54, 2020.

- Song, S.; Bae, D. W.; Lim, K.; Griffiths, M. W. & Oh, S. Cold stress improves the ability of *Lactobacillus plantarum* L67 to survive freezing. *International Journal of Food Microbiology*. 191:135-143, 2014.
- Stevenson, D. M. & Weimer, P. J. Dominance of Prevotella and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75 (1):165-174, 2007.
- Theodorou, M. K.; Williams, B. A.; Dhanoa, M. S.; Mc Allan, A. B. & France, J. A. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feed. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 48 (3-4):185-197, 1994.
- Togtokhbayar, N.; Cerrillo, M. A.; Rodríguez, G. B.; Elghandour, M. M.; Salem, A. Z.; Urankhaich, C.; Jigjidpurev, S.; Odongo, N. E. & Kholif, A. E. Effect of exogenous xylanase on rumen *in vitro* gas production and degradability of wheat straw. *Anim. Sci. J.* 86 (8):765-771, 2015.
- Trujillo, A. I. & Uriarte, G. Valor nutritivo de las pasturas. 1: 1-19, 2015.
- Uvidia, H.; Ramírez, J.; Vargas, J.; Leonard, I. & Sucoshañay, J. Relación del clima con el rendimiento y la calidad del *Pennisetum purpureum* en la Amazonia Ecuatoriana. *REDVET*. 16 (6):1-10, 2015.
- Uyeno, Y.; Shigemori, S. & Shimosato, T. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity: Mini review. *Microbs. Environ.* 30 (2):126-132, 2015.
- Uzun, F.; Ugur, S. & Sulak, M. Yield, Nutritional and Chemical Properties of Some Sorghum x Sudan Grass Hybrids (*Sorghum bicolor* (L.) Moench x *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf). *J. Anim. Vet. Adv.* 8 (8):1602-1608, 2009.
- Valadares-Filho, S. C. & Pina, D. S. Fermentação Ruminal. IN: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 583p, 2006.
- Van Dung, D.; Shang, W. & Yao, W. Effect of crude protein levels in concentrate and concentrate levels in diet on *in vitro* fermentation. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27 (6):797-805, 2014.

- Van Saun, R. J. Determining forage quality: Understanding feed analysis. *Lamalink. Com.* 3 (8):9-18, 2006.
- Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminant (2^a. ed.). New York, NY: Cornell University Press, 1994.
- Van Soest, P.; Robertson, J. & Lewis, A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 (10):3568-3597, 1991.
- Vargas, S. A.; Noguera, R. R. & Barahona, R. Cinética de la degradabilidad *in vitro* de ensilajes de Maralfalfa (*Pennisetum* sp.) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*). *Rev. CES. Med. Zootec.* 10 (2):82-94, 2015.
- Vargas, Y. A. & Pérez, L. I. Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas.* 14 (1):59-72, 2018.
- Villalba, D. K.; Holguín, V. A.; Acuña, J. A. & Varon, R. P. Calidad bromatológica y organoléptica de ensilajes de residuos orgánicos del sistema de producción café-musáceas. *Revista Colombiana de Ciencia Animal.* 4 (1):47-52, 2011.
- Villanueva-Najarro, C.; Casasola-Coto, F. & Detlefsen-Rivera, G. Potencial de los sistemas silvopastoriles en la mitigación al cambio climático y en la generación de múltiples beneficios en fincas ganaderas de Costa Rica. CATIE, Turrialba (Costa Rica), 2018.
- Villanueva, Z.; Ibarra, M. A.; Zárate, P.; Briones, F.; Escamilla, O. S.; González, A. & Gutiérrez, E. Comportamiento productivo de corderos de pelo alimentados con residuo fresco de naranja (*Citrus sinensis*) en sustitución de granos de sorgo (*Sorghum vulgare*). *Cuban J. Agric. Sci.* 47 (1):27-31, 2013.
- Von Pinho, R. G.; Fiorini, I. V. A. & Santos, A. O. Botânica In: Borém, A.; Pimentel, L. D.; Parrella, R. A. C. Sorgo do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. UFV, 275 p, 2014.
- Wang, S.; Yuan, X.; Dong, Z.; Li, J. & Shao, T. Isolating and evaluating lactic acid bacteria strains for effectiveness on silage quality at low temperatures on the Tibetan Plateau. *Anim. Sci. J.* 88 (11):1722-1729, 2017.

- Wilkinson, J. M. & Davies, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*. 68 (1):1-19, 2013.
- Xue, Z.; Liu, N.; Wang, Y.; Yang, H.; Wei, Y.; Moriel, P.; Palmer, E. & Zhang, Y. Combining Orchardgrass and Alfalfa: Effects of Forage Ratios on *In Vitro* Rumen Degradation and Fermentation Characteristics of Silage Compared with Hay. *Animals*. 10 (1):1-16, 2020.
- Yang, W. Z.; Benchaar, C.; Ametaj, B. N. & Beauchemin, K. A. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Anim. Feed. Sci. Tech*. 158 (1-2):57-64, 2010.
- Yang, Y.; Ferreira, G.; Corl, B. A. & Campbell, B. T. Production performance, nutrient digestibility, and milk fatty acid profile of lactating dairy cows fed corn silage-or sorghum silage-based diets with and without xylanase supplementation. *J. Dairy Sci*. 102 (3):2266-2274, 2019.
- Yfran-Elvira, M. D. L. M.; Ruiz-Díaz, J. J.; Ortiz-Alegre, M. L.; Fuentes-García, M. J. & Michellod-Muth, M. M. Análisis de plaguicidas y calidad de frutos cítricos en el mercado interno de Corrientes-Argentina. *Cultivos Tropicales*. 40 (3), 2019.
- Zahiroddini, H.; Baah, J.; Absalom, W. & McAllister, T. A. Effect of an inoculant and hydrolytic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. *Anim. Feed. Sci. Tech*. 117 (3-4):317-330, 2004.
- Zema, D. A.; Calabrò, P. S.; Folino, A.; Tamburino, V.; Zappia, G. & Zimbone, S. M. Valorisation of citrus processing waste: A review. *Waste management*. 80: 252-273, 2018.
- Zhou, R.; Wu, J.; Lang, X.; Liu, L.; Casper, D. P.; Wang, C.; Zhan, L. & Wei, S. Effects of oregano essential oil on *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *J. Dairy Sci*. Article in press, 2020.
- Zu Ermgassen, E. K. H. J. *Strategies for sustainable livestock production in Brazil and the European Union* (Doctoral dissertation, University of Cambridge), 2018.