ARTÍCULO CIENTÍFICO

Evaluación nutricional del ensilaje de *Sambucus peruviana, Acacia decurrens* y *Avena sativa*

Gloria Milena Blanco[1], Diego Rosendo Chamorro[2], Luis Carlos Arreaza[3] y Ana María Rey[4]

ABSTRACT

Title: **Nutritional evaluation of *Sambucus peruviana, Acacia decurrens* and *Avena sativa* silage**

Six mixed silages with grasses and arboreal species were evaluated using *Avena sativa, Acacia decurrens, Sambucus peruviana* with molasses and 85% formic acid, enzymatic crude extract of ruminal fluid and Kem-Lac®[5] as additives, by means of PVC microsilos. Fermentation efficiency, chemical composition and *in vitro* gas production were analysed for establishing parameters for ruminal degradation by means of Y= a*{1– exp [–b*(X–c)]} exponential mathematical model. After 45 days' fermentation there were significant differences (P<0.01) between the treatments in terms of mean values for MS (18%), pH (3.84%), N-NH_3 (5.49%), acetic acid (1.55%), 0.34% lactic acid and the absence of butyric or propionic acid. The treatment having added ruminal enzymatic extract displayed the best nutritional characteristics, response related to nutrient contribution and efficiency in use: 70.86% DIVMS, smaller colonization time (0.25h), less FDA (23.27%), greater hemicellulose content (21.13%) and greatest insoluble but digestible protein (B3) percentage (25.22%) (P<0.01). These effects were possibly associated with ruminal enzymatic extract facilitating bio-availability of polysaccharides for their fermentation at ruminal level.

Key words: fermentation, quality, chemical composition, arboreal species, gramineae, leguminous, CNCPS, *in vitro* gas production.

Recibido: enero 8 de 2005
Aceptado: mayo 2 de 2005

1. Zootecnista. Universidad de Ciencias Agropecuarias y del Ambiente. e-mail: glomiblace@gmail.com.
2. Investigador Asistente, Programa de Nutrición y Fisiología Animal, Corpoica, C.I. Tibaitatá.
3. Investigador Asociado, Programa de Nutrición y Fisiología Animal, Corpoica, C.I. Tibaitatá.
4. Microbióloga. Candidata M.Sc. Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia.
5. Kemin Industries, Inc. 2100 Maury St., Box 70. Des Moines, AI. USA. 50301-0070.515/226-2111. Kem-Lac® es un compuesto de bacterias ácidolácticas y enzimas que favorece la fermentación *in vitro*, en este caso en los microsilos.

RESUMEN

Se evaluaron seis ensilajes mixtos de una gramínea y dos especies arbóreas (*Avena sativa, Acacia decurrens, Sambucus peruviana*) con la inclusión de melaza, ácido fórmico al 85%, extracto crudo enzimático de fluido ruminal y Kem Lac®[5], en microsilos de PVC. Se analizó la eficiencia de la fermentación, la composición química y la producción de gas *in vitro* con el fin de establecer los parámetros de degradación ruminal mediante el modelo matemático exponencial Y= a*{1– exp [–b*(X–c)]}. A los 45 días de fermentación se encontraron diferencias significativas (P<0,01) entre los tratamientos con valores promedio de MS de 18%, pH 3.84, N-NH_3 5,49%, ácido acético 1,55%, ácido láctico 0,34%; no se constató la presencia de los ácidos butírico y propiónico. El tratamiento con adición de extracto enzimático ruminal presentó las mejores características nutricionales; esta respuesta se relaciona con el aporte de nutrientes y la eficiencia en su utilización: una DIVMS de 70,86% asociada con un reducido tiempo de colonización (0,25 h), menor FDA (23,27%), contenidos mayores de hemicelulosa (21,13%) y mayor porcentaje de proteína protegida B3 (25,22%) (P<0,01), efectos debidos posiblemente a que el extracto enzimático ruminal facilitó la biodisponibilidad de los polisacáridos para su fermentación a nivel ruminal.

Palabras clave: Fermentación, calidad, composición química, especies arbóreas leguminosas y no leguminosas, CNCPS, producción de gas *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La alimentación de los rumiantes en el trópico de altura colombiano se limita al uso de algunas pocas especies vegetales, generalmente gramíneas como el kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y el raygrass (*Lolium multiflorum*) cuya producción se ve influida por el déficit hídrico y el efecto de las heladas; estas condiciones estacionales originan disminución del valor nutritivo del forraje y de la disponibilidad de biomasa, lo cual interfiere con el óptimo desempeño de los bovinos en pastoreo.

En condiciones tropicales la reducción de la disponibilidad de forraje en época de verano se resuelve mediante prácticas como el ensilaje que permite aprovechar los excedentes de forraje, que pueden oscilar entre 25% y 80% en épocas de lluvia (Ojeda, 2000). Sin embargo, con el ensilaje simple no se solucionan los problemas de disminución del valor nutritivo del forraje, ya que suele ser elaborado a partir de gramíneas con bajo contenido de proteína, alto nivel de fibra y escasa presencia de carbohidratos solubles, factores que afectan la fermentación y resultan en un suplemento de baja calidad.

La inclusión de especies arbóreas y arbustivas presentes en la zona (con mayores contenidos de proteína y minerales que las gramíneas) en los sistemas de alimentación, puede mejorar la productividad de los bovinos principalmente por su efecto sobre los microorganismos ruminales que aumenta la disponibilidad de nitrógeno amoniacal, aminoácidos y péptidos (Preston y Leng, 1990).

Con el objetivo de mejorar el valor nutricional de la *A. sativa*, con respecto al contenido de proteína, se realizó un ensilaje mixto gramíneas: especies arbóreas y arbustivas, utilizando algunos de los recursos arbóreos más abundantes de la región andina y con mayor valor nutricional, para proporcionar una alternativa innovadora y económicamente viable para la alimentación de bovinos en el trópico alto colombiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación (CI) Tibaitatá de Corpoica, ubicado en el

municipio de Mosquera (Cundinamarca), con temperatura promedio anual de 13°C, altura de 2.547 msnm y precipitación de 621 mm. Los análisis de calidad nutricional se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Fisiología y Nutrición Animal y la obtención de las especies *A. decurrens*, *A. sativa* y *S. peruviana*, con porcentajes de inclusión en el silo de 2.9%, 47% y 38% respectivamente, se realizó en el Centro Multisectorial del SENA en Mosquera y el CI Tibaitatá. Se realizaron 72 microsilos con una capacidad de 2 kg utilizando tubos de PVC para evaluar seis tratamientos con tres réplicas, en cuatro períodos de fermentación (0, 15, 30 y 45 días).

Los tratamientos evaluados fueron: T1: Ensilaje de *A. sativa*, *S. peruviana* y *A. decurrens* más melaza; T2: T1 más ácido fórmico; T3: T1 más extracto enzimático de fluido ruminal; T4: T2 más extracto enzimático de fluido ruminal; T5: T2 más Kem Lac®; T6: T1 más Kem Lac®. Dependiendo del tratamiento se adicionó 3.9% de agua, 7.1% de melaza, 0.50% ácido fórmico y 0.10% tanto de extracto enzimático de fluido ruminal como de Kem Lac® compuesto de bacterias ácido lácticas y enzimas.

El extracto enzimático ruminal se obtuvo al recolectar fluido ruminal de un bovino fistulado de raza Holstein; el fluido se sometió a sonicación por 10 minutos, el sobrenadante se congeló y posteriormente se liofilizó por 3 días.

Para la composición química y producción de gas *in vitro* el material ensilado fue liofilizado. Se realizaron muestreos periódicos y se determinó el porcentaje de nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_3$) utilizando la técnica descrita por AOAC, 1995, la materia seca (MS) de acuerdo a Harris, 1970 y el pH por medio de un potenciómetro. Posteriormente los microsilos fueron abiertos y analizados a los 45 días de su elaboración. Se determinó la MS, ácidos grasos volátiles (AGV) y ácido láctico (AL) mediante la técnica descrita por Peters *et al.* (1989), el $N\text{-}NH_3$/NT y el pH. La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) se determinaron mediante la técnica descrita por Tilley y Terry (1963) y el fraccionamiento de carbohidratos y proteínas (CNCPS) siguiendo la metodología descrita por Van Soest y Robertson (1985) y Licitra (1996).

Se utilizó el sistema de producción de gas *in vitro* que se compone según Pell y Schofield (1993) de un incubador con agitación multiple, sensores de presión, frascos de incubación, un computador con soporte lógico y una tarjeta de conversión análoga/digital; cada sensor es usado para trasmitir los datos (voltaje) a una computadora compatible por medio de una tarjeta de conversión hacia el programa Atlantis, siguiendo la metodología citada por Goering y Van Soest (1970).

Con los datos obtenidos en la producción de gas se evaluó la cinética de fermentación aplicando la ecuación exponencial de Mertens y Loften (1980):

$$Y = a^{*}\{1 - \exp[-b^{*}(X-c)]\}$$

donde:
a: total de gas producido (ml), b: tasa de producción de gas (ml/h) y c: tiempo de colonización o tiempo lag (retardo/h).

Análisis estadístico

La DIVMS, los ácidos grasos volátiles (AGV), AL y el fraccionamiento de carbohidratos y proteínas (CNCPS) se analizaron separadamente mediante un diseño completamente al azar. Las variables de pH, $N\text{-}NH_3$, MS del ensilaje, ocasionadas por el efecto de los tratamientos durante esta investigación fueron analizadas mediante un arreglo factorial (6 X 4): 6 tratamientos y 4 períodos de fermentación (0, 15, 30 y 45 días), en un diseño completamente al azar. Para los datos obtenidos en la producción de gas *in vitro* se realizó un análisis de regresión lineal. Todos los datos fueron analizados usando el proceso GLM del SAS (1987) y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensilajes mixtos el proceso de conservación transcurrió de manera eficiente durante todo el período de fermentación, como se puede verificar por el pH inferior a 3.9, porcentajes bajos de $N\text{-}NH_3$ (5.49% NT), concentraciones bajas de ácido acético (1.55% MS), propiónico (0.01% MS) y butírico (0.01% MS); estas variables presentan diferencias altamente significativas ($P<0.01$) entre los tratamientos como se observa en la Tabla 1, las cuales indican procesos adecuados de fermentación.

Tabla 1. Composición química de ensilajes mixtos de *A. sativa*, *A. decurrens* y *S. peruviana* ($P<0.01$).

	Tratamientos					
Parámetro	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**
MS (%)	19.38 a	16.24 b	19.65 a	17.12 b	17.68 d	18.58 a
pH	3.87 a	3.84 b	3.86 a	3.85 a	3.81 b	3.85 a
$N\text{-}NH_3$ (%/NT)	5.11 ab	4.75c	5.21 ab	5.21 ab	5.56 ab	6.80 a
Acido acético (%/MS)	0.17 d	0.93 c	1.54 b	0.85 c	1.51 b	4.80 a
Ácido propiónico (%/MS)	0.003 b	0.002 b	0.003 b	0.07 a	0.002 b	0.003 b
Ácido butírico (%/MS)	0.015 a	0.010 b	0.011 b	0.015 a	0.016 a	0.016 a
Acido láctico (%/MS)	0.34 b	0.31 b	1.31 a	0.77 a	0.77 a	0.63 a

T1: Avena, Sauco y Acacia + melaza; T2: T1 + ácido fórmico; T3: T1 + extracto enzimático de fluido ruminal; T4: T2 + extracto enzimático de fluido ruminal; T5: T2 más Kem Lac®; T6: T1 + Kem Lac®.

Además de la disminución del pH para los tratamientos con ácido fórmico y Kem Lac® (T2, T4 y T5) éstos obtuvieron los menores contenidos de MS ($P<0.01$), significativamente inferiores, debido a pérdidas por efluentes, lo cual concuerda a lo obtenido por Esperance (1981), Tjanaraatmad *et al.* (1994), Lissette *et al.* (1992) en ensilajes mixtos de gramíneas y Siebald *et al.* (2003).

Con respecto a la DIVMS, en general los tratamientos evaluados presentaron valores promedio de 67.14% como se muestra en la Figura 1, valores superiores a los encontrados por Solorio *et al.* (2003) en ensilajes de arbóreas (52.14%). Se resalta que existen valores más bajos de digestibilidad en los ensilajes mixtos

Figura 1. Digestibilidad *in vitro* de la MS de ensilajes mixtos ($P<0.01$). T1: Avena, Sauco y Acacia + melaza; T2: T1 + ácido fórmico; T3: T1 + extracto enzimático de fluido ruminal; T4: T2 + extracto enzimático de fluido ruminal; T5: T2 + Kem Lac®; T6: T1 + Kem Lac®.

Tabla 2. Composición nutricional del ensilaje de *A. sativa, S. peruviana* y *A. decurrens* de acuerdo al CNCPS (P<0.01).

Tratamiento	PC (%)	Proteína (B1 + A) (PC sol/PC)	Proteína (B2) (PC %)	Proteína (B3) (PC %)	Proteína (C) (%)	FDN (MS %)	FDA (MS %)	Celulosa (MS %)
T1	12.22 c	29.90 b	46.73 c	12.04 c	11.32 d	43.72 bc	30.77 a	20.67 ab
T2	8.58 d	32.42 b	29.81 e	15.68 b	22.07 b	47.82 a	28.31 a	20.66 ab
T3	13.77 b	37.80 a	27.07 e	25.22 a	9.90 d	44.40 ab	23.27 b	16.68 c
T4	9.69 d	20.08 c	65.48 a	7.46 d	6.85 e	45.94 ab	27.22 a	21.40 a
T5	12.74 bc	16.21 c	55.44 b	1.67 e	26.66 a	41.87 cd	27.92 a	20.00 ab
T6	15.18 a	41.50 a	40.05 d	3.22 e	15.21 c	39.80 d	27.03 ab	18.23 bc

T1: Avena, Sauco y Acacia + melaza; T2: T1 + ácido fórmico; T3: T1 + extracto enzimático de fluido ruminal; T4: T2 + extracto enzimático de fluido ruminal; T5: T2 + Kem Lac®; T6: T1 + Kem Lac®.

según Carneiro *et al.* (1984) y estos valores varían dependiendo de la especie que se utilice, así como la proporción dentro de la mezcla (Yahaya *et al.*, 2000).

La mayor digestibilidad se presentó en el T6 con 72.12% (P<0.01); este incremento en DIVMS está relacionado con los bajos porcentajes de FDN (39.80% MS) (Tabla 2). Con respecto al comportamiento de todos los tratamientos. Los resultados concuerdan con lo reportado por Nadeau *et al.* (2000) en ensilajes de *M. sativa*.

Los tratamientos con adición de ácido fórmico (T2, T4 y T5) disminuyeron significativamente (P<0.05) la DIVMS con valores de 64.8, 63.2 y 65.1 respectivamente, con respecto a los demás tratamientos, resultados que coinciden con los reportes de Nagel y Glen (1992), quienes reportaron valores de 61.2% de DIVMS con ensilajes mixtos de gramíneas y leguminosas.

Fraccionamiento de carbohidratos y proteínas (CNCPS)

Los tratamientos evaluados presentaron un contenido de proteína cruda (PC) entre 8.58 y 15.18%, valores superiores a los publicados por Solorio *et al.* (2003) en ensilajes mixtos. El mayor porcentaje de PC (15.18%, P<0.01) se logró al incluir Kem Lac® (T6), seguido de 13.77% de PC obtenido con la inclusión de extracto enzimático (T3); el menor valor se presentó al utilizar ácido fórmico (T2) 8.58% (Tabla 2). Según la información de la biblioteca de Cornell (CNCPS), los ensilajes evaluados son superiores en promedio a los ensilajes de *M. sativa* en un 1.62%, valor porcentual (0.13%) al ensilaje de cebada y 3.89% al ensilaje de *A. sativa* (Fox *et al.*, 2000).

Una de las fracciones de proteína de mayor importancia en la suplementación de bovinos de alta producción, es la fracción B3 o proteína de paso; en esta fracción se obtuvieron diferencias altamente significativamente (P<0.01): el mayor valor se obtuvo con la adición de extracto crudo enzimático (T3) con un valor de 25.22%, lo cual ocurrió posiblemente por efecto de las enzimas fibrolíticas que en contacto con el ensilaje pueden proteger las enzimas exógenas de la acción de la proteasa ruminal, creando un protector de la degradación ruminal, lo cual concuerda con lo expuesto por Fontes *et al.* (1995) en forrajes mediante la resistencia de la celulasas y xilanasas a la inactivación proteolítica.

La fracción de la proteína que no se utiliza en ningún comportamiento del tracto gastrointestinal del rumiante es la fracción C. El valor promedio para los tratamientos fue de 15.34%; con el extracto enzimático (T3) se obtuvo 9.90% y se observó que con la adición del extracto enzimático y ácido fórmico (T4) (6.85%) los valores disminuyeron. Los menores porcentajes de la fracción C están relacionados con una mayor disponibilidad de proteína digestible.

Producción de gas *in vitro*

Existen diferencias significativas (P<0.05) entre tratamientos para la producción acumulada de gas (parámetro a). Ésta fue mayor en los ensilajes con adición de extracto crudo enzimático de fluido ruminal, superando con los valores de 23.25 ml (T3) y 23.29 ml (T1) significativamente (P<0.05) a los demás tratamientos. Se debe anotar que el incremento del porcentaje de lignina en los ensilajes, decreció la producción de gas observado en el (T4) (19.18 ml) donde se obtuvo el menor valor en producción de gas y contiene el mayor porcentaje de lignina con 19.73%, mientras el (T1) (11.38%) fue el menor porcentaje de lignina, lo cual concuerda con lo observado por Lanna *et al.* (2003) al evaluar la cinética de digestión de *P. purpureum*.

Con relación a la tasa de producción de gas (parámetro b) se reportaron diferencias significativas (P<0.05) entre tratamientos y los valores oscilan en un rango que estuvo entre 0.12 - 0.09 ml/h, lográndose las más altas tasas de degradación con la adición de extracto crudo enzimático de fluido ruminal (T3) (0.12 ml/h); además, este tratamiento obtuvo el menor tiempo de colonización (parámetro c) con 0.25 h, siendo significativamente (P<0.05) inferior a los demás tratamientos (Tabla 3), lo cual concuerda con los datos obtenidos por Wallace *et al.*

Tabla 3. Valores promedio (n=2) de producción acumulada de gas a diferentes tiempos de incubación de los tratamientos y parámetros estimados de producción de gas (R^2>0.99).

	Producción acumulada de gas en el tiempo (ml)					Parámetros de Mertens y Loften		
Ttts.	8 h	12 h	24 h	36 h	46 h	a (ml)	b (ml/h)	c (h)
Sig	**	**	ns	ns	ns	*	*	*
T1	11.80 bc	16.48 abc	20.36 a	23.15 a	23.38 a	23.29 a	0.09 b	0.47 ab
T2	10.90 c	15.19 c	18.61 a	20.66 a	21.63 a	21.94 ab	0.10 a	0.49 ab
T3	14.50 a	18.57 a	20.80 a	21.42 a	21.92 a	23.25 a	0.12 a	0.25 b
T4	11.84 bc	16.12 bc	18.67 a	20.06 a	19.98 a	19.18 b	0.11 a	0.78 a
T5	13.79 ab	17.92 ab	20.96 a	22.54 a	23.33 a	22.67 ab	0.11 a	0.46 ab
T6	12.85 abc	16.90 abc	18.94 a	20.61 a	21.40 a	21.47 b	0.12 a	0.68 ab

a: Producción de gas; b: Tasa de producción; c: Tiempo colonización. *:Diferencia significativa. **:Diferencia altamente significativa; ns: Diferencia no significativa (P<0.05). Promedios en una misma columna con letras iguales no tienen diferencias significativas.

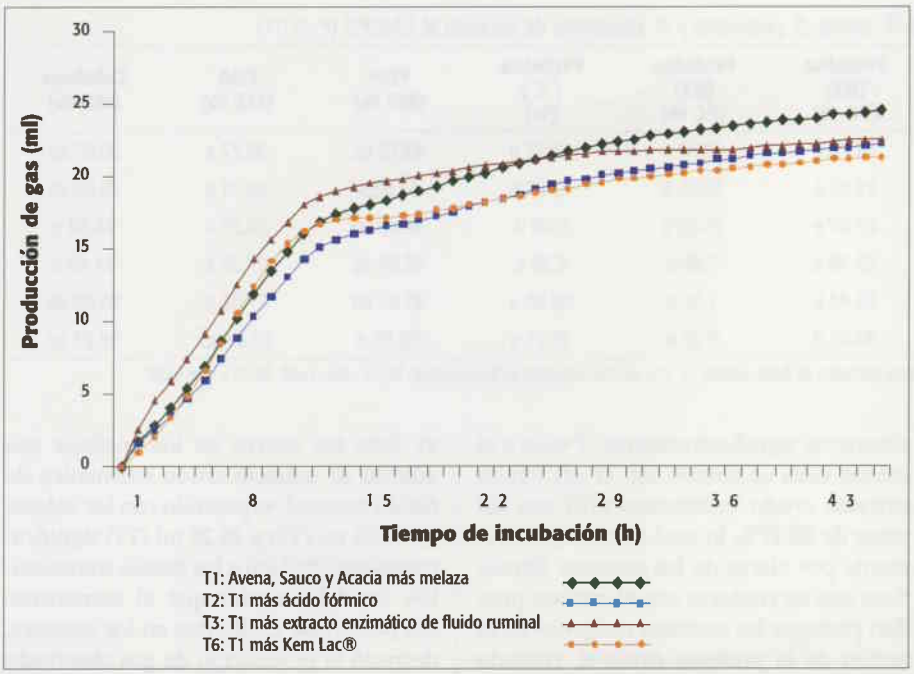

Figura 2. Valores de producción de gas acumulada de ensilajes de 45 días de fermentación.

(2001) en ensilajes de maíz con adición de fluido ruminal.

Al relacionar esta respuesta (producción de gas y producción acumulada de gas) con la composición química de las fracciones de proteínas y carbohidratos (Tabla 2) se puede observar que los tratamientos T1 y T3 presentan los mayores resultados en las fracciones B1 + A y B3 y a su vez menor fracción C, lo cual puede influenciar positivamente sobre la mayor producción de gas. En general, la adición de ácido fórmico al extracto crudo enzimático (T4) disminuyó la producción de gas en 4.07 ml y aumentó el tiempo de colonización en 0.53 h de forma significativa con respecto al extracto crudo enzimático solo (T3); no obstante, con respecto a la tasa de producción de gas al adicionar el ácido fórmico se incrementó la tasa de degradación en 0.02% h.

Al analizar la producción de gas de la Tabla 3 se observa que el tratamiento T3 presentó los mayores resultados a 8 h de incubación y no hubo diferencias significativas para los tiempos 36 h y 46 h, donde el tratamiento (T1) presentó los mayores valores matemáticos de 23.15 a las 36 h y 23.38 a las 46 h de incubación ,respectivamente (Figura 2).

CONCLUSIONES

En los ensilajes de *A. sativa, S. peruviana* y *A. decurrens* la inclusión de ácido fórmico, enzimas comerciales (Kem Lac®) y extracto liofilizado de fluido ruminal logró una buena conservación del forraje, que se refleja en indicadores de fermentación como pH inferiores a 4.0, producción de ácido láctico de 0.34%, ácido acético de 1.55%, ácido propiónico de 0.03% y ausencia de ácido butírico.

La adición de ácido fórmico al ensilaje de *A. sativa, A. decurrens* y *S. peruviana* aseguró una buena fermentación, pero disminuyó la PC, la DIVMS, el porcentaje de proteína soluble (A+B1) y la proteína pasante (B3) y aumentó el FDN y la fracción de proteína no degradable (C).

Con respecto a la cinética de fermentación la adición del ácido fórmico disminuyó la producción de gas y la tasa de degradación, además de aumentar el tiempo de colonización.

La inclusión de extracto crudo enzimático ruminal, además de lograr una buena fermentación, favorece la cinética de fermentación del ensilaje de *A. sativa, A. decurrens* y *S. peruviana* mejorando la producción de gas, la tasa de producción y disminuyendo el tiempo de colonización de las bacterias, lo que favorece la digestibilidad del ensilaje.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1995. International Suite 400. 2200 Wilson Boulevard. Arlington Virginia, USA. 16th edition. pp. 2.201 -3.301.

Carneiro, A., Rodríguez, N., Sánchez, R. y Vileta, H. 1984. Consumo e digestibilidade aparente de silagens mistas de camping-elefante. Brass. Med. Vet. Zoot. 36(5): 597-608.

Esperance, M. 1981. Marco fermentativo, valor nutritivo y producción de leche con hierba pangola ensilado con ácido fórmico o miel. Pastos y Forrajes. 4:237.

Fontes, C., Hirts, G., Halewood, H., Gilbert, J. 1995. The resistence of cellulses and zylanases to proteolytic inactivation of lactating cows. Appl. J. Microbiologiol Biotechnol 43: 52-57.

Fox. D., Tylutki, T., Van Amburgh, M., Chase, L., Pell, A., Overton, T., Tedeschi, L., Rasmussen, C y Durbla, V. 2000. The bet carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. Model documentation. Mimeo Nº 213. Animal Science Dept. Cornell University. Ithaca, NY.

Goering, H y Van Soest, P. 1970. Forraje fiber analysis (apparatus, reagents procedures and some applications). USA. Nº 379. 143 p.

Harris, L. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Publisher by Harris, New York. pp. 125.

Lanna, D., Fox, D., Balsalobre, M., Corsi, M., Traxler, M. 2003. Utilizaçao da metodología de analises de alimentos do CNCPS e do sistema de producto de gas *in vitro* na estimativa do valor do capim elefante. Reunao Anuall da Socieda de Brasilera de Zootecnia. 42-2003. Juiz de Fora. Anais Lanna. p 6.

Licitra, L., Hernández, T. y Van Soest, P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminal feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57:347-358.

Lissette, L., Esperance, M., Ojeda, F., Caceres, O., Santana, H. 1992. Fermentación de ensilajes tropicales con la utilización de bacterias ácido lácticas aisladas en Cuba. Pastos y Forrajes. 15:63.

Mertens, L y Loften, R. 1980. The effect of star on of forage fiber digestion kinetics In Vitro. J. Dairy Sci. 63:1437-1446.

Nadeau, E., Russell, J., Buxton, D. 2000. Intake digestibility and composition of orchardgrass and alfalfa silage with cellulasa, inoculant and formic acid and fed to lambs. J. Anim. Sci. 78:2980-2989.

Nagel, S y Glen, W. 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutrition utilization by dairy cows. J. Dairy Sci. 75:140-154.

Ojeda, F. 2000. La conservación como ensilaje en zonas tropicales. Estación experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Cuba. Pastos y Forrajes. pp. 97.

Pell., A y Schofield, F. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. J. Dairy Sci. 76: 1.063-1.073.

Peters, J., Leedke, J. y Paulissen. 1989. Factors affecting *in vitro* production of VFA

by mixed bacterial populations from the bovine rumen. J. Anim. Sci. 67:1593-1602.

Preston, T. y Leng, R. 1990. Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los resultados disponibles. Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Condrit. Colombia. pp. 312.

Solorio, F., Sandoval, C., Cardenas y J. 2003. Calidad y valor nutritivo de ensilajes mixtos (gramíneas y especies arbóreas) en agroecosistemas tropicales y subtropicales. Fecha de consulta: 15 agosto 2003. Disponible en Internet: http://www.uady.mx/sitios/veterina/servicios/journal/2003-2/tcardenas.pdf.

Siebald, E., Dumont, J., Navarro, H. y Santana, R. 2003. Use of acid with ammonium fomate in permanent pasture silage in the south of chile. Chile. Fecha de consulta: 16 julio 2003. Disponible en internet: http://www.inia.d/at/english/v63n3/aet4.pdf.

Tjandraatmadja, M., Norton, B. y MacRae, I. 1994. Ensilaje characteristic of three tropical grasses as influenced by stage of growth and addition of molasses. J. Microbiol Biotechn. 10: 74-81.

Tilley, J y Terry, R. 1963. A two-stage technique for In Vitro digestion of forage crops. J. Brit. Grass Socie. 18: 104-111.

Van Soest, P. y Robertson, B. 1985. Analysis of forages and fibrous food. A laboratory manual for animal science 613. Cornell University. USA. 4853.

Wallace, C., Stokes, R. y Chen, J. 2001. Effects of enzyme-inoculant system of preservation and nutritive value of hay crop and corn silage. J. Dairy Sci. 77:501-512.

Yahaya, M., Kimura, M., Harai, M., Takahash, J., Matsouka, S. 2000. The break down of structural carbohydrates of luceine of orchardgrass during different lengths of ensiling and its effects on the nutritive value of the silage. J. Anim. Sci. 13 (Suppl B) :153.