

Valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilaje de *Pennisetum purpureum* con inclusiones de *Tithonia diversifolia*

Vilma A. Holguín^{1,2*}, Mario Cuchillo^{3,4}, Johanna Mazabel³, Steven Quintero³, Jairo Mora-Delgado².

¹Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia. ²Universidad del Tolima, Grupo de Investigación Sistemas Agroforestales Pecuarios, Ibagué, Colombia ³Centro internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. ⁴Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", D.F, México. *Correo electrónico: vholguin@ut.edu.co

RESUMEN

Los ensilajes son estables bajo condiciones aeróbicas si después de la apertura mantienen sus características nutricionales inalteradas, sin evidencias de microorganismos como mohos y levaduras. El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de varios niveles de inclusión de *Tithonia diversifolia* (TD) sobre la resistencia a la exposición aeróbica y calidad nutricional de un ensilaje de *Pennisetum purpureum* (PP). Se elaboraron microsilos de ensilaje de TD/PP de un kilogramo de peso y fueron abiertos a los 90 días de almacenamiento cuando se les realizó un análisis bromatológico. Luego, fueron expuestos a condiciones aeróbicas durante siete días, al finalizar la fermentación se midió el pH de los microsilos y se evaluaron sus propiedades organolépticas. El ensilaje no presentó modificaciones significativas en su calidad y la presencia de hongos o levaduras no fue significativa ($P > 0,05$). Los resultados muestran que el cambio del valor pH es mayor cuando la proporción de la gramínea es mayor en el tratamiento (T3 y T4 versus T1 y T2) ($2,45 \pm 0,88$ y $2,81 \pm 0,67$ vs. $0,41 \pm 0,95$ y $0,91 \pm 1,43$, respectivamente). El papel de *Tithonia diversifolia* es notable cuando el ensilado es expuesto a condiciones aeróbica por la capacidad amortiguadora que proporciona, por lo tanto, confiere mayor estabilidad aeróbica.

Palabras clave: Capacidad buffer, Acidez, Variación térmica, Deterioro aeróbico

Nutritional value and aerobic stability of *Pennisetum purpureum* silage with inclusions of *Tithonia diversifolia*

ABSTRACT

The silages are stable under aerobic conditions if after opening they maintain their nutritional characteristics unaltered, without evidence of microorganisms such as molds and yeasts. The objective of this experiment was to evaluate the effect of several levels of inclusion of *Tithonia diversifolia* (TD) on the resistance to aerobic exposure and nutritional quality of a silage of *Pennisetum purpureum* (PP). one kilogram of weight and were opened after 90 days of storage when they were made a bromatological analysis. Then, they were exposed to aerobic conditions for seven days, at the end of the fermentation the pH of the microsilos was measured and their organoleptic properties were evaluated. The silage did not present significant changes in its quality and the presence of fungi or yeasts was not significant ($P > 0.05$). The results show that the change in pH value is higher when the proportion of the grass is higher in the treatment (T3 and T4 versus T1 and T2) (2.45 ± 0.88 and 2.81 ± 0.67 vs. 0.41 ± 0.95 and 0.91 ± 1.43 , respectively). The role of *Tithonia diversifolia* is notable when silage is exposed to aerobic conditions because of the buffering capacity it provides, thus conferring greater aerobic stability.

Keywords: Buffer capacity, Acidity, Thermal variation, Aerobic spoilage

INTRODUCCIÓN

Los ensilajes se consideran aeróbicamente inestables si después de abrirlos, son afectados por microorganismos causantes de deterioro. De hecho, el deterioro aeróbico es el resultado de un incremento en la actividad microbiana, sobresaliendo la actividad de mohos y levaduras (Wilhelm y Wurm 1999) que pueden causar pérdidas de materia seca si encuentran condiciones de crecimiento favorables.

Una vez que un silo es abierto, el aire penetra y promueve el crecimiento de microorganismos aeróbicos ácidos tolerantes y comienza la oxidación de los productos de fermentación presente en el sustrato, causando deterioro aeróbico y puede dar lugar a sustancias potencialmente tóxicas o microorganismos indeseables (Danner *et al.* 2003). Si estos microorganismos encuentran condiciones de crecimiento favorables, podrían causar pérdidas de materia seca y nutrientes.

El deterioro aeróbico de ensilajes sigue siendo un gran problema para la conservación de la calidad del material ensilado, especialmente por la presencia de microorganismos como levaduras y mohos lactato asimilador es que causan fermentación alcohólica (Pahlow 1991). La estabilidad de los ensilajes contra el deterioro aeróbico puede variar significativamente, sin embargo, existen variados mecanismos para prolongar la resistencia al deterioro aeróbico. Las bacterias ácido lácticas heterofermentativas muestran un efecto positivo en la estabilidad aeróbica, ya que producen ácido acético y propanodiol en el medio de fermentación (Ruser y Kleinmans 2005).

Otra estrategia que puede emplearse para disminuir el deterioro aeróbico es el uso de mezclas de especies de gramíneas con otras plantas forrajeras que tengan la capacidad de producir altas concentraciones de ácido láctico en la fermentación aeróbica y con un efecto de tampón que mantenga el nivel del pH bajo, una vez que el silo es abierto (Mendieta–Araica *et al.* 2009).

En los trópicos, la inestabilidad aeróbica puede causar problemas con la alimentación de los animales, por lo tanto, el ensilaje debe hacerse

en cantidades acordes para ser abierto y alimentado a cabo en un corto período de tiempo de acuerdo con el tamaño de la granja (FAO 2000).

En el presente estudio, se pone especial atención a las pérdidas derivadas por la exposición aeróbica de los ensilajes, partiendo de la hipótesis de que la introducción de *T. diversifolia* como un componente del sustrato fermentado, mejora la estabilidad aeróbica del ensilaje. Así, el objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la inclusión en diversas proporciones de *T. diversifolia* sobre las características organolépticas de un ensilaje de *P. purpureum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se establecieron cuatro tratamientos denotados por los niveles de inclusión de *T. diversifolia* (TD) y *P. purpureum* (PP) cortados a los 60 días, las proporciones de incorporación de TD/PP como materia fresca en los tratamientos fue (T1: 100/0; T2: 67/33; T3: 33/67; T4: 0/100).

La prueba de estabilidad aeróbica se realizó siguiendo los protocolos descritos por Honig (1990). Los tratamientos se ensilaron en bolsas de polietileno de un kilogramo de capacidad, se sellaron al vacío por triplicado, se liofilizaron y se almacenaron a una temperatura aproximada de 25°C durante 90 días.

Una vez abiertos los microsilos, el contenido de cada microsilo fue transferido a una bolsa de plástico, se mezcló a fondo y a continuación se tomaron muestras para el análisis bromatológico. El ensayo de estabilidad aeróbica se realizó siete días después de la apertura y se usó un sistema de criterios de calidad elaborado con base en lo propuesto por Cárdenas *et al.* (2004), Betancourt (2001) y Villalba *et al.* (2011), el cual se presentan en el Cuadro 1. Para estos criterios se establece una calificación en una escala entre “0” (estado ideal) y “4” (estado deteriorado). Antes y después de la prueba se registró el valor del pH usando un potenciómetro (Mettler Toledo, SevenGo).

Los análisis bromatológicos de calidad nutricional se efectuaron siguiendo las normas AOAC 930.15 y NFTA 2.1.4 (AOAC, 1997) para determinación de Materia Seca (MS); AOAC 973.18 y NFTA 4.1,

para determinación de Fibra Detergente Ácida (FDA) (AOAC, 2010). La determinación de Fibra Detergente Neutra (FDN) se realizó de acuerdo a NFTA (2006), Van Soest *et al.* (1991); se usó la metodología de Tilley y Terry (1963) modificada por Moore (1970) para la determinación de digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) y para la determinación de proteína cruda (PC) por Kjeldahl se aplicó la norma AOAC 984.13 (AOAC, 2001).

Análisis Estadístico

Para el ensayo se usó un diseño experimental irrestrictamente al azar bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon$$

donde Y = es la variable objetivo; MS, PC, FDN, FDA, nitrógeno amoniacal (NH₃-N) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), μ es la media general; T corresponde al tratamiento evaluado y ε es el error experimental aleatorio.

La diferencia entre los tratamientos se estableció mediante un análisis de varianza (ANAVAR), previa comprobación de los supuestos de

normalidad de los residuos y de homocedasticidad. Para la comparación de las medias de los tratamientos se usó la prueba de Tukey (P=0,05).

Se evaluó el comportamiento de las variables en el tiempo (apertura y día 7 de exposición aeróbica) mediante la prueba T² de Hotelling para medias multivariadas. Para el análisis de las características organolépticas se realizaron tablas de contingencia con las frecuencias y porcentajes en los diferentes tratamientos, según los criterios mostrados en el Cuadro 1. Estas calificaciones fueron emitidas por 12 expertos. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis bromatológico

Los resultados de los análisis químicos de los sustratos mostrados en el Cuadro 2 indican que hubo diferencias significativas entre tratamientos (P<0,05), en algunos de los diferentes parámetros evaluados. Se obtuvieron niveles más bajos de MS a medida que aumentó el nivel de

Cuadro 1. Clave para indicadores organolépticos según grado de alteración de la calidad de ensilajes

	Nulo (0)	Débil (1)	Claro (2)	Intenso (4)
Olor Putrefacto	No perceptible	Olor débil, sin o con frotamiento	Claramente perceptible desde 1 m.	Intensamente perceptible a distancia (olor fecal)
Olor Vinagre	No perceptible	Olor débil, sin o con frotamiento	Claramente perceptible desde 1 m.	Intensamente perceptible a distancia (penetrante)
Olor Quemado	No perceptible	Olor débil, agradable	Claramente perceptible (olor a humo).	Intensamente perceptible (olor a quemado desagradable)
Olor Alcohólico	No perceptible	Olor débil, agradable	Claramente perceptible	Intensamente perceptible (alcohol)
Color Oscurecimiento	Verde aceituna (normal)	Ligeramente oscurecido	Verde oscuro	Intensamente oscurecido o negro total
Color Decoloración	Color normal	Ligeramente amarilloso	Decolorado	Intensamente decolorado
Textura	Parte de plantas no afectadas, contornos definidos	Partes de las plantas ligeramente afectadas en los bordes cortados	Hojas claramente afectadas, con bordes poco definidos	No se diferencia entre hojas y tallos, forman masa amorfa jabonosa al tacto, podridas

Fuente: Elaboración propia con base en: Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) 2004, Cárdenas *et al.* 2004, Betancourt 2001, Villalba *et al.* 2011

inclusión de PP, siendo más bajos los valores en los ensilajes que contienen PP al 100%.

Los valores de PC fueron más altos en los ensilajes que contienen TD al 100%; en este nivel de inclusión. Se observó un patrón similar de valores de PC en el T2 (nivel de inclusión de TD/PP: 67/33). El análisis bromatológico sugiere una menor proteólisis en el proceso en los tratamientos T1 y T2. Los ensilajes del T3 (67% de PP) y T4 (100% de PP) presentaron los niveles más bajos de PC, con diferencias significativas respecto a los otros niveles de inclusión.

El contenido de PC es más alto en los tratamientos con mayor inclusión de TD con valores de proteína cercanos a los obtenidos por Roa *et al.* (2010), que alcanzó el 8% y 6%, a los 30 y 90 días respectivamente. No obstante, estos ensilajes son los que presentaron el más alto nivel de amonio (principalmente en T1), lo cual está probablemente relacionado a una mayor proteólisis en los ensilajes con una mayor proporción de sustrato proteico; en general, los valores se incrementan el primer día, pero luego decrecen gradualmente, como lo ha reportado Martínez *et al.* (2010).

Los valores de nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) sugieren una tendencia de mayor presencia de este metabolito a medida que el componente de mayor calidad proteica es mayor con diferencias estadísticas significativas por efecto del tratamiento ($P < 0,01$). Lo cual se explica por un mayor proceso de proteólisis en los ensilajes con mayor proporción de TD.

Los niveles de FDA se incrementan en la medida que aumenta la proporción de PP con diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P < 0,01$). Consistentes con los valores de FDA, la DIVMS presenta valores más altos para los tratamientos con mayor proporción de TD y menores valores en la medida que aumenta la proporción de PP, no obstante, las diferencias significativas ($P < 0,01$) solo se presentaron para T4 respecto a T3 y T2. El mejor valor de DIVMS lo presenta T3, pero los literales indican que no hay diferencias entre T3 y T2, así como no se detectan diferencias entre T1 y T4, o entre T1 y T2.

El mayor contenido de las fibras se explica por la naturaleza de las materias primas involucradas en la mezcla; a medida que se incrementa el nivel de inclusión de PP la proporción de FDN y FDA se incrementa, dada la composición química de las plantas C4 de poseer una pared celular mucho más gruesa y menor contenido celular del mesófilo que las plantas tipo C3 (Fernández, 2015) grupo al cual pertenece *T. diversifolia*.

Según Tomich *et al.* (2004) los contenidos de FDN y FDA se correlacionan negativamente con DIVMS, así, altos contenidos de pared celular y una baja digestibilidad pueden restringir el uso de los ensilajes como raciones para bovinos y ovinos.

Calidad organoléptica del ensilaje de 90 días

Al momento de la apertura del ensilaje, los tratamientos presentan diferencias significativas en los indicadores de calidad ($P < 0,05$) como se indica en el Cuadro 2. El Cuadro 3 muestra las distribuciones para las diferentes características organolépticas como olor, color y textura; en cada uno de los tratamientos. Los valores de las escalas en cada uno de los parámetros analizados están dentro de los niveles de buena calidad del ensilaje.

Solo los valores de humedad estuvieron en niveles bajos, en ensilajes de los tratamientos 4 y 3; intermedios en 2 y altos en el 1. De esto se deduce una diferencia entre la percepción de los 12 evaluadores y la humedad medida en el horno, ya que los datos medidos sugieren un mayor

Cuadro 2. Valor nutritivo de ensilaje de mezclas de *T. Diversifolia/P. purpureum*

	T1	T2	T3	T4
MS (%)	27,6 ^d	24,6 ^{bc}	23,8 ^b	19,8 ^a
PC (%)	18,1 ^d	15,1 ^c	8,4 ^b	5,1 ^a
FDN (%)	38,6 ^a	43,3 ^b	48,8 ^c	57,9 ^d
FDA (%)	28,1 ^a	29,9 ^a	34,4 ^b	39,1 ^c
NH₃-N (%)	0,4 ^d	0,2 ^c	0,2 ^b	0,1 ^a
DIVMS (%)	63,86 ^{dca}	66,66 ^{cb}	67,35 ^b	63,77 ^a

Medias con una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($P > 0,05$); T1: 100/0; T2: 67/33; T3: 33/67; y T4: 0/100 de la mezcla TD/PP

contenido de agua en los tratamientos con mayor proporción de gramínea y va disminuyendo a medida que se incrementa la proporción de (TD) en este orden: T4, T3, T2 y T1. Debe tenerse en cuenta que, si bien los micro-ensilajes mostraron valores de humedad altos, aunque no se presentaron lixiviados significativos y la calidad del ensilaje no fue afectada.

En cuanto a la calidad organoléptica, la evaluación sugiere que la mayor parte del puntaje asignado por los evaluadores estuvo en las categorías de

Cuadro 3. Calificación de las características organolépticas de los tratamientos

		Efecto		T1	T2	T3	T4
Olor (vinagre)	Nulo (0)	Abs.	12	12	12	12	
		Rel.	100	100	100	100	
	Débil (1)	Abs.	0	0	0	0	
		Rel.	0	0	0	0	
Olor (putrefacto)	Nulo (0)	Abs.	12	12	12	12	
		Rel.	100	100	100	100	
	Débil (1)	Abs.	0	0	0	0	
		Rel.	0	0	0	0	
Olor (quemado)	Nulo (0)	Abs.	12	12	12	12	
		Rel.	100	100	100	100	
	Débil (1)	Abs.	0	0	0	0	
		Rel.	0	0	0	0	
Olor (alcohol)	Nulo (0)	Abs.	10	12	12	12	
		Rel.	83	100	100	100	
	Débil (1)	Abs.	2	0	0	0	
		Rel.	17	0	0	0	
Color (oscurecimiento)	Nulo (0)	Abs.	10	11	12	12	
		Rel.	83	92	100	100	
	Débil (1)	Abs.	2	1	0	0	
		Rel.	17	8	0	0	
Color (decoloración)	Nulo (0)	Abs.	11	11	12	2	
		Rel.	92	92	100	17	
	Débil (1)	Abs.	1	1	0	10	
		Rel.	8	8	0	83	
Estructura	Nulo (0)	Abs.	10	11	11	12	
		Rel.	83	92	92	100	
	Débil (1)	Abs.	2	1	1	0	
		Rel.	17	8	8	0	
Humedad	Nulo (0)	Abs.	1	1	5	8	
		Rel.	8	8	42	67	
	Débil (1)	Abs.	1	3	6	3	
		Rel.	8	25	50	25	
	Claro (2)	Abs.	8	8	0	0	
		Rel.	67	67	0	0	
Intenso (4)	Abs.	2	0	1	1		
	Rel.	17	0	8	8		

Abs.: frecuencia absoluta; Rel.: frecuencia relativa; T1: 100/0; T2: 67/33; T3: 33/67; y T4: 0/100 de la mezcla TD/PP

un efecto nulo o débil, lo cual indica que los ensilajes no presentaron alteraciones indeseables y estas calificaciones equivalen a categorías de excelente o bueno en otros sistemas de valoración Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG, 2004); Cárdenas *et al* (2004); Betancourt (2001); Villalba *et al.* (2011).

Calidad organoléptica después de la prueba de estabilidad aeróbica.

Todas las muestras de ensilaje se mantuvieron aeróbicamente estable durante el tiempo de prueba. En el 100% de las muestras fueron hallados visualmente levaduras y mohos después de abrir el microsililo.

En el Cuadro 4 se aprecia que después de los siete días de apertura, los valores de la calificación sobre los parámetros evaluados sugieren que el ensilaje no presentó modificaciones significativas en su calidad, en la medida que la presencia de hongos y levaduras que podrían alterar el proceso fermentativo no fue significativa en términos de la escala utilizada. La estabilidad aeróbica se expresa mediante los indicadores biofísicos y visuales. En tres muestras se encontró levaduras y enmohecimiento después de abrir los microsililos, sin embargo, todas las muestras se mantuvieron estables durante el tiempo de prueba de siete días.

Posiblemente los niveles de ácidos grasos volátiles, que se forman en el proceso de fermentación aeróbica contribuyeron a inhibir la proliferación de levaduras y mohos (Koc *et al.* 2009)

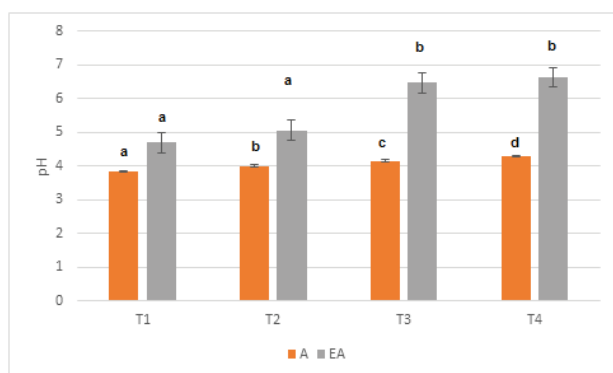
Cuadro 4. Prueba de Hotelling con nivel corregido por Bonferroni para valores de calificación de prueba organoléptica de microensilajes (alfa = 0,05)

	Mohos	Levaduras
T1	0,08 ^a ± 0,29	0,50 ^a ± 0,19
T2	0,00 ^a ± 0,00	0,21 ^a ± 0,72
T3	0,71 ^a ± 0,72	1,33 ^a ± 1,50
T4	0,38 ^a ± 0,61	0,67 ^a ± 1,03

Medias con letra común no son significativamente diferentes (P>0,05); T1: 100/0; T2: 67/33; T3: 33/67; y T4: 0/100

Cambio en pH después de la prueba de estabilidad aeróbica

Los resultados de pH determinado después de la prueba de la estabilidad aeróbica se pueden leer en la Figura 1. Al momento de abrir los microsilos se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P < 0,001$). El análisis de varianza realizado para la variable pH sugiere que hubo diferencias significativas en la apertura del silo como en los valores de pH a los siete días después de exponerse a la fermentación aeróbica.



A: apertura del silo; EA: exposición aeróbica

Figura 1. Variación del pH en el periodo de exposición aeróbica de ensilajes de *Pennisetum purpureum* en mezcla con *Tithonia diversifolia*

La elevación de la temperatura del ensilaje y el pH generalmente están asociadas a la actividad de las levaduras que son generalmente los iniciadores del deterioro aeróbico tras el incremento en el consumo de azúcares y ácidos de fermentación (Pahlow *et al.* 2003). Con el incremento del pH, los bacilos bacterias y otros microbios aeróbicos crecen, aumentando la temperatura.

Los datos confirman que la acidificación es mayor cuando la proporción de la gramínea se incrementa en el tratamiento. Así, el pH obtenido después de siete días de la prueba de estabilidad aeróbica en comparación al momento de la apertura del silo, en los cuatro tratamientos mostraron diferencias, indicando una variación estadísticamente significativa ($P < 0,05$).

Respecto al pH, las gramíneas tienen una baja capacidad buffer dando como resultado una acidificación mayor durante la etapa de exposición aeróbica. Tal como lo menciona Heinritz *et al.* (2012), las gramíneas tropicales tienen concentraciones de carbohidratos no estructurales en un intervalo desde 31 a 77 g/kg MS, por lo tanto, la acidificación es más fácil cuando la mezcla tiene una alta proporción de gramíneas.

Así, la mayor proporción de gramínea en la mezcla probablemente redujo la capacidad amortiguadora de *T. diversifolia*, lo cual explica los valores de pH más bajos en las mezclas con un mayor porcentaje de inclusión de *P. purpureum* (T3 y T4) y al contrario los ensilajes con mayor proporción de TD presentaron los mayores valores de pH (T1 y T2). No obstante, el papel de TD es notorio una vez que los silos son expuestos a la fermentación aeróbica, en la medida que su mayor capacidad buffer tiene un efecto estabilizador al cambio de pH una vez que el silo es abierto; de hecho, la mayor estabilidad al efecto de la fermentación aeróbica, se da en los ensilajes con mayor proporción de TD (T1 y T2)

CONCLUSIONES

Los ensilajes fueron aeróbicamente estables cuando fueron expuestos al aire, aunque se observó presencia de microorganismos causantes de deterioro como mohos y levaduras, no obstante, su presencia es normal y no tuvo una incidencia significativa.

Se destaca el papel positivo de TD en la estabilidad aeróbica del ensilaje, en virtud de su mayor capacidad buffer tiene un mayor efecto en amortiguar el cambio de pH una vez que el silo es abierto. Así, la mayor estabilidad aeróbica, se da en los ensilajes con mayor proporción de TD (T1 y T2) respecto a los que tienen mayor proporción de PP (T3 y T4).

LITERATURA CITADA

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1997. Official Method 930.15: Loss on Drying (Moisture) for Feeds (at 135°C for 2 Hours) / Dry Matter on Oven Drying for

- Feeds (at 135°C for 2 Hours). 16 ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2010. Official Method 973.18: Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed. 18 ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2001. Official Method 2001.11: Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds. 17 ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA.
- Betancourt, M. 2001. Efecto de la melaza, ácido fórmico y tiempo de fermentación sobre la ensilabilidad de la *Leucaena leucocephala*. Tesis Ing. Agr. Maracaibo, Venezuela, Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia.
- Cárdenas, J; Solorio, F; Sandoval, C. (2004). Ensilaje de forrajes: alternativa para la alimentación de rumiantes en el trópico. Yucatán, México. Ediciones de la Universidad autónoma de Yucatán. Series manuales UADY v. 5.
- Danner, H; Holzer, M; Mayhuber, E; Braun, R. 2003. Acetic Acid increases stability of silage under aerobic conditions. Applied and Environmental Microbiology 69(1):562-567.
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, MG; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, CW. InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DLG. (Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft). 2004. Grobfutterbewertung. Teil A-DLG-Schlüssel zur Bewertung von Grünfütter, Silage und Heu mit Hilfe der Sinnenprüfung. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft.V., - DLG – Ausschuss für Futtermittelkonservierung - Frankfurt a.M, Deutschland. 16 p.
- Fernández, AE. 2015. Evaluación de parámetros Energéticos-Proteicos y Productivos del *Panicum máximum* y *P. coloratum*, en diferentes estados de madurez y por efectos de defoliaciones periódicas. Su impacto sobre los sistemas de producción de carne bovina. Estrategias de mejora. Tesis PosDoct. La Habana, Cuba, Universidad Agraria de la Habana. Disponible en <http://bit.ly/2RS0HRG>
- Heinritz, SN; Martens, SD; Avila, P; Hoedtke, S. 2012. The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. Animal Feed Science and Technology 174(3-4):201-210.
- Honig, H. 1990. Evaluation of aerobic stability. (Proceedings) EUROBAC Conference, (Uppsala, Sweden) Grovfoder Grass and Forage Reports 3. p.76-82.
- Koc, F; Levent Ozduven, M; Coskuntuna, L; Polat, C. 2009. The effects of inoculant lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of sunflower silage. Poljoprivreda 15(2):47-52.
- Martínez, M; Ranilla, MJ; Tejido, ML; Ramos, S; Carro, MD. 2010. Comparison of fermentation of diets of variable composition and microbial populations in the rumen of sheep and Rusitec fermenters. I. Digestibility, fermentation parameters, and microbial growth. Journal of Dairy Science 93(8):3684-3698.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2000. Silage making in the tropics with particular emphasis on smallholders. (Proceedings) FAO Electronic Conference on Tropical Silage, (1999, Roma, Italia). Roma
- Mendieta-Araica, B; Spörndly, E; Reyes-Sánchez, N; Norell, L; Spörndly, R. 2009. Silage quality when Moringa oleifera is ensiled in mixtures with Elephant grass, sugar cane and molasses. Grass and Forage Science 64(4):364-373
- Moore, JE. 1970. Procedures for the two-stage in vitro digestion of forages. In Harris, LE. (ed.). Nutrition Research Techniques for Domestic and Wild Animals. Vol. 1. Utah State University, Logan, USA. p. 5001-5003
- Pahlow, G. 1991. Role of microflora in forage conservation. In Pahlow, G; Honig, H. (eds.). Proceedings Conference,

- Forage conservation towards 2000, Landbauforschung Volkenrode, Sonderheft, No.123. p. 26-36
- Pahlow, G; Muck, RE; Driehuis, F; Oude Elferink, SJWH; Spoelstra, SF. 2003. Microbiology of ensiling. *In* Buxton, DR; Muck, RE; Harrison, JH. (eds.). Silage Science and Technology. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. p. 31-93 (Agronomy Series No. 42).
- Ruser, B; Kleinmans, J. 2005. The effect of acetic acid on aerobic stability of silages and on intake. *In* Park, RS; Stronge, MD (eds.). Silage production and utilisation: proceedings of the XIVth International silage conference, a satellite workshop of the XXth International Grassland congress. Belfast, Northern Ireland. 231 p.
- NFTA (National Forage Testing Association). 2006. NFTA Method 2.1.4 - Dry Matter by Oven Drying for 3 hr at 105°C. Omaha, Nebraska, USA. National Forage Testing Association. 18 sep. 4p.
- Tilley, JMA; Terry, RA. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18(2):104-111
- Tomich, TR; Gonçalves, LC; Tomich, RGP; Rodrigues, JAS; Borges, I; Rodríguez, NM. 2004. Características Químicas e Digestibilidade *in vitro* de Silagens de Girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33(6 supl. 1):1672-1682.
- Van Soest, PJ; Robertson, JB; Lewis, BA. 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science* 74(10):3583-3597.
- Villalba, DK; Holguín, VA; Piñeros, R. 2011. Evaluación cualitativa de calidad de ensilajes. Una experiencia de investigación en el aula. *In* Mora-Delgado, J; Holguín, VA (eds.). Medios de vida y materiales orgánicos en fincas campesinas. Editorial Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima, Colombia. p. 139-148.
- Wilhelm, H; Wurm, K. 1999. Futterkonservierung und -qualität: Silagebereitung - Heuwerbung - Getreide- und Maistrocknung. Graz, Österreich, Verlag Leopold Stocker. 141 p.