

Efecto del suero de queso como aditivo de ensilajes de pastura sobre la conservación, los azúcares solubles y la producción de gas *in vitro*

Britos, A.¹; Repetto, J. L.^{1*}; Garcíarena, D.²; Cajarville, C.¹

¹Departamento de Nutrición, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay. ²Laboratorio de Rumiantes, EEA Balcarce, INTA, Ruta 226 km 73,5, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

*Actualmente: Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria.

Correo electrónico: alebritos@adinet.com.uy

Recibido: 15/2/07 Aceptado: 29/11/07

Resumen

El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la adición de suero de queso sobre la conservación, la concentración de azúcares solubles y la producción de gas *in vitro* de ensilajes de pastura. Se evaluaron ensilajes adicionados con melaza o tres niveles de suero (2, 5 y 10 %) provenientes de tres pasturas. La producción de gas *in vitro* fue ajustada a un modelo exponencial simple. Todos los ensilajes presentaron características de buena conservación, pero el uso de aditivos determinó menor pH ($P=0,035$). La adición de melaza se asoció con mayor cantidad de azúcares solubles remanentes ($P<0,001$). El agregado de 2 % de suero determinó menor "a" ($P<0,001$), mayor "b" ($P=0,010$) y "a+b" ($P=0,042$) que los restantes ensilajes con suero. La mayor tasa de producción de gas se obtuvo con las pasturas frescas, seguidas en orden descendente por los ensilajes con melaza, con 10 % de suero, con 5 %, con 2 % y finalmente los ensilados sin aditivos. Se concluye que la adición de suero permitió obtener ensilajes de pasturas bien conservados, con tasas de producción de gas mayores que los ensilajes sin aditivos. El agregado de 2 % de suero determinó una mayor producción potencial de gas del total de sustratos fermentables.

Palabras clave: fermentación, forraje, melaza, rumen

Summary

Effect of cheese whey as an additive of pasture silages on conservation, soluble sugars and *in vitro* gas production

The objective of this paper was to determine the effect of cheese whey addition on the conservation, water soluble carbohydrates concentration and *in vitro* gas production of pasture silages. Silages made from three different pastures added with sugar cane molasses and three levels of cheese whey were evaluated. *In vitro* gas production was fitted to an exponential model. All silages showed good quality characteristics, but the use of additives lead to lower pH ($P=0.035$). Molasses addition was associated with higher residual water-soluble carbohydrates amount ($P<0,001$). Two percent cheese whey addition determined lower "a" ($P<0.001$), higher "b" ($P=0.010$) and "a+b" ($P=0.042$) than the other silages with cheese whey. Highest gas production rate was obtained with fresh pastures, followed by silages with molasses, 10 % cheese whey, 5 %, 2 % and finally silages without additives. It was concluded that the use of cheese whey as an additive allowed well-conserved pasture silages to be obtained, with higher gas production rates than silages without additives. Two percent cheese whey addition determined a higher potential gas production from total fermentable substrates.

Key words: fermentation, forage, molasses, rumen

Introducción

La conservación de una pastura como ensilaje depende de la fermentación anaeróbica de los azúcares solubles (Az. Sol.) hasta ácido láctico, que disminuye el pH (Van Soest, 1994). Las leguminosas, de alto valor nutritivo, presentan bajas cantidades de Az. Sol. y una alta capacidad tampón, lo que impide una adecuada disminución del pH (Andrieu *et al.*, 1990). Si el ensilaje no sufre una correcta fermentación se producen pérdidas de nutrientes (Thomas y Thomas, 1985; Van Vuuren *et al.*, 1995). Las pérdidas durante el ensilaje y el almacenamiento, sobre todo de Az. Sol., disminuyen el valor nutritivo del ensilado y deprimen el consumo (Aldrich *et al.*, 1993; Thomas y Thomas, 1985; Demarquilly, 1973).

Repetto *et al.* (2005) observaron que las materias nitrogenadas de las pasturas son afectadas por el proceso de ensilaje, incrementándose tanto la fracción de rápida degradación como la indegradable. En ese sentido Henderson (1993) indica que la proteólisis es menor cuanto más rápido el descenso del pH en el silo.

Se ha estimado que la eficiencia de síntesis de proteína microbiana ruminal en rumiantes alimentados con ensilados es de 23 g de N microbiano/kg de materia orgánica aparentemente digestible en rumen (MODR), mientras que dicha eficiencia es mayor (32 g de N microbiano/kg de MODR) cuando la alimentación está constituida por pasturas frescas (ARC, 1984). Esta baja eficiencia, indicativa de que el ensilaje ha perdido nutrientes, se ha atribuido a la asincronía entre compuestos nitrogenados y energéticos, debido a la fermentación de Az. Sol. durante el proceso de ensilaje (Henderson, 1993; Van Soest, 1994).

Para favorecer el proceso fermentativo durante el ensilaje y minimizar las pérdidas de nutrientes el uso de aditivos es una práctica útil. Dentro de la categoría fuentes de carbohidratos se encuentra la melaza de caña, que es el usado más frecuentemente (Henderson, 1993) y puede considerarse como un aditivo de referencia. El suero de queso puede ser un buen aditivo, sobre todo si el contenido de carbohidratos solubles de las plantas es demasiado bajo. Este subproducto de la industria láctea tiene un elevado contenido de lactosa (63–70 % base MS) (Cajarville *et al.*, 2001a; Cajarville *et al.*, 2001b; FEDNA, 2003), carbohidrato que es un excelente sustrato para la proliferación de bacterias ácido-lácticas. Empero las cantidades a utilizar estarían limitadas por el alto contenido en agua (mayor a 90 % según Cajarville *et al.*, 2001b) del suero fresco. La utilización de este subproducto lácteo es una alternativa a otros aditivos

para queseros artesanales o productores cercanos a plantas de elaboración de queso.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la adición de suero de queso fresco en distintos niveles a ensilajes de pastura sobre algunos parámetros de conservación del ensilaje (pH y nitrógeno amoniacal), la concentración de Az. Sol. remanentes y la producción de gas *in vitro*.

Materiales y métodos

Pasturas y ensilajes

Se usaron 3 pasturas, mezcla de gramíneas (*Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea*) y leguminosas (*Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Lotus corniculatus*), de tres parcelas del Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Departamento de San José, Uruguay; 34° S, 55° O). La disponibilidad (estimada por cortes al ras del suelo con cuadros de 0,2 m x 0,5 m) y composición botánica de las pasturas y composición química de la pastura ya cortada se presenta en el Cuadro 1.

Las pasturas se cortaron con pastera a una altura de 5 cm y se picaron a máquina (mecánicamente) hasta un tamaño de 5 cm. Las pasturas fueron ensiladas en

Cuadro 1. Disponibilidad y composición botánica de las pasturas y composición química de las pasturas ya cortadas usadas para ensilar.

	Pastura		
	1	2	3
Disponibilidad (kg MS/ha)	5233	3224	7600
Leguminosas (% MS)	57,4	2,9	20,8
Gramíneas (% MS)	11,0	83,2	54,2
Restos secos (% MS)	27,6	13,9	14,4
Otros (% MS)	3,8	0,0	10,5
MS (%)	19,3	17,8	21,2
MO (% MS)	79,7	81,3	85,4
PB (% MS)	12,9	9,2	10,3
FND (% MS)	54,8	64,5	63,0
FAD (% MS)	45,1	44,1	45,5
Az. Sol. (% MS)	2,97	5,37	3,83

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; Az. Sol.: azúcares solubles.

microsilos bajo 5 diferentes tratamientos: sin aditivo, con 1,5 % p/p de melaza de caña en polvo (MELREX®, I.C.S.A., Montevideo, Uruguay) y con tres niveles (2, 5 y 10 % p/p) de suero fresco de queso (6,35 % MS, 11° Dornic). Se realizaron tres réplicas por pastura y tratamiento (total 45 muestras). Los microsilos se realizaron en recipientes herméticos de 20 litros, con un tubo para el drenaje de efluentes. En el momento que se llenaron los microsilos se mezcló la pastura picada con el aditivo y luego se compactó utilizando una prensa mecánica. Todas las pasturas y tratamientos de cada una de ellas se cortaron y ensilaron el mismo día y se almacenaron en el mismo lugar.

Determinaciones químicas

De cada pastura ya cortada se tomó una muestra en el momento antes del ensilaje y luego de transcurrido un período de 60 días se procedió a tomar muestras y medir pH (Bateman, 1970) de cada ensilado.

En todas las muestras se determinó materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) (AOAC, 1984); fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) (Goering y Van Soest, 1970) y la concentración de Az. Sol. en agua (Yemm y Willis, 1954). En los ensilajes se determinó la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) (Preston, 1986).

Producción de gas *in vitro*

Se determinó la producción de gas por fermentación en líquido ruminal fresco de la MS según el método propuesto por Theodorou *et al.* (1994), modificado por Mauricio *et al.* (1999). Se incubó en baño María a 39° C en frascos herméticos de 125 ml con 10 ml de líquido ruminal y 40 ml de solución buffer. Se realizaron dos repeticiones para cada muestra deshidratada pesándose 0,5 g de MS en cada frasco de incubación. Al gas generado por cada frasco se le restó el producido por los blancos que sólo contenían solución buffer y líquido ruminal. El líquido ruminal se extrajo de bovinos provistos de cánulas ruminales alimentados con heno de alfalfa. Previa a la extracción de líquido ruminal se sometió a los animales donantes a un ayuno de 24 horas.

El volumen de gas fue registrado a las 2, 4, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas de incubación. Para estimar la evolución de la producción de gas los datos obtenidos se ajustaron por el modelo exponencial simple de Ørskov y McDonald (1979):

$$y = a + b (1 - e^{-ct})$$

donde :

- “a” es el gas producido por sustratos rápidamente fermentables,
- “b” el gas producido por sustratos lentamente fermentables,
- “a+b” la producción potencial de gas del total de sustratos fermentables, expresados como ml de gas/g de MS incubada (ml/MSi);
- “c” la tasa de producción de gas, como %/h y “t” el tiempo de incubación en h.

Análisis estadístico

El contenido de azúcares solubles y los parámetros de fermentación se compararon entre las distintas pasturas y tratamientos mediante análisis de varianza, considerando los efectos pastura y tratamiento. Las medias de los tratamientos se compararon por contrastes ortogonales y se consideró significativas las diferencias entre tratamientos cuando $P < 0,05$. Se realizaron análisis de correlación lineal simple mediante PROC CORR de SAS^(R) entre los parámetros de composición química y los de fermentación de los ensilajes.

Resultados

En el Cuadro 2 se muestran la composición química y el pH de los ensilajes. El agregado de aditivos provocó una disminución significativa del pH (4,28 vs 4,18; $P = 0,035$). Los ensilajes con 1,5 % de melaza en polvo se diferenciaron de los que fueron tratados con suero en casi todas las variables: el % de MS mayor (20,76 vs 18,43 %; $P < 0,001$), los contenidos de FND y FAD menores (54,91 vs 58,85 %; $P < 0,001$ y 42,70 vs 44,93 %; $P = 0,041$ respectivamente), la proporción de Az. Sol. más alta (0,72 vs 0,53 %; $P < 0,001$) y el pH fue inferior (4,05 vs 4,22; $P = 0,002$) que con el agregado de suero. El tratamiento con adición de 2 % de suero presentó el mayor contenido de FND de los tratamientos con aditivos (60,05 vs 58,25 %; $P = 0,036$).

Los parámetros de fermentación *in vitro* de las pasturas y los ensilajes, se exponen en el Cuadro 3. Sólo se evidenció diferencia en los parámetros a (-4,72 vs -2,40 ml/g MSi; $P < 0,001$), b (136,54 vs 126,6 ml/g MSi; $P = 0,010$) y a+b (131,82 vs 124,21 ml/g MSi; $P = 0,042$) entre el agregado de 2% de suero y los restantes tratamientos con suero. La pastura fresca presentó mayor tasa de producción de gas que los ensilados (3,71 vs 2,40 %/h; $P < 0,001$), a su vez el uso de aditivos aumentó la tasa con respecto a los ensilajes sin aditivos (2,46 vs 2,18 %/h; $P = 0,009$). El tratamiento con melaza exhi-

Cuadro 2. Efecto de la adición de melaza o suero de queso sobre el pH y algunos componentes químicos de ensilajes de pasturas.

Tratamiento	MS (%)	MO (% MS)	PB (% MS)	FND (% MS)	FAD (% MS)	Az. Sol. (% MS)	N-NH ₃ (% MS)	pH
0	18,60	81,55	11,09	58,40	43,95	0,52	0,16	4,28
melaza	20,76	81,87	11,08	54,91	42,70	0,72	0,13	4,05
2	18,24	81,27	11,21	60,05	45,08	0,51	0,18	4,26
5	18,29	82,11	11,21	58,14	45,95	0,53	0,17	4,24
10	18,76	80,96	11,32	58,36	43,75	0,54	0,15	4,16
ESM ¹	0,274	0,639	0,103	0,767	1,033	0,009	0,015	0,051
Contraste (P) ²								
0 vs aditivos	ns	ns	ns	ns	ns	0,066	ns	0,035
melaza vs suero	<0,001	ns	ns	<0,001	0,041	<0,001	0,052	0,002
2% vs 5+10%	ns	ns	ns	0,036	ns	ns	ns	ns
5% vs 10%	ns	ns	ns	ns	0,096	ns	ns	ns

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; Az. Sol.: azúcares solubles; N-NH₃: nitrógeno amoniacal.

0: ensilaje sin aditivo; melaza: ensilaje con 1,5% p/p de melaza; 2, 5 y 10: ensilajes con 2, 5 y 10% p/p de suero de queso.

¹ error estándar de las medias; ² probabilidad del contraste ortogonal; ns: no significativa (P > 0,1).

bió mayor tasa que los ensilajes con suero (2,72 vs 2,37 %/h; P=0,001), el agregado de 2 % de suero produjo gas más lentamente que los otros dos niveles de adición de suero (2,20 vs 2,45 %/h; P=0,024) y a su vez la incorporación de 5 % de suero exhibió una tasa menor que el uso de 10% (2,30 vs 2,60 %/h; P=0,023).

La producción potencial de gas se correlacionó positivamente con la concentración de Az. Sol. (r=0,725; P=0,002), con la relación Az. Sol./N (r=0,817; P<0,001) y también con el contenido en FND (r=0,639; P=0,010). Por el contrario, la tasa de producción de gas (c) se relacionó negativamente con la proporción de FND (r=0,794; P<0,001).

Discusión

La mayor proporción de MS del ensilaje con melaza pudo deberse al uso de melaza deshidratada en polvo. Además el empleo de melaza produjo ensilajes con menor concentración de FND y FAD, en sentido contrario el tratamiento con 2 % de suero presentó ensilajes con proporción más alta de FND. El contenido de Az. Sol. remanentes en los ensilajes fue muy bajo, indicando una intensa utilización para el proceso referido.

Henderson (1993) obtuvo ensilajes de pastura sin aditivos con concentraciones de Az. Sol. entre 0 y 2,9 % base MS, en este trabajo se observaron niveles entre 0,72 y 0,51 % base MS. El uso de aditivos no aumentó la proporción de Az. Sol. remanentes del ensilaje, pero la adición de melaza en polvo al 1,5 % dejó mayor cantidad remanente (35 % más) de estos carbohidratos que los tres niveles de agregado de suero. En todos los ensilajes se obtuvieron valores de pH inferiores a 4,5 y de N-NH₃ inferiores a 1 % de la MS, indicadores de una buena fermentación láctica (Harrison *et al.*, 1994). Si bien se hallaron diferencias significativas en algunos parámetros de la composición química y en el pH, las magnitudes de estas diferencias no fueron importantes.

En cuanto a la producción de gas *in vitro*, los valores de "a" en las pasturas y ensilajes fueron desde -1,92 a -4,72 ml/g MSi, indicando estas cifras negativas la ocurrencia de una fase de retardo de la fermentación (Ahmed y El-Hag, 2004). Sólo los ensilajes con 2 % de suero fueron significativamente más bajos que los otros dos niveles de adición de suero.

Cuadro 3. Efecto del ensilaje y la adición de melaza o suero de queso sobre los parámetros de producción de gas *in vitro* de pasturas y ensilados de pasturas.

Tratamiento	a (ml/g MSi)	b (ml/g MSi)	a+b (ml/g MSi)	c (%/h)
fresco	-3,43	127,44	124,01	3,71
0	-3,18	130,33	127,16	2,18
melaza	-2,79	123,74	120,95	2,72
2	-4,72	136,54	131,82	2,20
5	-2,87	129,93	127,07	2,30
10	-1,92	123,27	121,35	2,60
ESM ¹	0,487	3,179	3,131	0,093
Contraste (P) ²				
fresco vs ensilado	ns	ns	ns	<0,001
0 vs aditivos	ns	ns	ns	0,009
melaza vs suero	ns	ns	ns	0,001
2% vs 5+10%	<0,001	0,010	0,042	0,024
5% vs 10%	ns	ns	ns	0,023

a: gas producido por sustratos rápidamente fermentados; b: gas producido por sustratos lentamente fermentados; a+b: producción potencial de gas del total de sustratos fermentados; c: tasa de producción de gas.

fresco: pastura original sin ensilar; 0: ensilaje sin aditivo; melaza: ensilaje con 1,5% p/p de melaza; 2, 5 y 10: ensilajes con 2, 5 y 10% p/p de suero de queso.

¹ error estándar de las medias; ² probabilidad del contraste ortogonal; ns: no significativa (P > 0,1).

Los ensilajes con 2% de suero presentaron mayor “b” que los con 5 y 10 %, coincidente con el mayor contenido de FND de aquellos; este fenómeno indicaría que dicha fracción fibrosa sería susceptible de fermentar en su totalidad. La producción potencial de gas del total de sustratos fermentables (a+b) sólo fue significativamente mayor entre 2 % de suero y el resto de los ensilajes con suero.

Con respecto a la tasa de producción de gas (c), ésta fue mayor para las pasturas originales que para los ensilajes. A su vez el uso de aditivos aumentó la tasa con respecto a los ensilajes sin aditivos. Dentro de los aditivos la melaza fue el que obtuvo la tasa más alta, seguida por 10 %, 5 % y finalmente 2 % de suero. Este hecho es de fundamental importancia debido a que este parámetro ha sido hallado como mejor predictor de la degradabilidad de la MO que los otros parámetros de producción de gas *in vitro* (Chenost *et al.*, 2001) y denotaría una menor pérdida de valor nutritivo en el proceso de ensilaje.

Las correlaciones positivas obtenidas entre la producción potencial de gas y la concentración de Az. Sol.,

la relación Az. Sol./N y el contenido en FND confirman que el gas procede de sustratos capaces de ser fermentados. La correlación negativa entre la tasa de producción de gas y el contenido de FND corrobora la lenta fermentación de este componente químico.

Conclusiones

La adición de suero de queso permite obtener ensilajes de pasturas bien conservados, que impactan positivamente sobre la tasa de producción de gas *in vitro* con respecto a ensilajes sin aditivos, aunque ésta no alcanza los valores de ensilajes con melaza o pasturas verdes. Dentro de los tres niveles de suero de queso usados se obtuvo una mayor producción potencial de gas del total de sustratos fermentables con el agregado de 2 % de este aditivo.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por CSIC (programa jóvenes investigadores 2002) y por International Foundation for Science (project B/3028-1).

Bibliografía

- Ahmed, M.M.M. and El-Hag, F.M.** 2004. Degradation characteristics of some Sudanese forages and tree pods using *in sacco* and gas production techniques. *Small Rum. Res.* 54: 147-156.
- Aldrich, J. M.; Muller, L. D. and Varga, G. A.** 1993. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 1091-1105.
- Andrieu, J.; Demarquilly, C. y Sauvant D.** 1990. Tablas del valor nutritivo de los alimentos. En: Jarrige, J. (ed.), Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos, pp. 313-425. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS).** 1984. Official methods of analysis (14th Ed.). Washington DC, USA.
- ARC (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL).** 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, UK.
- Bateman, J. V.** 1970. Nutrición Animal: manual de métodos analíticos. Herrero Hnos. e IICA (Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas), México DF, México.
- Cajarville, C.; Echarri, V. y Repetto, J. L.** 2001a. Utilización de lactosuero como aditivo para ensilajes de alfalfa: primera comunicación. Resúmenes (CD) del VII Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.
- Cajarville, C.; Repetto, J. L. y Bengoa F.** 2001b. Valor nutritivo de sueros de la quesería de CALCAR. Relevamiento preliminar. Informe técnico, CALCAR Carmelo, Uruguay.
- Chenost, M.; Aufrère J. and Macheboeuf D.** 2001. The gas-test technique as a tool for predicting the energetic value of forage plants. *Anim. Res.* 50: 349-364.
- Demarquilly, C.** 1973. Composition chimique, caractéristique fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: modifications par rapport au fourrages vert initial. *Ann. Zootech.* 22: 1-15.
- FEDNA (FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA EL DESARROLLO DE LA NUTRICIÓN ANIMAL).** 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos (2 ed.). De Blas, C., Mateos, G.G. y Rebollar, P.G. (eds.) www.etsia.upm.es/fedna/sub_animales_lacteos/suerodulcevac.htm. Madrid, España.
- Goering, H. K. and Van Soest, P.J.** 1970. Forage fiber analyses. Agriculture Handbook 379. U.S. Government Printing Office, Washington DC, USA.
- Harrison, J. H.; Blauwiel, R. and Stokes M. R.** 1994. Fermentation and utilization of grass silage. *J. Dairy Sci.* 77: 3209-3235.
- Henderson, N.** 1993. Silage additives. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45: 35-56.
- Mauricio, R. M.; Mould, F. L.; Dhanoa, M. S.; Owen, E.; Channa, K. S. and Theodorou M. K.** 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 321-330.
- Ørskov, E. R. and McDonald I.** 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to a rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92: 499-503.
- Preston, T. R.** 1986. Better utilization of crop residues and by-products in animal feeding: research guidelines. 2. A practical manual for research workers. *FAO Animal production and health. Paper 50:2.* Roma, Italia.
- Repetto, J. L.; Cajarville, C.; D'Alessandro, J.; Curbelo, A.; Soto, C. and Garín D.** 2005. Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixture. *Anim. Res.* 54: 1-8.
- Theodorou, M. K.; Williams, B. A.; Dhanoa, M. S.; Mcallan, A. B. and France J.** 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48: 185-197.
- Thomas, C. and Thomas P. C.** 1985. Factors affecting the nutritive value of grass silage. En: W. Haresign, D. J. A. Cole (eds.), Recent advances in animal nutrition, pp. 223-256. Butterworths, London, UK.
- Van Soest P. J.** 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press, Ithaca, N. Y., USA.
- Van Vuuren, A. M.; Huntanen, P. and Dulphy J. P.** 1995. Improving the feeding value and health of ensiled forage. En: Journet, M., Grenet, E., Farce, M-H., Theriez, M. y Demarquilly, C (eds.), Recent developments in the nutrition of herbivores. INRA, Paris, Francia.
- Yemm, E. W. and Willis, A. J.** 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57: 508-514.