

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**UTILIZACION DEL SUERO DE QUESERIA COMO ADITIVO  
EN EL ENSILAJE DE PRADERAS: EFECTO A NIVEL DE LA  
DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LOS FORRAJES**

Por

**Nicolás AGUIRRE GRAÑA  
Gonzalo AZANZA ZUNINI  
Diego FAGALDE MILA**



**TESIS DE GRADO presentado como uno  
de los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinarias  
(Orientación Producción)**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2005**

**TESIS DE GRADO aprobado por:**

Presidente de Mesa: Ing. Agr. Ramiro Zanoniani  
Nombre completo y firma

Segundo Miembro (Tutor): Dr. José Luis Repetto  
Nombre completo y firma

| Tercer Miembro: Dr. Diego Ibarra  
Nombre completo y firma

Co Tutor: Dra. Cecilia Cajarville  
Nombre completo y firma

| Fecha: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Autores: Aquirre Gonzalo  
Nombre completo y firma

Azanza Gonzalo  
Nombre completo y firma

Fagalde Diego  
Nombre completo y firma

031 TG  
Utilización del  
Aquirre Graña, Nicolás  
  
FV/26557

26.557

## **AGRADECIMIENTOS**

A todo el personal del Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, por la hospitalidad y apoyo durante los trabajos de campo.

A nuestros tutores Joselo y Cecilia por habernos bancado tanto tiempo, en tantas idas y venidas para guiar nuestro trabajo, a pesar de algunas carencias de nuestra parte.

A todo el personal del Departamento de Nutrición por la ayuda brindada.

A nuestras familias por ser un puntal permanente para cada uno de nosotros.

A nuestros amigos en general.

El presente trabajo fue financiado por International Foundation for Science.  
(Proyecto: B/3028-1)

## TABLA DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	III
<b>LISTA DE CUADROS Y FIGURAS</b> .....	V
<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. SUMMARY</b> .....	1
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
3.1 METODOS DE CONSERVACION .....	3
3.2 FERMENTACION DEL SILO .....	4
3.3 MICROORGANISMOS EN LOS ENSILADOS .....	8
3.4 FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE ENSILAJE Y SUS CONSECUENCIAS .....	9
3.5 TRATAMIENTOS PARA MEJORAR LAS CONDICIONES DE FERMENTACION DEL ENSILAJE.....	11
3.6 DEGRADABILIDAD RUMINAL .....	15
<b>4. OBJETIVOS DEL TRABAJO</b> .....	19
4.1 OBJETIVO GENERAL .....	19
4.2 OBJETIVO PARTICULAR.....	19
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
5.2 DEGRADABILIDAD RUMINAL .....	21
5.3 ANÁLISIS QUÍMICOS.....	22
5.4 ANALISIS ESTADÍSTICO .....	23
<b>6. RESULTADOS</b> .....	24
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	30
7.1 EFECTO DEL ENSILADO .....	30
7.2 TRATAMIENTOS.....	32
<b>8. CONCLUSIÓN</b> .....	36
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	37

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURA N° 1.....	PAG. 6
FIGURA N° 2.....	PAG. 27
FIGURA N° 3.....	PAG. 29
CUADRO N° I.....	PAG. 20
CUADRO N° II.....	PAG. 23
CUADRO N° III.....	PAG. 24
CUADRO N° IV.....	PAG. 26
CUADRO N° V.....	PAG. 28

## 1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la degradabilidad de ensilados de praderas compuestas por leguminosas y gramíneas en diferente proporción, utilizando como aditivos lactosuero (2%, 5%, 10%) y melaza (5%). La degradabilidad efectiva de la materia seca (**MS**), fibra neutro detergente (**FND**), y fibra ácido detergente (**FAD**) fueron estudiadas mediante la técnica *in situ* utilizando tres vacas Holando con fístula ruminal. La degradabilidad efectiva de la **MS**, a una tasa de pasaje del 6% (**de 06**), fue mayor para el forraje fresco al compararlo con los distintos ensilados (48.83% vs.46.38%;  $p<0.001$ ). Dentro de los ensilados, el mayor valor lo presentó el realizado con melaza (49.99%;  $p<0.001$ ) y la menor degradabilidad la mostró el realizado sin aditivo (44.79%;  $p<0.001$ ). Entre los tratados con lactosuero el mayor valor de degradabilidad lo presentó el silo tratado al 10%. Al analizar la **de 06** de la **FND**, el forraje fresco fue 15.6% superior a los ensilados y 11.11% a una tasa del 3% (**de 03**). Al contrastar los ensilados tratados no se encontraron diferencias significativas. La **de 06** para la **FAD** en el forraje fresco, fue un 13% superior que los ensilados, y a una tasa de pasaje de 03, fue 9% mayor que los mismos. La **de 03**, de la **FAD** en los ensilados tratados con melaza fue un 3.4% superior a la de los tratados con lactosuero. El forraje fresco mostró una mayor degradabilidad efectiva para **MS**, **FND** y **FAD** que los ensilados. Dentro de éstos, el realizado con melaza presentó mayor degradabilidad de **MS**. La degradabilidad efectiva del ensilado con lactosuero al 10%, fue superior que la de los tratados al 2% y 5%.

Palabras clave: degradabilidad, ensilados, aditivos, melaza, lactosuero, forraje.

## 2. SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the degradability of meadow silage comprised of legumes and grass of differing quantities, using cheese whey of two, five and ten- percent and molasses of five-percent as an additive. The effectiveness of degradability of dry material (**DM**), neutral detergent fiber (**NDF**) and acid detergent fiber (**ADF**) was studied with the *Situ* technique, using three Holstein cows with

ruminal fistula. The effective degradability of MS, at a passage percentage of six-percent (of 06), was greater for the fresh forage along with the different silages (48.83% vs. 46.38%;  $p < 0.001$ ). Within the silages, the highest value was that of the one created by molasses (49.99%;  $p < 0.001$ ) and the highest degradability was that of the one without additives (44.79%;  $p < 0.001$ ). Within those treated with cheese whey, the highest yield of degradability was illustrated by the silo at ten-percent. Once analyzing that of 06 for the ADF in the fresh forage, it was 15.6 percent superior to those silages and 11.11-percent at a rate of three-percent (of 03). Upon verifying the handled silages, no significant differences were found. The 06 for the ADF in the fresh forage, it was thirteen-percent superior to that of the silages and at a rate of passage of 03, it was nine-percent greater. The 03, in the silages handled with molasses was 3.4 percent superior in comparison to those handled with cheese whey. Fresh forage showed a greater degree of effective degradability for DM, NFD and ADF than the silages. Within these, the one carried out with molasses showed a greater degree of degradability of DM. The effective degradability of the cheese whey to ten-percent was superior to those treated with two and five-percent.

**Key words:** degradability, silages, additives, molasses, cheese whey and forage.

### 3. INTRODUCCION

El Uruguay se encuentra ubicado, entre los paralelos 30° y 35° de latitud Sur y entre los meridianos 55° y 60°. Con un clima templado, cálido y húmedo, de precipitaciones regulares, inviernos suaves y veranos cálidos. Estas características favorecen la producción de forraje. La estacionalidad de la producción forrajera en el Uruguay es una característica muy marcada, las bajas temperatura registradas en el invierno afectan esta producción (Rovira, 1996). Los sistemas productivos tanto lecheros como de carne se basan fundamentalmente en la producción de forraje, dependiendo de la zona y lugar. Las pasturas cultivadas o praderas convencionales utilizadas más corrientemente son de trébol rojo, (*Trifolium pratense*) trébol blanco, (*Trifolium repens*) raigrás (*Lolium multiflorum*) lotus (*Lotus corniculatus*), (Carámbula 1977; Rovira, 1996). En las estaciones de abundancia de pasturas, los productores del país utilizan los métodos de conservación de forraje como alternativa para trasladar los excesos y ser utilizarlos luego en épocas de escasez (D'Alessandro y col., 1994).

#### **3.1 METODOS DE CONSERVACION**

Los métodos más utilizados de conservación del forraje en nuestro país son: el heno, el ensilaje y el henolaje, cuyas principales características según Bruno y col., 1997 son las siguientes:

**El Heno** es un forraje conservado que se caracteriza por poseer un contenido de humedad por debajo de un 15 %, permitiendo que sea almacenado sin peligro de fermentaciones ni desarrollo de hongos.

**El Ensilaje** es un método de conservación del forraje basado en una fermentación ácido láctica bajo condiciones de anaerobiosis (Stefanie y col. 2000) constituyendo una modalidad muy recomendable, particularmente donde las condiciones climáticas impiden la confección de heno.

**El Henolaje** o empaquetado de rollo húmedo es un ensilaje con fermentación ácido láctica siendo una técnica de conservación que consiste en cortar el forraje y



someterlo a un premarchitado durante un cierto período de tiempo, hasta lograr un contenido de materia seca del 50 % aproximadamente.

Casi todos los cultivos pueden conservarse mediante el ensilado, las especies utilizadas habitualmente son las gramíneas, leguminosas, plantas de cereales enteras y residuos industriales de frutas (Mc Donald y col. 1988). El ensilado de maíz se utiliza comúnmente para la conservación del forraje, pero también se ensilan los excesos de praderas. Estos últimos, si bien dan buenos resultados en condiciones experimentales; a nivel de los productores por lo general, dan como resultado silos de calidad media a baja, al ser utilizadas praderas maduras en estado de floración tardía (Corengia y col. 1989; Echarri y col. 1997; D'Alessandro y col. 2000). La calidad del silo dependerá de dos puntos clave: del valor nutritivo del forraje y del proceso de fermentación (Henderson 1993)

### **3.2 FERMENTACION DEL SILO**

Como consecuencia de una buena fermentación el ensilado alcanza valores de pH menores a 4.5, el ácido láctico debe predominar sobre el ácido acético, el contenido de N amoniacal será menor al 1% de la materia seca y la cantidad de ácido butírico menor al 5%. La fermentación deseada para los ensilajes es la láctica, en la que predominan las bacterias ácido lácticas, transformando los carbohidratos disponibles en ácido láctico (McDonald y col. 1988; Van Soest 1994). La adecuada fermentación depende del forraje a ensilar, de una baja disponibilidad de oxígeno, y del contenido de humedad. Los buenos silos son aquellos en los cuales la composición del forraje original es poco alterada (Harrison y col. 1994; Nadeau y col. 2000).

El proceso de ensilaje será más eficiente y rápido a medida que el contenido de azúcares de los forrajes sea mayor, el cual es el sustrato indispensable para la acción de la microflora fermentativa del forraje (Henderson 1993).

La buena preservación por fermentación depende de la producción de ácido láctico para estabilizar el silo a un bajo pH. A su vez la producción de ácido láctico estará influenciada por la cantidad de carbohidratos para sobreponerse a la capacidad buffer de los forrajes a ensilar (Van Soest, 1994). Además deben considerarse las

variaciones registradas durante el día en el contenido de carbohidratos de la planta (Repetto y col. 2003 b). Las gramíneas son más fáciles para ensilar por su alto contenido de carbohidratos altamente fermentables y su baja capacidad tampón en comparación con las leguminosas, que son bajas en azúcares y tienen alta capacidad tampón (McAllister y Hristov, 2000).

En los procesos de ensilaje se producen cuatro fases:

**Fase Aeróbica:** Este proceso normalmente dura unas pocas horas en las cuales el oxígeno presente entre las partículas de la planta es reducido gracias a la respiración de las plantas, la compactación del silo y a la actividad aeróbica de algunos microorganismos como las levaduras y enterobacterias.

**Fase Fermentativa:** Comienza cuando el silo se encuentra en anaerobiosis y continúa por días o semanas dependiendo de las propiedades del forraje ensilado.

**Fase de Estabilización:** Es en ésta donde el silo se encuentra con un pH entre 3 y 4.2, predomina el ácido láctico sobre el acético conteniendo una baja concentración de N amoniacal

**Fase de Suministro:** Esta fase comienza cuando el silo es expuesto al aire, pudiendo haber pérdidas por el mal tapado, daños por roedores u otros animales.

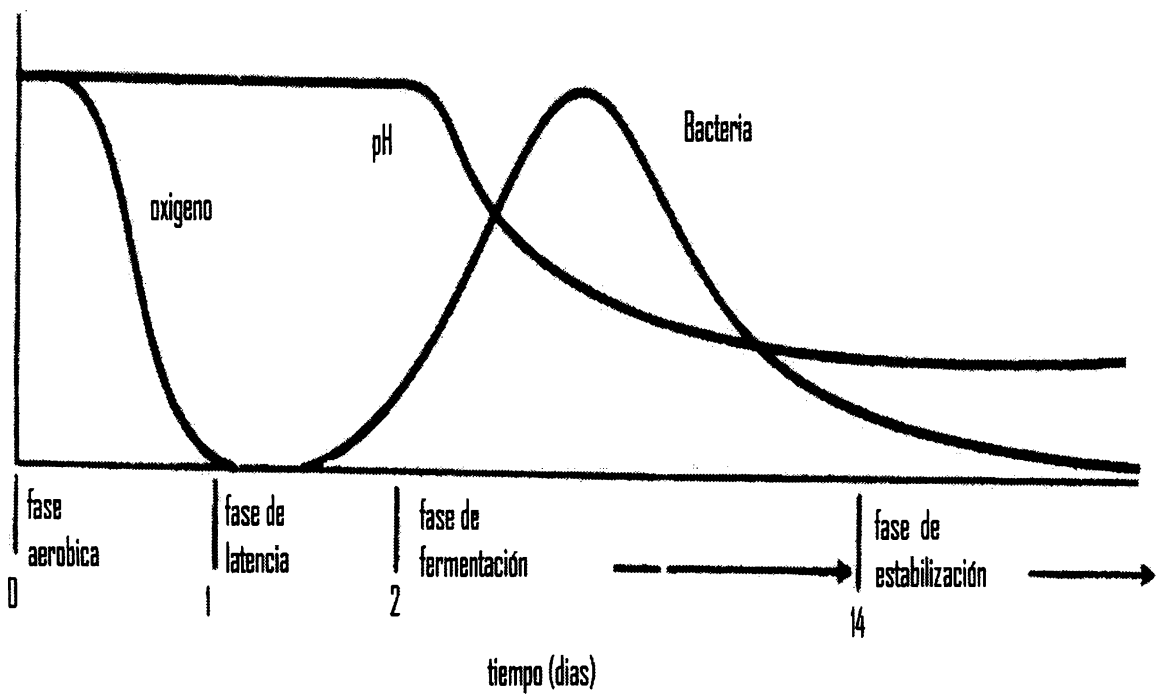


Figura 1, Fases de fermentación adaptada de Van Soest (1994).

Como se observa en la figura, en la fase aeróbica el oxígeno disminuye en las primeras horas, mientras que el pH permanece constante. La fase de fermentación comienza a partir del segundo día cuando se produce un incremento bacteriano, esto trae aparejado un descenso en el pH. Una vez que el silo alcanza valores de pH entre 3 y 4.2 la población de bacterias disminuye llegando así a la fase de estabilización.

El período entre la cosecha del forraje y el término del proceso de fermentación anaeróbica o estabilización ácida de la masa ensilada, constituye, en consecuencia, un factor clave en la preservación del forraje por este método. Mientras menos extensos sean estos períodos, menores serán las pérdidas de respiración y fermentación y también se reducirán las pérdidas por putrefacción (Van Soest 1994, Bruno y col. 1997, Stefanie y col. 2000).

Durante la fermentación se producen pérdidas de energía eliminada como calor por la transformación de los azúcares en ácidos y de proteínas en compuestos más simples, al transformar fracciones de ellas en compuestos nitrogenados no proteicos (Van Soest 1994).

Las fermentaciones se pueden clasificar como láctica, butírica, y acética (Mc Donald y col. 1988). Quien determina el tipo de fermentación que ocurre en el ensilado es la interrelación entre el contenido de materia seca, el contenido de humedad, los carbohidratos solubles y la capacidad tampón (Harrison y col. 1994). La baja cantidad de carbohidratos solubles en la planta, asociados a un bajo contenido de materia seca, crea condiciones extremadamente propicias al desarrollo de fermentaciones secundarias (Harrison y col. 1994). La importancia de los carbohidratos solubles se ve reflejada en el tenor de N amoniacal de los ensilajes, indicador de mala preservación del material. El nivel de N amoniacal se relaciona inversamente con la concentración de carbohidratos solubles de la planta original (Nadeau y col. 2000).

Fermentación butírica: es la fermentación producida por clostridios, no solo va contra la fermentación láctica sino que se produce una considerable cantidad de gases (Stefanie y col. 2000). La ingestión de materia seca de estos silos por parte de los rumiantes es baja, existiendo una correlación inversa entre la ingestión de materia seca y la cantidad de N amoniacal en el ensilado (Mc Donald y col. 1988).

Fermentación acética: es originada por las bacterias ácido acéticas produciendo daños en los silos, dado que oxidan los ácidos láctico y acético aumentando el pH. Esto favorecerá la posterior actividad de las levaduras y otros microorganismos indeseables (Stefanie y col. 2000). En los silos mal fermentados se encuentran componentes como ácido acético y N amoniacal que están relacionados con una disminución del consumo (Erdman, 1993).

Trabajos de Cushnahan y Gordon, (1995) demostraron que se producía una disminución en la ingesta, si los silos se encontraban con alto N amoniacal, concentración elevada de butírico, cambios en el pH y en la concentración de

carbohidratos solubles; todas estas, características de malos procesos de fermentación.

### 3.3 MICROORGANISMOS EN LOS ENSILADOS



La microflora encontrada en los silos se divide en dos: una deseable, constituida por las bacterias ácido lácticas que fermentan sustrato a ácido láctico, disminuyendo el pH y favoreciendo la preservación, y otra, indeseable, responsable de las pérdidas anaeróbicas, constituida por las Enterobacterias y los Clostridios, y las que causan pérdidas aeróbicas: Levaduras, Bacilli, Listeria y hongos (Van Soest 1994, Stefanie y col., 2000). Las bacterias ácido lácticas son abundantes en el forraje, se corresponden a este género los: *Lactobacillus*, *Pedicoccus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*, (Van Soest 1994) Por la fermentación de la glucosa se clasifican en homofermentativas y en heterofermentativas. Siempre deben predominar las bacterias homofermentativas, que forman ácido láctico a partir de carbohidratos hidrosolubles, las heterofermentativas también utilizan dicho sustrato pero no siempre contribuyen en la baja del pH (Henderson 1993; Harrison y col., 1994; Rees 1997).

Las enterobacterias compiten con las levaduras por los carbohidratos hidrosolubles durante los procesos de ensilaje, quedando limitado el sustrato. Cuando en los silos se encuentra disminuida la disponibilidad de carbohidratos, las levaduras pueden usar ácido láctico en presencia de oxígeno y transformarlo en acético, produciendo un deterioro del silo. Las enterobacterias pueden degradar las proteínas produciendo aminas las cuales tienen efecto negativo sobre la palatabilidad. Su actividad se inhibe por la anaerobiosis y por la disminución del pH. Por el contrario, si proliferan aumentan la capacidad buffer del ensilado, comprometiendo el rápido descenso del pH. Estas bacterias producen endotoxinas las cuales perduran en el tiempo produciendo una disminución en la palatabilidad y en los valores nutritivos de los silos (Henderson 1993, Stefanie y col. 2000).

Los Clostridios fermentan las proteínas causando una reducción en los valores alimenticios y produciendo aminas al igual que las enterobacterias. Los clostridios

también aparecen en el silo con humedad elevada aunque el pH sea de 4 favoreciendo la producción de butírico (Owens y col. 2002)

Los hongos más comúnmente hallados son los del género *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, etc. Son microorganismos que proliferan en condiciones aeróbicas, metabolizando los ácidos con el consecuente aumento del pH, y deterioro del silo (Van Soest 1994).

### **3.4 FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE ENSILAJE Y SUS CONSECUENCIAS**

Durante todo el proceso de ensilaje, el corte, el premarchitado, la respiración, la actividad microbiológica y las acciones mecánicas, resultan en pérdidas de nutrientes (McGechan, 1990; Van Soest, 1994). Una de esas pérdidas, es la que se produce en el campo, desde el momento de la cosecha hasta el ensilado. Cuando la siega y ensilado se hacen en un período de menos de 24 horas las pérdidas no superan el 1 o 2 % de la materia seca. Pasando más de 48 horas las pérdidas pueden ser significativas dependiendo de las condiciones climáticas (McDonald y col. 1988). El contenido de materia seca es una limitante de la preservación del forraje, los niveles muy altos de materia seca, dificultan la compactación, mientras que los niveles elevados de agua, dificultan la fermentación y acidificación del material, diluyendo los ácidos formados y extendiendo los procesos fermentativos (Bruno y col. 1997). Cuanto mayor sea el contenido de humedad del forraje a ensilar mayor son las pérdidas por efluentes (Cajarville y col. 2003 a).

El tamaño de picado del material cosechado es otro factor que influye en el ensilado, un picado fino facilitaría la disponibilidad de los carbohidratos fermentables para los microorganismos. Sin embargo picados muy finos podrían ser negativos para el animal y dificultar la salivación debido a escasa rumia, con el potencial riesgo de acidosis. Un tamaño demasiado grande de picado dificultará la compactación quedando de este modo mayor cantidad de oxígeno atrapado en la masa del forraje y como resultado incrementaría la temperatura y el desperdicio. (Bruno y col. 1997).

Luego del corte de la planta y durante la conservación empiezan los cambios bioquímicos que resultan del metabolismo celular (Henderson 1993). Una vez ingresado el material al silo, la presencia de oxígeno resultará en pérdidas por oxidación. La respiración se produce mientras la tensión de oxígeno no descienda (Henderson, 1993). Entre las pérdidas oxidativas, la descomposición del material por entrada de aire en los contornos del silo es cuantitativamente la más importante en la mayoría de los casos (Van Soest 1994).

La respiración de la planta consume carbohidratos e hidroliza las proteínas (Van Soest 1994), además se produce una rápida degradación de las materias nitrogenadas transformándolas en nitrógeno no proteico (Repetto y col. 2003 a), lo que trae aparejado una disminución en la producción de proteína microbiana (Hristov y col. 2001). Estas transformaciones químicas durante el ensilaje, en particular la proteólisis, cambian los compuestos nitrogenados (Aufrere y col. 1993). Las plantas con alto contenido de taninos, como el Lotus, favorecen la disminución de proteólisis a nivel del ensilaje (Santos y col. 2000).

El calentamiento del silo, debido a reacciones de oxidación, provoca disminución en forma permanente de la disponibilidad de proteína a través de la formación de compuestos de Maillard con reacciones de amarramiento no enzimático. Dichas reacciones consisten en la degradación de azúcares a compuestos fenólicos y la condensación de los mismos con aminoácidos con posterior polimerización y formación de sustancia parda (Repetto, 1996).

Hay otras pérdidas de componentes estructurales de la pared celular de las plantas. La celulosa, que es el monosacárido más abundante de los forrajes, se pierde en un 5 % en los procesos de ensilado. (Henderson 1993). En cuanto a la hemicelulosa, sus pérdidas no son uniformes y dependen del estado de crecimiento y de la calidad de materia seca, pudiendo perderse hasta un 40 % de la misma (Henderson 1993).

Otro aspecto a tomar en cuenta es el descenso del pH de la masa ensilada en un corto período, el cual ayudará a que no proliferen microorganismos poco deseables en la fermentación, como son los clostridios (Nadeau y col. 2000) afectando en forma negativa la posterior fermentación de los microorganismos ruminales (Aldrich y

col. 1993). También un rápido descenso del pH limitará la actividad de las proteasas de las plantas, (Van Soest, 1994). Aunque la actividad óptima de las proteasas se observa a un pH de 6, con valores de 4 éstas mantienen entre 15 y 30 % de su actividad (Owens y col. 2002).

### **3.5 TRATAMIENTOS PARA MEJORAR LAS CONDICIONES DE FERMENTACION DEL ENSILAJE**

El uso de algunos tratamientos en el forraje en el momento del ensilado, es una alternativa para mejorar la fermentación y conservación, principalmente en aquellos que presentan condiciones difíciles para su ensilado (Henderson 1993). Para Kramberger y col. (2004) si bien los silos sin tratamiento presentaron buena calidad, la aplicación de aditivos mejoró la fermentación, la concentración de ácido láctico y favoreció la disminución del pH.

**3.5.1 El Premarchitado:** Es una técnica que consiste en cortar el forraje, dejarlo extendido sobre el suelo durante algunas horas, disminuyendo así el contenido hídrico del material a ensilar y por lo tanto concentrando los carbohidratos hidrosolubles (Henderson, 1993). El objetivo es conseguir una deshidratación parcial, para luego recolectarlo y ensilarlo (Bruno y col. 1997). Con esta práctica mejoran los valores nutritivos de los silos y disminuye la cantidad de efluentes producidos. A su vez mejora la ingestión de materia seca, aunque no se hace evidenciada tiene poca respuesta en la performance animal (Yan y col. 1997). Se tiene que tener en cuenta que el premarchitado se debe hacer con humedad atmosférica baja, de lo contrario los efectos pueden ser perjudiciales (Henderson, 1993). Para Pobednov, (2003) en silos premarchitados, no solo son importantes los contenidos de azúcares y la capacidad buffer, sino también los contenidos de bacterias ácidos lácticas y la concentración de nitratos. La producción de silos premarchitados libres de ácido butírico es dificultosa, aparentemente debido a una baja concentración de nitrato en el forraje o a una insuficiente concentración de nitrito en el silo (von Boderfeld, 2002). La desventaja que tiene el premarchitado es el tiempo de exposición, con las consiguientes pérdidas por respiración y fermentación de la propia planta. También a causa de esta exposición se produce contaminación con tierra, lo que traería aparejado un aumento en las cenizas del



ensilado, con consecuencias adversas sobre su preservación así como en la productividad animal (Bruno y col. 1997). Según trabajos realizados por Yan y col., (1997) los silos premarchitados presentan una digestibilidad de la materia orgánica y de la energía mayor que los sin premarchitar.

**3.5.2 Los Aditivos:** A efectos de lograr una rápida fermentación láctica en el ensilaje y disminuir así los efectos antes mencionados, una alternativa tecnológica es la utilización de aditivos para favorecer una rápida caída del pH y mejorar las condiciones de conservación del forraje (Hetta y col. 2003).

Se pueden clasificar en químicos o biológicos y se pueden categorizar en: estimulantes, inhibidores, nutrientes o absorbentes (Henderson 1993; Harrison y col. 1994). El efecto de estos aditivos sobre la fermentación de los silos va a depender del tipo de aditivo, de la tasa de aplicación, de la actividad biológica, del tipo de forraje, del contenido de materia seca y de la composición química (Harrison y col. 1994).

**3.5.2.1 Los inhibidores**, son los compuestos destinados a impedir la fermentación en la masa ensilada. Los más comúnmente utilizados son el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido sulfúrico, el ácido tánico y la formalina. La función de los aditivos ácidos es bajar el pH bruscamente, inhibir la actividad respiratoria y la actividad enzimática proteolítica. La formalina tiene además función bacteriostática. Los ácidos pueden inhibir o estimular la actividad de las levaduras según la concentración que se le agregue (Henderson, 1993; Bolsen y col., 1995).

Los ácidos minerales bajan el pH inhibiendo la actividad de las enterobacterias y de los clostridios y estimulando a las bacterias ácido lácticas. El ácido sulfúrico es el más utilizado, pero es cuestionado porque tiene un efecto negativo en la performance animal (Henderson 1993; Bolsen y col., 1995).

Los ácidos orgánicos como el ácido fórmico tienen una acción antibacteriana y protegen las proteínas de las plantas de la degradación en el silo y en el rumen (Henderson, 1993). El ácido fórmico disminuye bruscamente el pH, aumenta la concentración y mejora la conservación de carbohidratos debido a la inhibición de la

actividad microbiana, además disminuye la concentración de nitrógeno amoniacal (FuYu y col. 2004). Uno de los inconvenientes que presenta el ácido fórmico, es la tolerancia por parte de las levaduras, (Randby, 2000). En trabajos realizados por Kim y col., (2004) las bacterias ácido lácticas, demostraron baja susceptibilidad, lo que resultaría inconveniente por seguir utilizando los sustratos del ensilado. Por otra parte Selweet, (2004) encontró que la aplicación del ácido fórmico afectó negativamente el crecimiento dinámico de las bacterias ácidos lácticas, clostridios y E.coli en el silo, coincidiendo con Henderson, (1993). En contra posición Harrison y col. 1994 utilizando ácido fórmico obtuvo buenos resultados, sobre todo en forrajes que presentan dificultad para ensilar. En condiciones de premarchitado, el ácido fórmico mejora la calidad del silo, reduciendo la fermentación e incrementando la porción de ácido láctico (Florek y col. 2004), a su vez aumenta la ingestión de la materia seca (Harrison y col. 1994). Cuando es aplicado en grandes cantidades disminuye la digestibilidad y la ingesta, pero si es aplicado en bajas concentraciones aumenta el crecimiento de los clostridios. Los silos con ácido fórmico tienen menor cantidad de acético, propiónico y butírico que los sin aditivo (Aufrère y col. 1993). Las concentraciones de fibra neutro detergente en los ensilados tratados con ácido fórmico y celulasas fueron un 19 % menores que los ensilados sin tratar (Nadeau y col. 1996). Otro de los aditivos orgánicos utilizados es el ácido acético, que al igual que el fórmico, disminuye directamente el pH de la masa ensilada y disminuye la proteólisis. La limitante que presenta es un descenso en la calidad del silo al incrementarse la concentración del ácido acético lo que hace que no se recomiende para su utilización (Djordjevic y col. 2004). Para Santos y col. (2000) el ácido tánico como aditivo en silos de leguminosas no tuvo efecto en la disminución del pH.

**3.5.2.2 Los Absorbentes:** son utilizados en los silos que tienen un bajo contenido de materia seca para prevenir las excesivas pérdidas por efluentes. Los más usados son la pulpa de citrus deshidratada y la pulpa de remolacha (Stefanie y col. 2000).

**3.5.2.3 Estimulantes:** Son compuestos que favorecen la fermentación del material ensilado. Estos se pueden clasificar en Sustratos, Enzimas y Bacterias.

Los aditivos más utilizados como fuente de carbohidratos son la melaza, el suero de queso, la pulpa de citrus, granos, etc. Estos brindan sustratos para las bacterias

ácido láctico (Henderson 1993). Dentro de los estimulantes se encuentra el lactosuero con un alto contenido de lactosa (63% a 70%), carbohidrato utilizado para la proliferación de bacterias ácido lácticas (Cajarville y col. 2001 b). Según trabajos realizados por Repetto y col. (2003 c), la adición de suero de queso al 2 y 5% disminuye la degradación de la proteína, baja el pH, no aumenta la cantidad de efluentes producidos aunque aumenta las pérdidas de materia seca. Los aditivos en general, tanto la melaza como el suero, disminuyen el pH. Los silos tratados con melaza, experimentan menores pérdidas que los tratados con suero de queso, con la consecuente menor concentración de nitrógeno amoniacal, a su vez en los silos tratados con suero de queso se observó mayor producción de efluentes (Cajarville y col. 2003 a). Publicaciones de Riveros y col. (1994) demostraron que la aplicación de melaza favoreció significativamente las características fermentativas en los tratamientos donde se aplicó. Donmez y col. (2003) demostraron los efectos benéficos de la melaza como aditivo sobre el desarrollo de los protozoarios ruminales.

Los estimulantes resultan benéficos en los silos con sustratos insuficientes, agregándoles azúcares como la melaza o adicionando enzimas directamente. En forrajes con alto contenido de carbohidratos hidrosolubles, de fácil ensilado, la preservación del silo fue mejor inoculando bacterias ácido lácticas (Selmen y Olsen, 1994; Adesogan y col. 2004). La disminución de las bacterias ácido lácticas y nitratos retrasa la fermentación láctica, favoreciendo la fermentación butírica (Pobednov, 2003). Las bacterias ácido lácticas, son muy eficientes usando carbohidratos hidrosolubles, mejorando los valores nutritivos del silo (Nadeau y col. 2000). La aplicación de estas bacterias resultó beneficiosa en silos realizados a partir de forrajes premarchitados (von Boderfeld, 2002).

Enzimas que degradan las paredes celulares son utilizadas con el objetivo de aumentar los carbohidratos hidrosolubles como sustrato para las bacterias ácido lácticas, mejorando la digestibilidad de la materia orgánica. Estas preparaciones enzimáticas, son más activas en el forraje inmaduro con bajo contenido de materia seca, aumentando la concentración de ácido láctico y ácido acético, disminuyendo el nitrógeno amoniacal y el pH, perdiendo actividad en los forrajes maduros (Henderson 1993, Kramberger y col. 2004). La producción de azúcares por la

hidrólisis enzimática de las paredes celulares, aporta sustratos para las bacterias ácido lácticas disminuyendo el pH. Estas enzimas pueden ser pectinasas, celulasas y hemicelulasas (Nadeau y col. 2000). Los silos tratados con hemicelulasas y celulasas mostraron un descenso en el pH al inicio del ensilaje y un pH final menor, conteniendo menos nitrógeno amoniacal y más ácido láctico, en comparación con silos sin tratamientos (Jacobs y col. 1991; Jacobs y col., 1992; Selmen y Olsen, 1994). La aplicación de estas enzimas antes del ensilado disminuye la concentración de la pared celular y aumenta la porción soluble de materia seca del silo (Nadeau y col. 1996). Los silos tratados con enzimas incrementaron en relación a los demás, el contenido de azúcares solubles y la degradabilidad instantánea de una porción del alimento, pero el total de la digestibilidad ya sea in sacco o in vitro no fue afectada (Selmen y Olsen, 1994). La extensa degradación de las paredes celulares, en silos de leguminosas y gramíneas tratados con celulasas y ácido fórmico durante el ensilado, resultó en una evidente disminución en la digestibilidad de las paredes celulares para la colonización microbiana, por esto la digestión en el rumen fue disminuyendo, encontrándose aumentada la digestión total del material ensilado con respecto a los grupos control (Nadeau y col. 1996). Sin embargo en trabajos realizados por Salon y col. (1994) se encontró que en pasturas jóvenes, la aplicación de enzimas no tuvo efecto significativo en la digestibilidad de la materia seca, atribuyendo esto a una baja lignificación de los forrajes.

### **3.6 FACTORES QUE AFECTAN LA DEGRADABILIDAD RUMINAL EN EL ENSILADO**

La degradación de la materia seca está relacionada con la calidad del forraje, dependiendo del contenido de proteína cruda y de fibra (Repetto, 1996). Los silos de pasturas presentan una gran variabilidad en la degradación de la proteína cruda (von Keyserlingk y col. 1998; Turgut 2004). La degradabilidad de la materia orgánica es afectada por diferentes factores, como la calidad del forraje y el estado de maduración, que se corresponde con la disminución de la proteína cruda y el aumento de fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y lignina. Esto trae aparejado un descenso en la degradabilidad de los silos realizados a partir de forrajes maduros (Cone y col. 1999; Cone y col. 2004). En silos de forrajes de segundo rebrote, Nousiainen y col. (2004) encontraron un aumento en la porción de

fibra neutro detergente indigestible, relacionado con un incremento en el contenido de lignina.

Los métodos de conservación de forrajes, además de modificar la ingesta, pueden modificar la degradabilidad efectiva en los materiales ensilados al compararlo con el forraje fresco. Tanto el silo pack como el silo trinchera, aumentan la fracción soluble **(a)** de la materia seca, encontrándose diferencia significativa al ser comparado con el forraje fresco. En contraste, la fracción potencialmente degradable **(b)** se reduce en el ensilaje, acentuándose el efecto con el paso del tiempo (Cushnahan y Gordon, 1995).

Para Nadeau y col. (1996) en trabajos realizados en silos de alfalfa (*Medicago sativa*) y dactylis (*Dactylis glomerata*) tratados con celulasas y ácido fórmico el aumento de la degradación total de materia seca de los ensilados, se da en las primeras horas de incubado, debido a una mayor degradación de fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y hemicelulosa en los silos tratados. La digestión total de la fibra se ve favorecida por una mayor hidrólisis de las paredes en el silo y un aumento en la degradación en el rumen. La aplicación del ácido fórmico restringe la fermentación a nivel del ensilaje, manteniendo los sustratos para la utilización a nivel ruminal. En estudios realizados por Nowak y col. (2004) la degradabilidad efectiva y la digestibilidad intestinal no fueron afectadas por los tratamientos con aditivos. La degradación de la pared celular en el rumen, no fue afectada por el tratamiento con ácido fórmico ni con el inóculo bacteriano.

Aufrère y col. (1993), al trabajar con silos de alfalfa, vieron que la degradación de la materia seca era mayor para el forraje fresco y el silo con ácido fórmico, que para el silo sin tratamiento. Sin embargo, al estudiar la degradación de las materias nitrogenadas, el silo con ácido fórmico presentaba menor degradabilidad que los otros dos forrajes. En trabajos más recientes realizados por Aufrère y col. (2003), en silos de gramíneas sin aditivo, la degradabilidad efectiva del nitrógeno fue mayor que la del silo con ácido fórmico y ambas degradabilidades mayores que el forraje fresco. Según Nocek y Grant, (1987), durante el ensilaje se observan transformaciones químicas, en particular la proteólisis, que cambian los compuestos nitrogenados. Dichas reacciones aumentan el nitrógeno no proteico y el nitrógeno soluble. Estos

cambios se pueden explicar en los trabajos de Aufrère y col. (1993), quienes observaron diferencias considerables en la degradación de nitrógeno, donde la fracción soluble **(a)** en silos con y sin aditivos, fue mayor que en la del forraje fresco (69 %, 70%, 46% respectivamente). Al representar la fracción soluble **(a)** una considerable parte de la degradación total, la fracción potencialmente degradable **(b)** fue menor para ambos silos, con y sin tratamiento (22%, 17%), pero no para el forraje fresco (46%), coincidiendo con trabajos de Janicki y Stallings, (1988). En trabajos de Aufrère y col. (2002) se demuestra que la degradabilidad efectiva del nitrógeno para silos de trébol rojo fue mayor que la del forraje fresco, y este mayor que el silo bag. La degradación de la fibra neutro detergente y la fibra ácido detergente, se dio de la misma forma tanto en los forrajes frescos como en el silo con aditivo, teniendo una leve disminución en los silos sin tratamientos. Esto puede ser debido a pérdidas de carbohidratos hidrosolubles, componentes citoplasmáticos, como líquidos y gases, que aumentan relativamente el contenido de paredes celulares durante la conservación (Aufrère y col. 1993).

Los trabajos publicados por Santos y col. (2000) demostraron que en silos de leguminosas sin tratamiento, la degradación de la proteína para la fracción soluble **(a)** fue un 14 % mayor que en los silos de leguminosas tratados con ácido tánico. En los silos de gramíneas sin tratamiento, fue un 8 % mayor que los silos con tratamiento. Hay una porción de proteína degradada durante el ensilaje, debido a una extensa proteólisis, la cual se ve disminuida con la adición del ácido tánico. Los taninos disminuyen la desaminación proteica, que está correlacionada con la concentración del nitrógeno no proteico en los silos de leguminosas. La adición del ácido tánico disminuye la fracción soluble **(a)** de la proteína cruda y esto sería beneficioso, según los autores, al disminuir el exceso de nitrógeno a nivel ruminal post prandial. La fracción potencialmente degradable **(b)**, para silos de leguminosas con tratamiento fue mayor con respecto a los silos de leguminosas sin tratamientos. Lo mismo ocurrió en los silos de gramíneas.

En trabajos publicados por von Keyserlingk y col. (1995), en cuanto a las características de degradabilidad de la materia seca de diferentes silos de distintas pasturas, no se observaron diferencias significativas en la fracción potencialmente degradable **(b)** en los diferentes silos ni en los diferentes forrajes testeados. Sin

embargo encontraron diferencias significativas en la fracción soluble **(a)** de la proteína, que estaban comprendidas en un rango del 18.7 al 65.3 %, entre los distintos silos de diferentes pasturas. En la fracción potencialmente degradable **(b)** de proteína cruda, se vieron considerables variaciones de entre un 20.7 a un 82.7 %.

Cajarville y col. 2001 (a) utilizaron suero de quesería en distintas proporciones, como aditivo para silos de alfalfa. Los silos (tanto los que tenían aditivo como los que no), mostraron una mejor fracción soluble **(a)** de la materia seca, mientras que la fracción potencialmente degradable **(b)** se vio disminuida. Los autores observaron un aumento en la degradación de la materia seca, atribuyéndolo a que durante la fermentación del silo se incrementó la proporción de pared celular, debido a pérdidas de los componentes solubles, pero parte de los componentes de la pared celular pudieron ser transformados en carbohidratos hidrosolubles. La degradación tendió a ser mayor cuando se agregó más de un 2 % de suero porque hubo un incremento en la fracción soluble **(a)**, mientras que no hubieron diferencias en la adición de 5 y 10%. A pesar que los procesos de ensilaje favorecieron la degradación de la pared, la adición del suero de queso disminuyó este efecto.

Al estudiar los cambios producidos en los compuestos nitrogenados Cajarville y col. (2003 c) observaron que, al comparar el silo con el forraje fresco y el premarchitado, existían aumentos significativos en la fracción soluble **(a)**, de entre un 5 y un 10 %. La fracción potencialmente degradable **(b)** en el ensilaje, llegó a ser un 20% menor que en el premarchitado, y 16% menor que en el forraje fresco. Esto evidenció que la degradación de la proteína en los silos, se vio reflejada en el aumento de la fracción soluble **(a)**.

Como se puede apreciar en la revisión, existe abundante información disponible sobre como el proceso de ensilaje puede afectar la degradabilidad del N. Lo mismo sobre el efecto que provocan distintos tratamientos que se realizan sobre los ensilajes sobre las materias nitrogenadas del material ensilado. Sin embargo no abundan los datos con respecto a cambios producidos en los carbohidratos estructurales (aprox. 50% de la MS) que son provocados por el proceso del ensilaje o por los tratamientos aplicados para mejorar el proceso. Por otra parte si bien se dispone de suficiente información sobre la utilización de distintos aditivos, no se

no ser los trabajos realizados por el equipo de investigadores que dirigen esta Tesis. Se considera que el presente trabajo aportará información sobre como se afecta la degradabilidad de paredes celulares del forraje original con el proceso de ensilado y del efecto de la aplicación de diferentes dosis de suero de quesería utilizado como aditivo.

#### **4. OBJETIVOS DEL TRABAJO**

Los objetivos del presente trabajo fueron:

##### **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar el efecto del uso de los aditivos en ensilajes de praderas sobre el aprovechamiento ruminal.

##### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Estudiar el efecto del uso de melaza y de diferentes dosis de suero de queso sobre la degradabilidad ruminal de la materia seca (**MS**).

Estudiar el efecto del uso de melaza y de diferentes dosis de suero de queso sobre la degradabilidad ruminal de las paredes celulares.



## **5. MATERIALES Y METODOS**

### **5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL**

El trabajo fue realizado en el Campo Experimental N° 2 (ruta 1, Km. 42,500, Libertad Departamento de San José) y en el laboratorio de Nutrición Animal de Facultad de Veterinaria.

Los forrajes originales se obtuvieron en el campo experimental, partiendo de tres praderas con pasturas implantadas caracterizadas por poseer diferentes proporciones de gramíneas y leguminosas en su composición.

**Cuadro I** Composición de Praderas

	<b>Gramíneas</b>	<b>Leguminosas</b>	<b>Restos Secos</b>	<b>Otros</b>
<b>Pradera</b>	49.54	26.13%	17.7%	5.6%

Este forraje sin premarchitar y micro picado fue colocado en microsilos, los mismos eran sellados herméticamente, conteniendo 20 litros con drenaje para efluentes, luego se adhirieron los aditivos.

Sobre cada la pradera seleccionada se realizaron los siguientes tratamientos:

Ensilaje sin aditivos

Ensilaje + 5% de melaza

Ensilaje + 2% de suero de queso

Ensilaje + 5% de suero de queso

Ensilaje + 10% de suero de queso

Transcurridos 60 días se abrieron los microsilos y se tomaron muestras que se congelaron, previo análisis de composición química. Estos microsilos fueron los que se utilizaron para la incubación ruminal.

Las muestras de los microsilos se utilizaron en "pool" correspondientes a cada tratamiento, y fueron incubadas junto a muestras del forraje original en el rumen mediante la técnica in situ. Se evaluó la degradabilidad ruminal para materia seca, paredes celulares fibra neutro detergente, y fibra ácido detergente.

## 5.2 DEGRADABILIDAD RUMINAL

La degradabilidad ruminal se realizó en tres vacas adultas de la raza Holando, canuladas en el saco dorsal del rumen. Las mismas fueron alimentadas en un nivel de mantenimiento, consumiendo forraje por pastoreo directo de pradera a lo que se le agregó silo de pradera y grano húmedo de maíz, quedando compuesta la dieta por dos tercios de forraje y un tercio de concentrado. (ARC 1984)

Cada una de las 15 muestras mas las 3 praderas originales fueron molidas a un tamaño de 1 mm y colocadas en bolsas de nylon de 21 x 10.5 cm conteniendo 8 gramos de muestra, (Hungtington, 1997) teniendo cada pool 47 bolsitas, totalizando 846 muestras. Las muestras fueron incubadas con cadenas de 70 centímetros de longitud, en cada una de las cuales se colocaron siete anillos; cada uno compuesto por siete muestras. Las muestras fueron fijadas a la cadena por precintos de plástico. Las bolsitas fueron retiradas a las 3, 6, 12, 24, 72 y 96 horas de haber sido colocadas. La hora 0 de incubación se determinó por lavado en agua corriente de tres bolsas por alimento sin incubación. El secado se realizó en estufa por 24 horas a 60 °C. Las muestras se analizaron para MS, FND, FAD, se modelizaron y se determinó la cinética de degradación ruminal de acuerdo al modelo de Orskov y McDonald (1979)

$$d = a + b(1 - e^{-kd \cdot t})$$

donde: **a** es la fracción soluble (%)

**b** es la fracción potencialmente degradable (%)

**kd** es la velocidad de degradación de la fracción b (%/h).

A partir de estos parámetros se determinó la fracción indegradable (c) como:

$$c = 100 - (a+b)$$

Para la cinética de degradación de la FND y la FAD se consideró que  $a = 0$ , dado que a esa hora no se registró pérdida de material. La degradabilidad efectiva se determinó para materia seca (**MS**), fibra neutro detergente (**FND**) y fibra ácido detergente (**FAD**). Utilizando 2 ritmos de tránsito digestivo diferentes, 6% / h (de 06) y 3% / h (de 03) La fórmula utilizada fue:

$$\text{de 06} = a + (bc) / (c + 0.6) \quad \text{de 03} = a + (bc) / (c + 0.3)$$

### 5.3 ANALISIS QUIMICOS

Las muestras incubadas fueron analizadas para materia seca (**MS**), de acuerdo a las normas de la AOAC (1984). Fibra neutro detergente (**FND**), Fibra ácido detergente (**FAD**) de acuerdo con Goering y Van Soest (1970).

En el cuadro II se presenta la composición química de los forrajes y los ensilados utilizados.

**Cuadro II** Composición química del forraje fresco y de los ensilados con y sin tratamientos. (*MS* Materia seca, *FND* Fibra neutro detergente, *FAD* Fibra ácido detergente)

Tratamientos	MS %	FND %	FAD %
Fresco	19.42	60.73	44.87
0	18.60	58.39	43.98
Mel	20.75	55.12	42.67
S 2%	18.23	60.04	45.15
S 5%	18.32	58.14	45.95
S 10%	18.75	58.35	43.74

*Fresco: pradera sin ensilar; 0: control, ensilados sin aditivos; Mel: con adición de melaza al 5 %; S 2, 5, 10%: con adición de suero de quesería al 2, al 5 y al 10%*

#### 5.4 ANALISIS ESTADISTICO

Los distintos parámetros de la cinética de degradación (**a, b, kd, c, de 06 y de 03**) fueron comparados entre tratamientos por análisis de varianza. Las medias para los diferentes tratamientos y forrajes fueron comparadas mediante contrastes ortogonales.

Los contrastes realizados fueron (Forraje Fresco vs. Silos); (Silos sin Tratamientos vs. Ensilados con Aditivos); (Melaza vs. Suero 2%, 5% y 10%); (Suero al 2% vs. Suero al 5% y 10%), (Suero al 5% vs. Suero 10%). Para el análisis estadístico se utilizo el Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., Cary, NC USA 1989).

## 6. RESULTADOS

En el cuadro III se presenta el efecto de los diferentes tratamientos aplicados a los forrajes ensilados sobre los distintos parámetros que afectan la degradabilidad de la materia seca.

**Cuadro III** Efecto del ensilado, del agregado de melaza y de lactosuero sobre la degradabilidad de la materia seca (**MS**) de forrajes (**a**: fracción soluble; **b**: potencialmente degradable; **kd**: tasa de degradación de la porción potencialmente degradable; **c**: fracción indegradable; **de 06 y de 03**: degradabilidad efectiva usando un  $k_p$  de 0.06 y 0.03/hora).

Tratamiento	a	b	kd	c	de 06	de 03
Fresco	30.28	47.94	3.917	21.78	48.83	51.63
0	27.10	52.76	3.224	20.18	44.79	55.78
Mel	32.21	47.72	3.740	20.07	49.99	51.24
S 2%	26.51	51.70	3.623	21.79	45.16	55.10
S 5%	28.43	49.83	3.402	21.75	45.34	53.02
S 10%	30.37	51.51	3.049	18.12	46.68	54.38
ESM	0.392	1.422	0.188	0.640	0.433	1.297
fresco vs. silo	0.002	0.092	0.018	ns	<0.001	ns
0 vs. adit	<0.001	ns	ns	ns	<0.001	ns
mel vs. S 2+5+10%	<0.001	0.062	0.087	ns	<0.001	0.071
S2% vs. S5+10%	<0.001	ns	0.095	ns	ns	ns
5% vs. S10%	<0.001	ns	ns	0.024	0.014	ns

*Fresco: pradera sin ensilar; 0: control, ensilados sin aditivos; Mel: con adición de melaza al 5 %; S 2, 5,10%: con adición de suero de quesería al 2, al 5 y al 10%; ns: no significativo ( $P>0.05$ ); ESM: error estándar de las medias*

El proceso de ensilaje provocó una reducción de la degradabilidad efectiva de la MS. El mayor valor fue para el forraje fresco al compararlo con la media de los distintos ensilados (48.83% vs.46.38%). Dentro de los ensilados, el menor valor lo mostró el realizado sin aditivo (44.79%) y el mayor, el realizado con melaza (49.99%). Entre los tratados con lactosuero el mayor guarismo lo presentó el silo tratado con lactosuero al 10% (46.68%)

Sin embargo, cuando se compararon los resultados usando una velocidad de tránsito más lenta (**de 03**) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

El forraje fresco presentó una mayor fracción soluble (**a**) que los ensilados ( $p=0.002$ ). Cuando se compararon los ensilados entre sí, los que se ensilaron con aditivos tuvieron mayor fracción soluble (**a**) que el ensilado sin aditivos ( $p<0.001$ ). A su vez, dentro de los que se ensilaron con aditivos, el ensilado con melaza fue el que mostró una mayor fracción soluble; seguido del que se ensiló con 10% de lactosuero. De los tratados con lactosuero el que se ensiló con un 2% fue el que presentó una menor fracción soluble (**a**).

Con respecto a la fracción potencialmente degradable (**b**) no hubo diferencias significativas entre los distintos tratamientos, pero sí tendencias a ser menor la del ensilado con melaza.

En cuanto a la fracción indegradable no se observaron diferencias significativas a excepción del ensilado adicionado con lactosuero al 10% el que presentó la menor (**c**) en comparación con el adicionado al 5%.

La velocidad de degradación (**kd**) fue mayor para el forraje fresco que para los materiales ensilados, siendo esta la única diferencia significativa encontrada

En el cuadro IV se presenta el efecto de los diferentes tratamientos aplicados a los forrajes ensilados sobre los distintos parámetros que afectan la degradabilidad de la fibra neutro detergente

**Cuadro IV** Efecto del ensilado, el agregado de melaza y la adición de lacto suero sobre la degradabilidad de la fibra neutro detergente (**FND**) (**b**: fracción potencialmente degradable; **kd**: tasa de degradación de la fracción **b**; **c**: fracción indegradable; **de 06** y **de 03**: degradabilidad efectiva usando un **kp** de 0.06 y 0.03/hora)

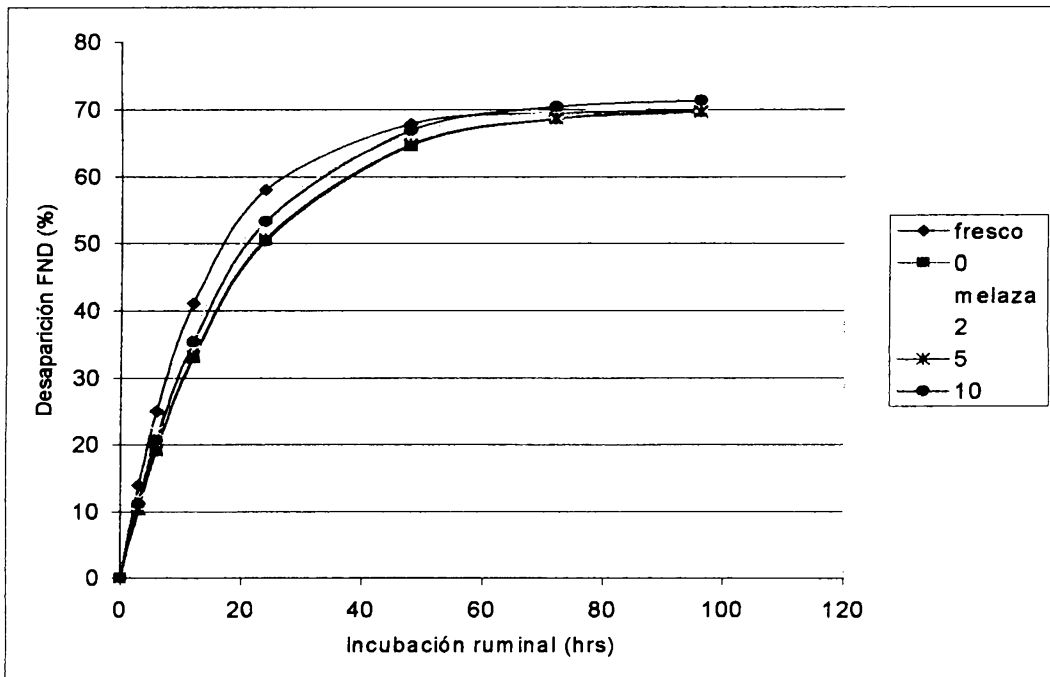
<b>Tratamiento</b>	<b>b</b>	<b>kd</b>	<b>c</b>	<b>de 06</b>	<b>de 03</b>
Fresco	69.82	7.401	30.18	38.13	49.25
0	70.09	5.270	29.91	31.26	42.96
Mel	70.63	5.772	29.37	32.85	44.46
S 2%	69.72	6.309	30.28	33.07	44.45
S 5%	70.11	5.352	29.89	31.21	42.83
S 10%	71.61	5.660	28.39	32.49	44.17
<b>ESM</b>	1.163	0.490	1.163	0.855	0.683
Fresco vs. silo	ns	0.002	ns	<0.001	<0.001
0 vs. adit	ns	ns	ns	ns	ns
mel vs. S 2+5+10 %	ns	ns	ns	ns	ns
S 2% vs. S 5+ 10 %	ns	ns	ns	ns	ns
S 5% vs. S 10%	ns	ns	ns	ns	ns

*Fresco: pradera sin ensilar; 0: control, ensilados sin aditivos; Mel: con adición de melaza al 5 %; S 2 5,10%: con adición de suero de quesería al 2, al 5 y al 10%; ns: no significativo ( $P>0.05$ ); ESM: error estándar de las medias.*

También al estudiar los efectos sobre las paredes celulares de los forrajes se aprecia que el proceso de ensilaje provocó una disminución de la degradación de las mismas a nivel ruminal. Al analizar la degradabilidad efectiva a una tasa de **06**, el forraje fresco fue 15.6% superior que los ensilados. A una tasa de **03**, también fue superior un 11.11%. Para los demás contrastes realizados no se encontraron diferencias significativas.

Al observar el cuadro IV podemos afirmar que no hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con respecto a la fracción potencialmente degradable (b).

Como muestra el cuadro IV, la tasa de degradación (kd) fue mayor para el forraje fresco que para los ensilados aunque entre los ensilados no hubo diferencias significativas. El mismo efecto se aprecia en la figura 2.



**Figura 2.** Degradabilidad de Fibra Neutro Detergente

En el cuadro V se presenta el efecto de los diferentes tratamientos aplicados a los forrajes ensilados sobre los distintos parámetros que afectan la degradabilidad de la fibra ácido detergente.



**Cuadro V** Efecto del ensilado, el agregado de melaza y la adición de lacto suero sobre la degradabilidad de la fibra ácido detergente (**FAD**) (**b**: fracción potencialmente degradable; **kd**: tasa de degradación de la fracción **b**; **c**: fracción indegradable; **de 06** y **de 03**: degradabilidad efectiva usando un **kp** de 0.06 y 0.03/hora)

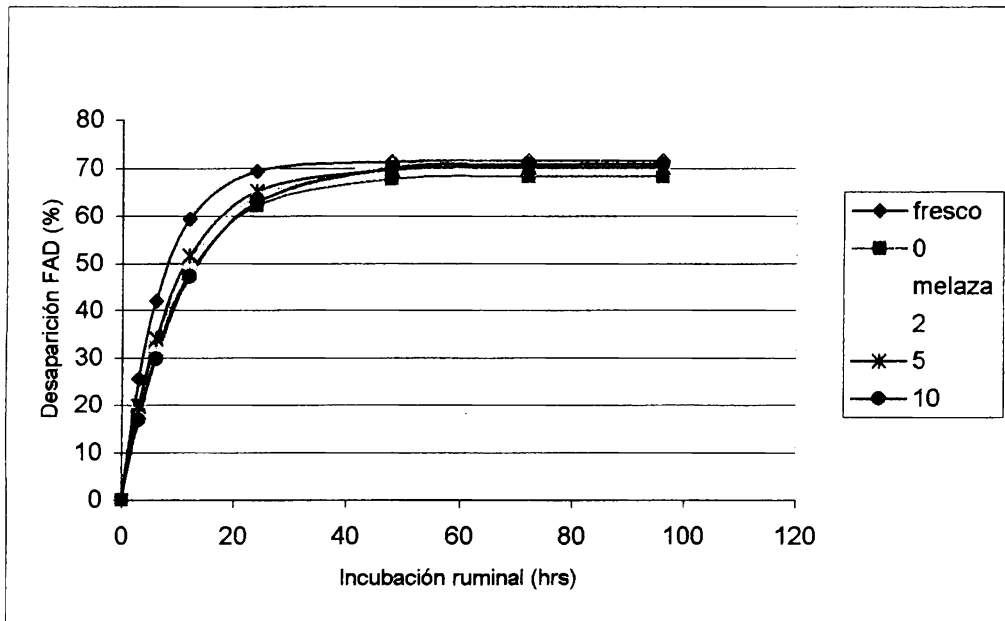
Tratamiento	<b>b</b>	<b>kd</b>	<b>c</b>	<b>de 06</b>	<b>de 03</b>
Fresco	71.35	14.81	28.65	48.23	57.37
0	68.23	10.11	31.77	41.22	51.16
Mel	71.00	10.34	29.03	43.59	53.83
S 2%	69.85	10.28	30.16	41.44	51.74
S 5%	70.04	11.10	29.96	42.75	52.75
S 10%	70.75	9.137	29.25	40.83	51.46
ESM	1.016	1.421	1.016	1.033	0.511
Fresco vs. Silo	ns	0.004	ns	<0.001	<0.001
0 vs. aditiv	ns	ns	ns	ns	ns
mel vs. S 2+ 5+ 10 %	ns	ns	ns	ns	0.047
S 2% vs. S 5+10%	ns	ns	ns	ns	ns
S 5% vs. S 10%	ns	ns	ns	ns	ns

*Fresco: pradera sin ensilar; 0: control, ensilados sin aditivos; Mel: con adición de melaza al 5 %; S 2, 5, 10%: con adición de suero de quesería al 2, al 5 y al 10%; ns: no significativo ( $P > 0.05$ ); ESM: error estándar de las medias*

El ensilaje provoca también una disminución sobre la degradación de la Fibra ácido detergente a nivel ruminal. La degradabilidad efectiva a una tasa de **06** del forraje fresco fue un 13 % superior que los ensilados. Mientras que a una tasa de **03** el fresco fue 9 % superior que los ensilados. La degradabilidad efectiva a una tasa de **03** los ensilados tratados con melaza fueron un 3.4% superior que los tratados con lactosuero.

Al observar los datos del cuadro V, no hubo diferencias significativas entre los distintos contrastes con respecto a la fracción **b**.

La tasa de degradación (**kd**) del forraje fresco fue superior a la de los ensilados. Los mismos efectos se aprecian en la figura 3



**Figura 3.** Degradabilidad de Fibra Ácido Detergente

## 7. DISCUSION

### 7.1 EFECTO DEL ENSILADO

Al considerar los resultados obtenidos en este trabajo, se observó que durante el proceso de ensilaje se produjo un descenso en la degradabilidad efectiva de la materia seca a una tasa de pasaje alta (**de 06**= 46.39%) al compararlo con el forraje fresco (**de 06**= 48.83%). La disminución en la degradabilidad estuvo relacionada con un descenso en la fracción soluble (**a**) (30.28 fresco vs. 28.92 ensilados) y en la tasa de degradación de la fracción b (**kd**) (3.91% fresco vs. 3.40% ensilados) (Cuadro III). Repetto y col. (2005) observaron el mismo efecto en la degradabilidad efectiva de los materiales ensilados, (**de 06**= 50.90% ensilados vs. fresco **de 06**=56.29%) explicado por una caída en la tasa de degradación de la fracción b (**kd**).

El descenso de la fracción soluble (**a**) fue atribuido a pérdidas de carbohidratos hidrosolubles, que se consumieron como sustratos por parte de los microorganismos en la fermentación de los ensilados. Por otra parte las proteínas solubles de las plantas se hidrolizaron transformándose en NH<sub>3</sub> y se volatilizan. La disminución de la taza de degradación de la fracción b (**kd**) estaría explicado que parte de los componentes de la fracción degradable se hidrolizaron durante la fermentación del ensilaje.

Aufrère y col. (1993), apreciaron una disminución en la degradabilidad efectiva de la materia seca en los ensilados, a una tasa de pasaje rápida (**de 06**= 58.30%), comparado con el forraje fresco (**de 06**= 68.10%). Este descenso fue relacionado con una disminución en la fracción soluble (**a**) y en la fracción potencialmente degradable (**b**), aumentando la fracción indegradable (**c**). Estos cambios fueron atribuidos a pérdidas volátiles de **MS** durante el ensilado. En trabajos realizados por Steg y col. (1990) se observó el mismo efecto.

Sin embargo no todos los trabajos indican la misma evolución en la degradabilidad ya que en otro trabajo realizado por Aufrère y col. (2003) se observó un aumento de la degradabilidad efectiva de la materia seca para forrajes ensilados al compararlo

con el fresco (**de 06**= 43.0 %, vs. **de 06**= 40.0%). El autor lo adjudica a una mayor fracción soluble (**a**) y una disminución de la fracción potencialmente degradable (**b**). Estos cambios fueron atribuidos a los procesos de fermentación del silo, en los cuales se produce hidrólisis de los carbohidratos estructurales de las plantas, aumentando la fracción soluble y disminuyendo la fracción potencialmente degradable coincidiendo con los trabajos de Janicki y Stallings, (1988); Verbic y col. (1999).

Coincidiendo con los autores mencionados anteriormente, Cushnahan y Gordon, 1995, apreciaron un incremento en la degradabilidad efectiva de la **MS** de forrajes ensilados (**de 05**=57.4%, **de 08**=52.4%, ensilado, **de 05**=51.8%, **de 08**=45.4%, fresco). Dicho efecto fue relacionado con un incremento en la fracción soluble (**a**) y una reducción en la fracción potencialmente degradable (**b**).

En trabajos realizados por Cajarville y col. (2003 b) también se observó un aumento en la degradabilidad efectiva de la materia seca de los materiales ensilados (**de 06**= 73.34%, **de 03**= 76.25%), comparado con el fresco (**de 06**= 70.47%, **de 03**= 74.20%). Observaron un aumento de la fracción soluble (**a**) y una reducción de la fracción potencialmente degradable (**b**), atribuido a que durante la fermentación parte de los componentes de la pared celular pudieron ser transformados en carbohidratos hidrosolubles, al igual que los resultados obtenidos por López y col. (1991).

La degradabilidad efectiva para **FND** en el presente trabajo, fue significativamente mayor para el forraje fresco (**de 06**= 38.13, vs. **de 06**= 32.17%) que para los ensilados (**de 03**= 49.25, vs. **de 03**= 43.77%), coincidiendo con Cajarville y col. 2003 (b). Esta disminución en la degradabilidad efectiva estuvo relacionada con un significativo descenso en la velocidad de degradación en el **kd** de los ensilados (7.40% fresco, vs. 5.67% ensilado). La baja en el **kd** se atribuyó a que parte de los componentes degradable de la planta fueron hidrolizados y utilizados como sustratos por parte de los microorganismos.

Al analizar la **FAD** se observó un descenso en la degradabilidad efectiva de los ensilados, 12.9% a una tasa de pasaje rápida y 9% a una tasa de pasaje lenta.

Esta tendencia también fue observada por Cajarville y col. (2003 b) atribuido a un descenso en los valores del **kd** (tasa de degradación de la fracción b).

Aufrère y col. 1993, al estudiar la degradabilidad de la fibra, encontraron una leve disminución en los valores de ensilados sin tratamientos (**FND de 06= 31.1%**, **FAD de 06=32.1%**) comparado con el forraje fresco (**FND de 06=37.7%**, **FAD de 06=35.2%**).

Acerca de la degradabilidad efectiva de la fibra neutro y ácido detergente, Cushnahan y Gordon, (1995) no encontraron diferencias significativas entre el forraje fresco y los ensilados.

Como se pudo apreciar el proceso de ensilaje disminuyó la degradabilidad efectiva de la materia seca y fibra de los forrajes. Esta disminución pudo deberse al consumo de componentes hidrosolubles durante los procesos de fermentación de los ensilados y a la hidrólisis de la pared celular.

## **7.2 EFECTOS DE LOS ADITIVOS**

Al analizar el efecto de los aditivos, se pudo apreciar que los ensilados que los incluían, presentaron una mayor degradabilidad efectiva de la **MS** a una tasa de pasaje alta, al compararlos con los ensilados sin tratamiento (con aditivos **de 06= 46.79%** vs. sin aditivo **de 06= 44.79%**). El aporte de aditivos aumentó la degradabilidad efectiva de la materia seca.

En estudios realizados por Nowak y col. (2004), no se encontraron diferencias significativas en la degradabilidad efectiva de la **MS** para ensilados con aditivos y sin aditivos.

Hetta y col. 2003 observaron una mayor degradabilidad de la materia orgánica en ensilados mezcla de gramíneas y leguminosas, realizados con melaza al 5%, respecto a los sin aditivos. Este efecto fue atribuido a que, en los ensilados sin aditivos, los procesos de fermentación continúan durante un periodo de tiempo más largo, degradando los azúcares de la planta en mayor proporción. Según los

autores, en ensilados sin aditivos, se demora más tiempo en llegar al pH óptimo para frenar la actividad microbiana. Además, de acuerdo con lo observado por Mc Kearsie (1985), existe la posibilidad de que se produzcan reacciones de Maillard en los ensilados sin tratamientos llevando a una disminución en la degradabilidad. En los resultados obtenidos en el presente trabajo, en los silos sin aditivos se pudo desencadenar el mismo efecto.

Tanto Riveros y col. (1994), como Dönmez y col. (2003), al analizar la calidad del silo, observaron un incremento de la materia seca y una disminución de la fibra en ensilados tratados con melaza al 5% como aditivo. Este efecto fue atribuido al aporte directo de **MS** que brinda la melaza y su baja cantidad de fibra. Por otra parte, el descenso en la fibra fue explicado por un estímulo por parte de la melaza, a las bacterias causantes de la degradación de la pared celular durante el ensilado (Muck 1990).

El aporte directo de materia seca y su bajo contenido en fibra que brinda la melaza se refleja en la mejora en la calidad del silo pudiendo ser causa del aumento de la degradabilidad efectiva del material ensilado.

Otro tipo de aditivo que favorece la degradabilidad de ensilados de pasturas, son las enzimas (celulasa y hemicelulasa), las cuales aportan sustratos indirectamente pudiendo ser comparado con la melaza que aporta sustratos directamente. Nadeau y col. (1996) mostraron una mayor degradabilidad de la **MS** para silos tratados con enzimas, debido a una disminución de la **FND** en un 19% con respecto a silos sin tratar, disminuyendo la fracción potencialmente degradable y la fracción indegradable de la **FND**.

Por otro lado en trabajos realizados por Jacobs y col. (1991) aplicando enzimas (celulasa y hemicelulasa) no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la degradabilidad de la **MS** entre los ensilados tratados y los controles, coincidiendo con los resultados obtenidos por Mandebvu y col. (1999), y Nadeau y col. (2000). Mientras que Dean y col. (2005) encontraron que los silos tratados previamente con enzimas mostraron una mayor degradabilidad de la **MS** in vitro.

El aporte de melaza estimula la multiplicación de las bacterias ácido lácticas provocando un efecto similar al producido por el aporte directo de estas bacterias. En trabajos realizados por Keady y Steen (1994) se observó una mayor degradabilidad de la **MS** para silos tratados con bacterias acidolácticas. Similar resultado obtuvo von Boderfeld, (2002) y Salawu y col. (2001).

Los datos obtenidos en este trabajo sobre la degradabilidad efectiva de la **MS** mostraron, en el contraste melaza vs. suero a una tasa de pasaje rápida, una superioridad del 8.52 % en los ensilados con melaza. Este incremento se vio reflejado en la fracción soluble (**a**), la cual fue 11.71 % mayor. Esta superioridad fue atribuida a que durante el proceso de fermentación del silo, los carbohidratos de las plantas fueron utilizados en menor medida, dado que la melaza aportó más sustrato para los lactóbacilos

Al comparar los ensilados tratados con distintas concentraciones de lactosuero, no hubieron diferencias significativas para la degradabilidad efectiva de la materia seca (2% vs. 5% +10%). Se observó un incremento en la fracción soluble (**a**) de la **MS**, al aumentar los porcentajes de lactosuero coincidiendo con Cajarville y col (2003 b).

La degradabilidad efectiva de la **MS** del silo tratado con lactosuero al 10% fue superior a la observada para el silo con lactosuero al 5%. Esta diferencia quedó de manifiesto al analizar la fracción soluble (**a**), la cual aumentó conjuntamente con el incremento del porcentaje de lactosuero, mientras que la fracción indegradable (**c**), disminuyó.

Cajarville y col. (2003 b), en un trabajo similar atribuyeron esto a que parte de los carbohidratos estructurales se hidrolizan durante los procesos de fermentación, aumentando así la porción soluble y disminuyendo la porción potencialmente degradable. En el presente trabajo no se observó este último descenso.

A su vez es interesante observar el incremento en la fracción soluble (**a**) al aumentar la cantidad de lactosuero agregado al material ensilado; lo que nos estaría indicando un consumo por parte de las bacterias ácido lácticas de la lactosa aportada por el suero.

indicando un consumo por parte de las bacterias ácido lácticas de la lactosa aportada por el suero.

Al comparar las distintas dosis de suero, los resultados obtenidos no presentaron diferencias significativas acerca de la degradabilidad efectiva de la **FND** y **FAD**. Cajarville y col. (2003 b) al contrastar ensilados a distintas dosis de lactosuero tampoco encontraron diferencias significativas. Sí observaron, una disminución en la degradabilidad de la **FAD** con suero al 10%, probablemente atribuido a pérdidas en la materia seca durante el ensilaje.

26.557



## **8. CONCLUSION**

Los materiales ensilados mostraron una reducción en la degradabilidad efectiva de materia seca y de las fibras neutro y ácido detergente al compararlos con el forraje fresco. Esta reducción se debió fundamentalmente a una disminución de la fracción soluble y de la velocidad de degradación de la fracción potencialmente degradable. La utilización de aditivos incrementó la degradabilidad de la materia seca pero sin afectar la degradación de las fibras. Al considerar los distintos tratamientos, los materiales tratados con melaza y con suero al 10% son los que mostraron los valores más altos de degradabilidad de la materia seca.

Doc. y E

## 9. BIBLIOGRAFIA

- Adesogan A.T., Krueger N., Salawu M.B., Dean D.B., Staples C.R. 2004** The influence of treatment with dual purpose Bacterial inoculants or Soluble Carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermuda grass. *J. Dairy Sci.* 87:3407-3416.
- Aldrich J.M., Muller L.D., 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.
- AOAC, Official methods of analysis (14 Ed.) 1984.** Assoc of Official Agric. Chemists Washington DC, USA.
- ARC (Agricultural Research Council) 1984.** The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, UK.
- Aufrère J., Boulberhane D., Graviou D., Demarquilly C. 1993.** Comparison of in situ degradation of cell-wall constituents, nitrogen and nitrogen linked to cell walls for fresh lucerne and lucerne silages. *Anim Zootech.* 43:125-134.
- Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C. 2002.** Protein degradation in the rumen of red clover forage at various stages of growth and conserved as silage or wrapped big bales. *Reprod. Nut. Dev.* 42:559-572.
- Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C. 2003.** Ruminal degradation of protein of cocksfoot and perennial ray grass as affected by various stages of growth and conservation methods. *Anim. Res.* 52: 245-261
- Bolsen, K.K., Ashbell, G., & Wilkinson, J.M. 1995.** Silage additives. *Biotech. Anim. Feeds and Anim. Feeding. Weinheim, Germany: VCH Press.* 3:33-54
- Bruno O.A., Romero L.A., Ustarroz E. 1997.** Forrajes conservados. *Invernada bovina en zonas mixtas, INTA (Centro regional de Córdoba).* 3:58-90.

**Carámbula M., 1977.** Producción y manejo de pasturas sembradas 1:41. *Hemisferio Sur. Uruguay*

**Cajarville C., Echarri V., Repetto J.L., 2001 a.** Utilización de lactosuero como aditivo para ensilaje de alfalfa: Primera comunicación. *VII Congreso Nacional de Veterinaria, 19-222 Montevideo-Uruguay*

**Cajarville C., Repetto J.L., Bengoa F., 2001 b.** Valor nutritivo de los sueros de quesería de CALCAR. Relevamiento preliminar. Informe técnico, CALCAR Carmelo, Uruguay.

**Cajarville C., Aguerre M., Britos A., Repetto J.L., 2003 a.** Effluent and N-NH<sub>3</sub> production dry matter and cell wall loses of forage ensiled molasses or fresh cheese whey as additives. *IX World Conference on Animal Production.*

**Cajarville C., Aguerre M., Echarri V., Repetto J.L., 2003 b.** Ruminant degradation of cell wall constituents of lucerne as fresh forage and lucerne ensiled with different doses of fresh cheese whey as additive. *IX World Conference on Animal Production.*

**Cajarville C., D'Alessandro J., Soto C., Curbelo A., Garin D., Repetto J.L., 2003 c.** Ruminant N degradability of fresh wilted and ensiled temperate forage. *Proc of the British Soc. of Anim. Sci. 172.*

**Cone J.W., Van Gelder A.H., Soliman I.A , De Visser H.,and Van Vuuren A.M. 1999.** Different techniques to study rumen fermentation characteristic of maturing grass and grass silage. *J. Dairy Sci. 82:957-966.*

**Cone J.W., Van Gelder A.H., Mothijsser-Kamman A.A., 2004.** Rumen escape protein in grass and grass silage determined with on nylon bag and a enzymatic technique. *Anim. Feed Sci and Tech. 411(1-4) 1-9*

**Corengia C.F., D'Alessandro J., Repetto J.L., Echarri V., Hareau M. 1989.** Evaluación de parámetros nutricionales en ensilajes de la cuenca lechera. *III Congreso Panamericano de la Leche. Punta del Este, Uruguay.*

**Cushnahan A., Gordon F.J. 1995.** The effects of grass preservation on intake, apparent digestibility and rumen degradation characteristics. *Anim. Sci. 60:429-438.*

**D'Alessandro J., Corengia C.F., Repetto J.L., Cajarville C., Echarri V., Hareu M. 1994.** Valor nutritivo de distintos ensilados en la alimentación del ganado lechero. *Veterinaria 29/4.*

**D'Alessandro J., Cajarville C., Curbelo A., Soto C., Garín D., Echarri V., Repetto J.L., 2000.** Variaciones en el fraccionamiento de la proteína de forrajes debido al premarchitado y al ensilaje. XVI Reunión Latinoamericana de Producción Animal. Montevideo-Uruguay 2:35-44

**Dean D.B, Adesogan A.T., Krueger N., Littell R. C. 2005.** Effect of fibrolytic Enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of Bermuda grass silage. *J. Dairy Sci. 88:994-1003*

**Djordjevic N., Grubic G., Glomic D. 2004.** Effect of the use of acetic acid as the conservant in lucerne ensiling. *J. Agric Sci. 59-64*

**Donmez N., Karsil M.A., Çinar A., Aksu T., Baytok E. 2003.** The effects of different silage additives on rumen protozoan number and volatile fatty acid concentration in sheep feed corn silage. *Small Ruminant Res. 48; 227-232.*

**Echarri V., D'Alessandro J., Cajarville C., Velázquez C., Repetto J. L. 1997.** Efectos de diferentes tratamientos sobre el ensilado de pradera. *Rev. Arg. Prod. Anim. 1:190-191.*

**Erdman R., 1993.** Silage fermentation characteristics affecting feed intake. *Proc. Natl. Silage Prod. Conf. Syracuse. 210*

**Florek S., Purwin C., Minakowski P., Stanek M., Tredowcz M. 2004.** The influence of formic acid additives on quality of silage from different plant material. *Veterinarija ir Zootechnika* 26: 23-28.

**FuYu Y., He Z., JianGuo H., YunWei Z. 2004.** The effect of adding formic acid and formaldehyde on *Melilotus alba* silage quality. *Acta Prataculturae Sinica*.13; 74-78.

**Goering H. K., and Van Soest P. J. 1970.** Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook N° 379, USDA*.

**Harrison J. H., Blauwiekel R., 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.

**Hetta M., Cone J.W., Gustavsson A.M. 2003.** The effect of additives in silages of pure timothy and timothy mixed with red clover and chemical composition and in vitro rumen fermentation characteristic. *Grass Forage Sci* 58; 249-264.

**Hristov A.N., Huntanen P., Rode L.M., Acharya S.N and McAllister T.M. 2001.** Comparison of the ruminal metabolism of nitrogen from N labeled Alfalfa preserved as hay or silage. *J. Anim. Sci.* 76:3146-3156.

**Hungtington G. B., 1997.** Starch utilization by ruminants: from basis to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-860.

**Jacobs J.C., Cook J.E., Mac Allan A.B. 1991.** Enzyme and silage additive. *Grass Forage Sci* 46:191-199.

**Jacobs J.C., Haines M.J., Mac Allan A.B., 1992.** The effects of different protein supplement on the utilization of untreated, formic acid treated or enzyme treated silage by growing steers. *Grass Forage Sci.* 47: 121-127.

**Janicki F.J., Stallings C. 1988.** Degradation of crude protein in forage determined by in vitro and in situ procedures. *J. Dairy. Sci*; 71:2440-2448

**Keady T.W., and Steen W.J. 1994** Effects of treating low dry matter grass with a bacterial inoculants on the intake and performance of beef cattle and studies on its mode of action. *Grass Forage Sci.* 50:217-226.

**Kim B. W., Kim G.S., Sung K.I. 2004 .** Effects of lactic acid bacteria and formic acid on the silage quality of whole crop rice at different maturity stage. *J. Korean Soc.* 24 61-70.

**Kramberger B., Gselman A., Podurnik M., Levart S., 2004.** Influence on bacterial inoculants on fermentation characteristics. *Sodobro Kmetijstvo.* 37:(5),13-18.

**Lopez s., Carro M.D., Gonzales J.S., 1991.** The effect of forage conservation and harvest season on the rumen degradation of forage harvested from permanent mountain meadows. *Anim. Prod.* 53: 177-182

**Mandevu P.J., West J.W., Froetschel M.A., Hatfield R.D., Gates R.N., Hill G.M. 1999.** Effect of enzyme or microbial or microbial treatments of bermuda grass forages before ensiling on cell wall composition, end products of silage fermentation and in situ digestion kinetics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 77:317-329.

**McAllister J. A., y Hristov A.N. 2000.** The Fundamentals of Making Good Quality Silage. *Agriculture and agric-food Canada Research Centre, Lethbridge, AB, Canada* TIJ4B1 [www.weds.afns/ualberta/ca](http://www.weds.afns/ualberta/ca)

**McDonald P., Edwards R.A, Greenhalgh J.F.D, 1988.** *Nutrición animal*; 4: 431-455. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

**Mc Gecham M.B.,1990** A Review of losses arising during conservation of grass forage. *J. Agric. Engineering Res.* 45: 1-30.

Mc Kearsie B.D., 1985. Effects of Ph on proteólisis in ensiled legume forages. *Agronomy J.* 77:81-86.

Muck, R.E., 1990 Dry matter level effects on alfalfa silages quality II Fermentation products and starch hydrolysis. *ASAE* 30:7-14.

Nadeau E.M.G., Buxton D.R., Lindgren E., and Lingvall P.,1996. Kinetics of cell-wall digestion of orchard grass and lucerne silages treated with cellulase and formic acid. *J. Dairy Sci.* 79:2207-2216.

Nadeau E.M.G., Buxton D.R.,Russell J.R.,Allison M.J., and Young J.W. 2000. Enzyme, Bacterial inoculant, and formic acid effects on de silage composition of Orchard grass and Alfalfa. *J. Dairy Sci.* 83:1487-1502.

Nocek J.E., and Grant A.L., 1987. Characterization of in situ nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forage preserved at different dry matter percentages. *J. Anim. Sci.* 64: 552-564.

Nousiainenena J., Ahvenj S., Rinnemb M., Hella M., Hunhtanen P., 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115: 295-311.

Nowak W. Potkanski A. Wylegalas S. 2004 The effect to additives on quality and nutrient degradability and digestibility of round bale silage. *South African J. Anim. Sci.* 34: 123-130.

Orskov E.R., 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.

Owens V.N., Albrecht K.A., Muck R.E., Duke S.H., 1999. Protein degradation and fermentation characteristics of unwilted red clover and lucerne harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. *Crop Sci.* 39:1873-1880.

**Owens V.N., Albrecht K.A., and Muck R.E. 2002.** Protein degradation and fermentation characteristics of unwilted red clover and lucerne silage harvested at various times during the day. *Grass Forage Sci.* 57:329-341.

**Pobednov Y. A. 2003.** Problems in ensilage of air dried grasses. *Kormoproizvodstvo* 5: 29-32.

**Randby A.T. 2000.** The effect of some acids base additives applied to wet grass crops under various ensilage conditions. *Grass Forage Sci.* 55 :289-299.

**Rees, T.J, 1997.** The Development of a Novel Antifungal Silage Inoculants. Thesis Doctoral Research. Cranfield University Biotechnology Centre, UK. *Review of the Literature.* [www.73.freeserve.co.uk](http://www.73.freeserve.co.uk)

**Repetto J. L., 1996.** Degradabilidad Ruminal de la Alfalfa Deshidratada. Tesis Doctoral. Departamento de Producción Animal, Universitat de Lleida. España.

**Repetto J.L., Britos A., Cozzolino D., Errandonea N., Cajarville C. 2003 a.** Nutritive value of lucerne and festuce during autumn relationship between soluble carbohydrates and nitrogen contents throughout the day<sup>1</sup>. *IX World Conference on Animal Prod.*

**Repetto J.L., Echarri V., Aguerre M., Cajarville C., 2003 b.** Dry matter organic matter and protein loses in lucerne ensiled using different doses of fresh cheese whey as additive<sup>1</sup>. *IX World Conference on Animal Production.*

**Repetto J.L., González J., Cajarville C., Alvir M.R., Rodriguez C.A., 2003 c.** Relationship between ruminal degradability and chemical composition of dehydrated lucerne. *Anim. Res.* 52:27-36.

**Repetto J.L., Cajarville C., D'Alessandro J., Curbelo A., Soto C., Garin D. 2005.** Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixture. *Anim. Res.* 54 73-80



**Riveros G. Edmundo., Saenz F., Laguna C., Agosín E., 1994.** Efectos del uso de manganeso y melaza de remolacha como aditivo en ensilajes de pradera naturalizada permanente de zonas templadas. *Avances en Producción Animal* 19:115-123.

**Rovira J., 1996.** *Manejo Nutritivo de los Rodeos de Cría en Pastoreo. Editado por Hemisferio Sur* 5:51-65.

**Salawu M.B., Warren E.H., Adesogan A.T., 2001.** Fermentation characteristics, aerobic stability, and degradation of ensiled pea/wheat bi-crop forages treated with two microbial inoculants, formic acid or quebracho tannins. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1263-1268.

**Salon P., van Soest P., Hougen D., van der Grinten M., 1994.** Apparent digestibility of eastern gama grass silage with and without silage enzyme additive. *Grassland Soc.* 122-124.

**Santos G.T., Oliveira R.L., Petit H.V., Cecato U., Zeoula L.M., Rigolon L.P., Damasceno J.C., Branco A.F. and Bett V. 2000.** Short Communication: Effects of tannic acid on composition and ruminal degradability of bermuda grass and alfalfa silages. *J. Dairy Sci.* 83:2016-2020.

**Selmen y Olsen 1994.** Enzyme as silage additive for grass-clover mixture. *Grass Forage Sci.* 49: 305-315.

**Selweet M., 2004.** Influence of formic acid growth the grass legume silage making. *Medicine Weterynaryna* 60: 763-765.

**Stefanie J.W.H., Oude E., Driehuis F., Gottschal J.C., Sierk F., Spoelstra 2000.** Silage fermentation processes and their manipulation. *www.fao.org. Electronic Conference on Tropical Silage.*

**Steg A., S.f. Spoeltra, J. M. Van der Meer, and V.A. Hindle 1990.**

Digestibility of grass silage. *Neth J.Agric.Sci* 38:407-422

**Turgut L., 2004.** In situ dry matter and crude protein degradation kinetics of some forage in eastern Turkey. *Small Ruminant* 52: 217-223.

**Van Soest P.J., 1994.** Nutritional Ecology of the Ruminant. *Forage Preservation* 14:213-229.

**Verbic J., Orskov E.R., Zgajnar J., Chen X.B., Znidarsic-Pongrac V., 1999.** The effect of method of forage preservation on the protein degradation and microbial protein synthesis in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 82. 195-213

**von Boderfeld W.O. 2002.** Additive applied in grass silage production as depending on cultivation intensity of grassland. *Anim. Sci. Papers Report.* 20: 41-48.

**von Keyserlingk M.A.G., Shelford J.A., Puchala R., Swift M.L, and Fisher L.J. 1998.** In situ disappearance of amino acids from grass silage in the rumen and intestine of cattle. *J. Dairy Sci.* 81:140-149.

**von Keyserlingk M.A.G., Swift M.L, Puchala R., Shelford J.A 1995.** Degradability characteristics of dry matter and crude protein of forage in ruminants. *Anim. Feed Sci Technol.* 57: 291-311.

**Yan T., Gordon F.J., Dawson L.E.R., Ferris C.P., Steen R.W.J., Kilpatrck D.J 1997.** The effects of wilting and additive type on energy utilization of grass silage by growing cattle. *Livestock Prod. Sci.* 51:141-150.