UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* EN GRANOS DE SORGO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE TANINOS Y HUMEDADES, EN DISTINTOS MOMENTOS DEL ENSILAJE

por

Fernando Javier ALEGRE CAMBRE
Juan Ignacio DELLEPIANE NAUAR

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa: _____
Dr.Sebastián Brambillasca

Segundo Miembro (Tutor): _____
Dra. Carmen García y Santos

Tercer Miembro: _____
Dra. Elena De Torres

Cuarto Miembro (Co-tutor): _____
Dr. Alejandro Britos

Quinto Miembro (Co-tutor): _____
Ing. Agr. Alejandro Mendoza

Autores: _____
Br. Fernando Alegre Cambre

_____
Br. Juan Ignacio Dellepiane Nauar

Fecha: 17 de diciembre de 2014.

AGRADECIMIENTOS

- A nuestra tutora la Dra. Carmen García y Santos, por sus ganas, apoyo incondicional y disposición.

- A nuestros co-tutores, Alejandro Britos y Alejandro Mendoza por orientación, buena disposición y todos los aportes.

- A Alejandra Capelli y Santiago Sosa por su ayuda y compañía.

- Al departamento de Nutrición, por colaborar con los materiales y por el apoyo que nos brindaron.

- Al personal de biblioteca por la ayuda en la búsqueda de material para la realización de este trabajo.

- A la Facultad de Veterinaria, por habernos dejado formarnos en su casa.

- A nuestras familias, amigos y compañeros por todo el aguante, apoyo y tiempo prestado.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN…….. 2
AGRADECIMIENTOS…….. 3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS…….. 5
RESUMEN…….. 6
SUMMARY…….. 7
INTRODUCCIÓN…….. 8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA…….. 9
CULTIVO DE SORGO…….. 9
Características del grano de sorgo …….. 9
CONSERVACIÓN DE GRANOS HÚMEDOS COMO ENSILAJE…… 11
Proceso de ensilaje…… 11
Efecto del contenido de taninos sobre la digestión del grano de sorgo ensilado húmedo…….. 13
TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO…….. 14
HIPÓTESIS…….. 17
OBJETIVOS…….. 17
OBJETIVO GENERAL…….. 17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS…….. 17
MATERIALES Y MÉTODOS…….. 18
DISEÑO EXPERIMENTAL…… 18
DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro*…….. 20
CÁLCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO…… 21
RESULTADOS…… 23
EXPERIMENTO 1…… 23
EXPERIMENTO 2…….. 25
DISCUSIÓN…… 30
EXPERIMENTO 1…… 30
EXPERIMENTO 2…… 31
CONCLUSIONES…….. 33
BIBLIOGRAFÍA…….. 34

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

Cuadro I. Características de los sorgos utilizados en los experimentos……..……..... 20

Cuadro II. Composición de las soluciones utilizadas en el medio de incubación para la producción de gas *in vitro* …..…….. 21

Cuadro III. Efectos principales de la variedad (alto o bajo en taninos) y de la apertura (0, 30, 90 y 180 días) sobre la producción de gas *in vitro* de granos de sorgo ensilados húmedos de cinco establecimientos productores lecheros……..…….. 24

Cuadro IV. Efecto de las variedades de granos de sorgo ensilados (altos y bajos en taninos), de los diferentes momentos de apertura (30, 90 y 180 días), y de los rangos de humedades de los microsilos sobre los parámetros de producción de gas *in vitro*……...……. 27

Figura 1. Diagrama de un cariopse de sorgo……..……... 10

Figura 2. Esquema del proceso de ensilado, etapas, principales insumos y productos……... 13

Figura 3. Volumen total de gas producido (V ml/g MS incubada) en función del tiempo (h) obtenido por el modelo experimental simple con latencia…….. 15

Figura 4. Esquema explicativo de la obtención de las muestras y elaboración de los microsilos……..…….. 19

Figura 5. Efecto del tiempo de ensilaje de las variedades altas en taninos (AT) y bajas en taninos (BT) sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd)……..... 25

Figura 6. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) y el momento de apertura sobre el volumen de producción de gas (a)……..…….. 28

Figura 7. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) y el momento de apertura sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd)…….. 29

Figura 8. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd) de granos de sorgo de variedades con alto (AT) o bajo (BT) contenido en taninos……..……..……..…… 30

Figura 9. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) sobre el tiempo de latencia (L) de granos de sorgo de variedades con alto (AT) o bajo (BT) contenido en taninos…….. 31

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

Uruguay presenta una superficie total de 17,2 millones de hectáreas, de las cuales 16,2 son dedicadas a distintas actividades agropecuarias. La superficie destinada a mejoramientos forrajeros es de 2,3 millones de hectáreas, siendo utilizadas en la alimentación del stock ganadero nacional (11,4 millones de bovinos y 8,2 de ovinos). Los cultivos cerealeros e industriales ocuparon 1,3 millones de hectáreas y de estas, 49.000 hectáreas correspondieron a cultivos de sorgo. En el año 2012 la producción de este cereal fue de 209.000 toneladas, con un rendimiento de 4.262 Kg/ha (DIEA, 2013).

Desde hace años, se intensifican cada vez más los sistemas agrícolas y ganaderos, debido a una mayor necesidad de productos y subproductos de origen animal a nivel mundial. En este contexto, se torna cada vez más difícil satisfacer las necesidades energéticas de los animales de alta producción utilizando pasturas como única fuente nutricional. Cuando hay escasez de éstas, se complementan o sustituyen por otros recursos. La utilización de granos de cereales como fuente de energía es una de las estrategias tecnológicas que ayudan a cubrir la demanda energética y logran balancear una dieta basada principalmente en pasturas naturales o sembradas.

Entre los granos más utilizados para la alimentación de los animales se encuentran el maíz y el sorgo (DIEA, 2013). Alguna de las ventajas que presenta este último en comparación con el maíz son, su menor costo de producción, mayor resistencia y recuperación, así como mejor producción de MS luego de períodos de estrés hídrico (Araújo y col., 2007). Este cereal se caracteriza por la presencia de taninos condensados (TC), que brindan resistencia al ataque de insectos, aves y hongos previo a la cosecha (Magalhaes y col., 1997). Sin embargo, a pesar de que poseen similares contenidos de almidón (70%), el valor nutritivo del sorgo es inferior al del maíz (Lanzas y col., 2007).

Uno de los factores que afectan el valor nutritivo del grano de sorgo es su contenido de TC. En ese sentido, existen trabajos que muestran valores de degradabilidad y digestibilidad menores en granos de sorgo con niveles altos de TC en comparación con los que presentan bajos niveles (D`Alessandro y col., 1997; Bianco y col., 2000). Otro factor de importancia es el procesamiento del grano, Rooney y Pflugfelder (1986) describen una serie de tratamientos, tanto secos como húmedos, que pueden aumentar la digestibilidad del grano de sorgo a niveles similares a los del maíz. En particular, el proceso de ensilaje de grano húmedo incrementa la degradabilidad ruminal del sorgo determinando un mayor aprovechamiento digestivo (Curbelo, 2010).

El presente trabajo pretende ampliar la información existente respecto al valor nutricional de granos de sorgo con diferentes concentraciones en taninos, que son ensilados con distinta humedad. Para ello, se usará la técnica de producción de gas *in vitro*, que de forma indirecta permite evaluar la disponibilidad de nutrientes de un alimento a nivel de rumen (Bruni y Chilibroste, 2001). Los resultados de este trabajo contribuirán con información útil al momento de optar por una variedad de sorgo para ensilar.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CULTIVO DE SORGO

El sorgo es una gramínea adaptada a diversas regiones del mundo y uno de los granos de mayor uso en la alimentación animal y humana (Chessa, 2001). Su metabolismo fotosintético es de tipo C4, por lo que posee alta eficiencia fotosintética y es muy eficiente en la utilización del agua, logrando producir granos con menor cantidad de agua que otros cereales (Bennett y Tucker, 1986). Además su fácil manejo y menores costos de producción, en comparación con otros cereales de verano, han llevado a que su cultivo se extienda a lugares de climas templado.

En el mercado existe gran variedad de sorgos, diferenciados por sus características morfológicas y productivas. Se agrupan en forrajeros, graníferos e híbridos de estos. Se clasifican además por la duración del ciclo y por la presencia o no de taninos, el color de los granos o por sus características productivas (Chessa, 2001; Coria, 2011). En cuanto a las características de los graníferos, se destacan sus cañas, las cuales presentan un diámetro de 1 a 1,5 cm, con panoja densa, y sus granos son de forma elíptica de color blanco, castaño claro o rojizo. (Gallo, 1987)

Características del grano de sorgo

La estructura del grano de sorgo se divide en tres grandes componentes anatómicos: el pericarpio, que es una capa que recubre y protege (8% del peso total), el germen del grano o embrión (7-12%) y el endosperma, tejido de almacenamiento del almidón que representa un 80 a 85% del total de la estructura del grano (Hubbard y col., 1950; Waniska, 2000).

El pericarpio generalmente está cubierto por una capa de cera. En esta capa protectora y la subyacente (la testa) se encuentran los taninos condensados de los genotipos altos en estos compuestos. Además, la testa presenta pigmentación oscura en esos genotipos. e re(m21)-4(o)6(t)-4 g1(076(d)-10(2m[(T)-21(

ann8(6..m(r)-3(1)(r08.8(6..m(r)-3(1(o)n(su)8<</)6(n)6(n8(63a)6(l)-1)d)6(16 0 1ri)1)1-2218 Tm6 0 1ri)-Ó6r(e)do T

de los alimentos que contienen taninos es afectada negativamente por la astringencia que generan estos compuestos (Kumar y Vaithiyanathan, 1990).

Las proteínas del grano de sorgo, fundamentalmente las que componen la matriz proteica de los endospermas periférico y córneo, también ejercen una gran influencia sobre su fermentación ruminal. Según Van Barneveld (1999), la disponibilidad del almidón a nivel ruminal está influenciada por la solubilidad y fermentación de las proteínas. En todos los granos de cereales, la matriz proteica es relativamente resistente al agua y a enzimas hidrolíticas. En el maíz y en sorgo la mayor parte de las proteínas son prolaminas llamadas kafirinas, pero particularmente en el sorgo hay una gran parte de ellas que poseen uniones intermoleculares disulfuro. A su vez las prolaminas son insolubles en líquido ruminal, por lo que afectarían negativamente la degradabilidad del almidón. La disrupción de la matriz proteica aumentaría la solubilidad de las proteínas, lo que incrementaría la hidrólisis enzimática del almidón (McNeill y col., 1975). Este componenete representa el 70 – 80% de la estructura de los granos de sorgo (Rooney y Pflugfelder, 1986).

CONSERVACIÓN DE GRANOS HÚMEDOS COMO ENSILAJE

Proceso de ensilaje

El ensilaje es una alternativa de almacenamiento y conservación de alimentos frescos. Con estas herramientas se logra transferir alimento de épocas de mayor producción a otras de menor potencial productivo (Scarpitta, 2008). Este método de conservación, se basa en la disminución del pH (acidificación) y la concentración de oxígeno (anaerobiosis), mediante acción de microorganismos fermentativos. La acidificación del medio inhibe la degradación de los componentes ensilados, logrando su conservación (Chiossone y col., 2011; Rovira y Velazco, 2012). Los productos de fermentación son ácidos orgánicos que se acumulan acidificando el medio, inhibiendo así el crecimiento de microorganismos (Acosta, 2010).

Según Rovira y Velazco (2012), cuando los granos son ensilados con humedades mayores a 40%, se producen efluentes que arrastran componentes nutritivos del material ensilado. Esto llevaría a una disminución del valor nutritivo del ensilaje aumentando el riesgo de proliferación de hongos toxicogénicos que alteran la calidad del grano y afectan la salud de los animales. A su vez, cuando la humedad es demasiado baja (menor al 20%), se corre el riesgo de que se generen grandes espacios con aire dentro de las bolsas, produciéndose una mayor respiración, llevando al sobrecalentamiento del material con la subsecuente pérdida de nutrientes.

La incorporación del ensilaje de grano húmedo de sorgo a los sistemas ganaderos, es una alternativa de intensificación que combina la rusticidad, buen comportamiento del cultivo y su utilización como grano húmedo para suplementar a los animales. El aumento de la humedad del grano y el procesamiento físico, logran mejorar la digestión del sorgo en los rumiantes. La buena cantidad de azúcares simples que contiene el sorgo, lo hacen ideal al

momento de seleccionar un cultivo para producir un excelente ensilaje. Además contienen niveles bajos de Proteína Bruta (7-9%), haciendo que el rápido descenso del pH no se vea afectado, como puede ocurrir en el caso de los ensilajes de pasturas. Las cuales presentan un mayor contenido en proteínas que podrían tener acción tampón (Rovira y Velazco, 2012).

Al cosechar y conservar los granos con humedad entre 25-36% (óptimo 30%) se logra aumentar la proporción de almidón desaparecido en el rumen así como también su velocidad de degradación, en comparación con granos secos (Caorsi y Olivera, 2005). Esto se debe a que los gránulos de almidón se encuentran más susceptibles a la digestión enzimática. Además, la discontinuidad de la matriz proteica permite el ataque de los microorganismos ruminales (Rooney y Pflugfelder, 1986). La fermentescibilidad de granos de sorgo mejora en ensilajes húmedos, ya que los gránulos de almidón con la humedad se vuelven más amorfos y susceptibles a la degradación. Además durante el proceso de ensilado ocurre una proteólisis con formación de compuestos nitrogenados solubles (Curbelo, 2010).

Huck y col., (1999) ensilaron granos de sorgo reconstituidos con diferentes niveles de humedad (20, 30 y 35%) y observaron que el descenso del pH fue más rápido y pronunciado al aumentar la humedad de los granos. Esto indicaría una fermentación más rápida y por ende una menor pérdida de nutrientes durante el proceso de ensilado.

Dentro del proceso de ensilado se presentan diferentes etapas que se pueden agrupar de la siguiente manera (Chalkling y Brasesco, 2003; Scarpitta, 2008; Acosta, 2010):

Fase I (Respiración o aeróbica): se produce luego de la cosecha hasta que el material es ensilado (no más de 72 horas). En esta etapa el material es atacado por microorganismos y se pierden nutrientes; por lo que debería ser lo más breve posible. Los valores de pH oscilan entre 6,5 a 6 (Chalkling y Brasesco, 2003).

Fase II (Fermentación heteroláctica o acética): esta fase comienza cuando ha disminuido la concentración de oxígeno y el pH del material bajó significativamente. Esto ocurre cuando bacterias acéticas consumen el oxígeno y los carbohidratos solubles para formar ácido acético (Chalkling y Brasesco, 2003). No dura más de 72 horas (Scarpitta, 2008).

Fase III (Transición): comienza cuando el pH ha disminuido (pH 5) y se logró la inhibición de las bacterias acéticas y comienza la proliferación de las bacterias lácticas. Iniciándose la fase de fermentación láctica (Chalkling y Brasesco, 2003).

Fase IV (Fermentación láctica): es la más larga de todas, finaliza cuando el pH del medio está entre 4 – 4,5. Cuando el pH llega a estos valores se inhibe el desarrollo bacteriano, lográndose así la estabilización del medio (Scarpitta, 2008). Las bacterias presentes en esta fase son las productoras de ácido

láctico, importantes para obtener una adecuada conservación (Chalkling y Brasesco, 2003).

Fase V (Estabilización): aquí el silo ya se encuentra estabilizado, con pH bajo. El mismo puede variar según el material ensilado, para silos de sorgo de grano húmedo (SGH) el pH óptimo está entre 4 y 4,5 (Chalkling y Brasesco, 2003; Scarpitta, 2008). Las características del material se conservan relativamente inalteradas hasta el momento de extraerlo para alimentar a los animales (Acosta, 2010).

Fase VI (Deterioro aeróbico): dicha etapa ocurre luego de la apertura del silo, cuando el material es suministrado a los animales, por ello este deterioro es un proceso inevitable que se puede dividir en dos etapas:

i) Al comienzo se produce la proliferación de levaduras y bacterias acéticas, las cuales producen la degradación de los ácidos orgánicos. Debido a lo antedicho, el pH del medio aumenta sobreviniendo la siguiente etapa.

ii) Aumento de la actividad de los microorganismos (mohos y bacterias) y de la temperatura, dando como resultado una disminución de la calidad del material ensilado.

En la figura 2 se muestran las etapas durante el proceso de ensilado.

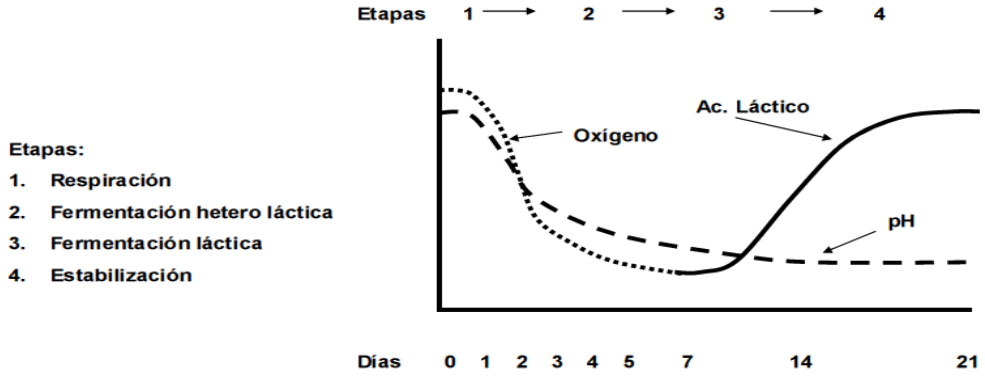

Figura 2. Esquema del proceso de ensilado, etapas, principales insumos y productos (Fuente: Acosta, 2010).

Efecto del contenido de taninos sobre la digestión del grano de sorgo ensilado húmedo

Para determinar la concentración de taninos condensados (TC) en los granos de sorgo comercializados en nuestro país, el Programa de Cultivos de Secano de INIA - La Estanzuela utiliza la técnica de Vainillina-HCl. Dicho método evalúa el porcentaje de catequinas, que estima la concentración de taninos condensados. Las variedades que contienen menos de 0,5%, son comercializadas como bajas en TC y las que tienen más del 1% son consideradas como altas en TC. Aquellos granos con concentraciones de TC entre 0,5 – 1% son considerados como variedades intermedias (Ing. Quím. Dr. Daniel Vázquez, comunicación personal, 2014).

Hibberd y col. (1982 y 1985), mencionan una menor degradabilidad de la MS de granos de sorgo de genotipos altos en taninos, en comparación con granos bajos en taninos. Según Cummins (1971) y Oliveira y col. (2009), el proceso de fermentación del ensilaje puede disminuir los niveles de taninos condensados en el sorgo. Esta reducción en los niveles de taninos, probablemente se deba a la inactivación de los mismos por las condiciones de pH bajo y anaerobiosis de los ensilajes (McSweeney y col., 2001) y debido a la degradación de taninos a polifenoles de bajo peso molecular (Kondo y col., 2004). A su vez si el ensilaje es de grano húmedo, el factor humedad haría que los gránulos de almidón y los cuerpos proteicos se volvieran más susceptibles a la degradación (Sullins y col., 1971).

La desactivación de los taninos producida por el almacenamiento anaerobio de granos de sorgo húmedos altos en taninos, mejora el valor nutricional de éstos granos (Reichert y col., 1980). Esto es debido a que en el proceso de ensilaje, el transcurso del tiempo permite que ciertos microorganismos ataquen por acción enzimática a los taninos, desactivándolos y disminuyendo la acción inhibitoria que estos ejercen sobre la degradación bacteriana (Bhat y col., 1998). Streeter y col. (1990), estudiando la degradabilidad ruminal y la digestibilidad intestinal de taninos, encontraron que un 72% de estas sustancias desapareció en el tracto digestivo, principalmente en rumen, aumentando la degradabilidad ruminal y disminuyendo la digestibilidad en intestino delgado.

Resultados de experimentos realizados a nivel nacional, comparando genotipos de sorgos altos y bajos en taninos, sobre la degradabilidad ruminal efectiva de MS y PB, plantean que no hubo diferencias significativas entre genotipos, aunque el genotipo bajo en taninos presentó una fermentescibilidad *in vitro* superior al alto en taninos y una menor digestibilidad intestinal para los bajos en taninos, que no se logró mejorar con el ensilaje. En este estudio se observó que el ensilaje incrementó el aprovechamiento digestivo y la fermentescibilidad de los granos de sorgo, además de provocar una disminución en el contenido en taninos y en proteína bruta (Curbelo, 2010).

TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO

La determinación de la digestibilidad de los alimentos puede ser realizada por métodos *in vivo* o *in vitro* (Van Soest, 1994). Los métodos *in vitro* proporcionan una alternativa más rápida, menos costosa y utilizan un número considerablemente menor de animales en comparación con los métodos *in vivo* (Stern y col., 1997). Entre los métodos *in vitro*, la técnica de producción de gas *in vitro,* que mide el gas producido como indicador indirecto de la fermentación. Así se determina la magnitud y la cinética de fermentación del alimento incubado (Theodorou y col., 1994; Rymer y col., 2005). Sirve para evaluar alimentos, investigar mecanismos de fermentación microbiana y estudiar factores anti-nutritivos, aditivos y suplementos alimenticios (López y col., 2007).

Esta técnica se basa en relaciones medidas entre la digestibilidad *in vivo* de los alimentos y la producción de gas *in vitro*, en combinación con la

composición química de los alimentos estudiados (Menke y Steingass, 1988). En ella se emplean un sustrato molido, un medio anaeróbico, sustancias tampón, diferentes inóculos (líquido ruminal, contenido intestinal, heces, otros) y temperatura constante a 39º C (Williams y col., 2005; Rymer y col., 2005). Los alimentos al ser incubados producen ácidos grasos volátiles (AGV), gases (CO_2 y CH_4 mayoritariamente) y células microbianas. El gas medido es el producido directamente por la fermentación e indirectamente por el tamponamiento del bicarbonato sobre los AGV. Por lo tanto, la producción de gas es el resultado de la fermentación de carbohidratos hasta los ácidos acético, propiónico y butírico (Getachew y col., 1998).

Mauricio y col. (2003), señalan que la técnica de producción de gas *in vitro* posibilitó estimar los valores de digestibilidad *in vivo*, comparando los datos obtenidos en las dos técnicas. Esto proporcionó información adicional sobre la cinética de fermentación ruminal de silos de sorgo. Entre las ventajas que proporciona la técnica de producción de gas podemos señalar el costo, mayor número de muestras analizadas simultáneamente, la descripción de la cinética de fermentación y el bienestar animal. Como desventaja, tenemos la falta de uniformidad en las metodologías, lo que dificulta la comparación entre grupos de investigación (Williams, 2000).

Los datos obtenidos por la técnica son analizados en base a modelos matemático para estimar la velocidad y grado de digestión de los alimentos a partir de los perfiles de producción de gas (López y col., 2007). El ajuste de los perfiles de gas acumulado a una apropiada ecuación permite resumir la información sobre la cinética (Williams, 2000). El análisis de datos, la comparación de sustratos y la evaluación de diferentes ambientes de fermentación es posible por la descripción matemática de las curvas de producción de gas (Noguera y col., 2004).

Las curvas de producción de gas pueden ser ajustadas a diferentes modelos matemáticos dependiendo de las condiciones experimentales y del tipo de sustrato. La elección del modelo debe considerar el ajuste matemático y la coherencia biológica de los parámetros (Posada y Noguera, 2007). Uno de los modelos utilizados es el modelo exponencial simple con tiempo de latencia (L) y una tasa de producción de gas constante, que depende del sustrato disponible una vez alcanzado el tiempo de colonización (Figura 3).

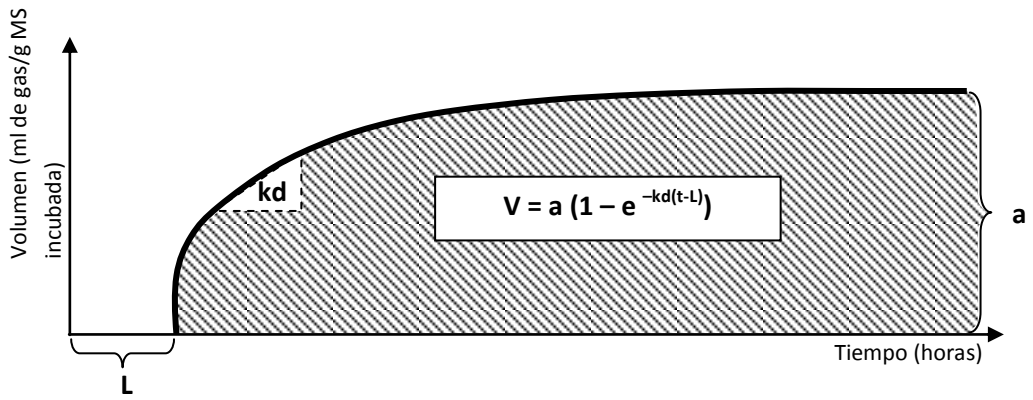

Figura 3. Volumen total de gas producido (V ml/g MSincubada) en función del tiempo (h) obtenido por el modelo exponencial simple con latencia. L: tiempo de retardo en la producción de gas (h); a = volumen de gas a un tiempo t (ml/g MSi); kd = tasa de producción de gas (%/h); t = tiempo de incubación (h) (Fuente: Ørskov y McDonald, 1979).

En la curva se puede distinguir 3 fases; una fase inicial donde ocurre la hidratación y colonización del sustrato insoluble por microorganismos ruminales, caracterizada por una lenta producción de gas. Cuando el sustrato es saturado por microorganismos y enzimas, aparece la fase exponencial, en esta, la parte más degradable del sustrato insoluble es degradada primero y luego lo hace el sustrato menos degradable. En esta fase, hay una rápida producción de gas. Finalmente cuando la fracción potencialmente degradable ha sido digerida, la producción de gas es cero coincidiendo con la última fase de la curva, la asintótica en la cual la producción de gas es lenta o casi nula.

En base a la información consultada, es de interés estudiar la

Cuadro I: Características de los sorgos utilizados en los experimentos.

Productor	Departamento	Fecha de siembra	Fecha de cosecha	Variedad de sorgo	Humedad a la cosecha (%)	Nivel de taninos[1]
1	Flores	27/11/09	12/05/10	Morgan 108 Híbrido	30,4	Alto
2	Flores	02/01/10	10/05/10	Flash 10 granífero	32,0	Bajo
3	Canelones	15/12/09	04/05/10	ACA 558 Híbrido	27,0	Alto
4	San José	28/12/09	08/06/10	ACA 546 Híbrido	27,0	Bajo
5	San José	11/12/09	01/05/10	ACA 558 Híbrido	29,8	Alto

[1]Según la clasificación realizada por INIA-INASE.

Las muestras fueron utilizadas como sustratos para evaluar su fermentescibilidad ruminal por medio de la técnica de producción de gas *in vitro*, utilizando como inóculo líquido ruminal obtenido de tres bovinos machos adultos castrados cruza Holando de 530 Kg de peso vivo provistos de cánulas ruminales. En las dos semanas previas a realizarse los ensayos, la dieta de los animales estuvo compuesta por 72% de grano de sorgo húmedo molido, 25% de harina de soja, 1% de urea, 0,6% de mezcla mineral y heno de alfalfa *ad-libitum.* Dicha dieta siguió inalterada hasta culminar los ensayos. El cuidado de los animales y la implantación de sondas ruminales fueron realizadas siguiendo el protocolo aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (C.H.E.A.) de la UdelaR, Uruguay.

DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro*

Se procedió de igual manera para los 2 experimentos, de acuerdo a la técnica descrita por Theodorou y col. (1994) modificado por Mauricio y col. (1999).

En el primer experimento se incubaron 60 frascos con sustrato (4 muestras de cada uno de los 5 establecimientos, cada una por triplicado). En el segundo experimento se incubaron 135 frascos con sustrato (el total de los microsilos). En ambos experimentos se colocó un frasco blanco (sin sustrato) cada 20 frascos con sustrato, estos actuaron como controles. Se incubaron 0,5 g MS de cada muestra en frascos de fermentación de vidrio de 125 ml. El medio de incubación agregado a cada frasco se compuso de 18 ml de la solución tampón Nº1, 18 ml de la solución tampón Nº2 y 4 ml de solución reductora (Mould y col. 2005) (Cuadro II). Se desplazó el oxígeno de los frascos mediante una corriente de CO_2, luego se cerraron con tapones de goma y se mantuvieron en heladera a 4º C durante 12 horas con el objetivo de hidratar el sustrato con el medio de incubación. Dos horas antes del agregado del inóculo (líquido ruminal fresco, proveniente de los individuos donantes) los frascos fueron colocados en un baño María a 39º C.

Cuadro II: Composición de las soluciones utilizadas en el medio de incubación para la producción de gas *in vitro* (modificado de Mould y col., 2005).

SOLUCIÓN TAMPÓN Nº1 (g/L de agua destilada)	
Na2HPO4.12H2O	1,985
KH2PO4	1,302
MgCl2. 6H2O	0,105
SOLUCIÓN TAMPÓN Nº2 (g/L de agua destilada)	
NaHCO3	5,418
NH4HCO3	1,407
SOLUCIÓN REDUCTORA (g/L de agua destilada)	
NaOH	0,100
Cysteina HCl	0,390

El inóculo fue obtenido de forma manual mediante fístulas ruminales y colocado en un recipiente térmico precalentado a 39º C. El líquido ruminal de los tres animales fue colocado en el mismo recipiente a medida que se extraían volúmenes iguales de cada individuo, obteniendo así una mezcla compuesta por partes iguales de cada uno. La misma fue llevada al laboratorio donde cada frasco de fermentación fue inoculado con un volumen total de 10 ml. Se eliminó el aire del interior de los frascos mediante una corriente de CO_2 y luego se sellaron con tapones de goma y precintos de aluminio, para colocarlos en el baño maría donde permanecieron hasta culminar el período de incubación.

Se incluyeron frascos sin sustrato como blancos, para corregir la fermentación propia del líquido ruminal. Las mediciones de la producción de gas se realizaron a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 48, 72 y 96 horas luego de iniciada la incubación con un manómetro digital (Cole Parmer Instrument Co., Vernon Hills, IL, USA) adaptado con una aguja hipodérmica 21G. Posterior a cada medición se procedió a liberar el gas para eliminar la presión dentro los frascos con una aguja igual. A continuación los frascos de fermentación fueron agitados suavemente, de forma manual, para mezclar el contenido.

Los valores de presión (psi) fueron transformados a volumen (ml) por medio de la siguiente ecuación $V= 4.40\ P + 0.09\ P^2$ (V es el volumen de gas en ml y P es la presión observada en el interior de los frascos en psi) determinada en un experimento anterior en similares condiciones.

CÁLCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de volumen de gas estimados se ajustaron por regresión no lineal analizados utilizando PROC NLIN de SAS® al siguiente modelo exponencial simple con tiempo de latencia: $V=a(1-e^{-kd\ x\ (t-L)})$ donde "V" (mL/g MS incubada) es la producción de gas acumulada a tiempo t, "a" (mL/g MS incubada) es la producción potencial de gas, "kd" (h-1) es la tasa fraccional de producción de gas y "L" (h) es el tiempo de latencia de la producción de gas.

Los resultados del experimento I se analizaron mediante PROC MIXED de SAS® de acuerdo al siguiente modelo:

$Y_{ijk} = \mu + G_i + A_j + (G*A)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$

Donde Y es la variable en estudio, μ es la media general, G*i* es el efecto fijo del genotipo de sorgos *i* (*i* = alto o bajo taninos), A*j* es el efecto fijo del momento de apertura de los silos (j = 0, 30, 90 y 180 días), (G*A)*ij* es la interacción entre el genotipo *i* y la apertura *j* y Ɛ*ijk* es el error residual. La unidad experimental fue el frasco de fermentación.

Para el experimento II, el análisis se hizo de acuerdo al siguiente modelo:

$Y_{ijhk} = \mu + G_i + A_j + H_h + (G*A)_{ij} + (G*H)_{ih} + (A*H)_{jh} + (G*A*H)_{ijh} + \varepsilon_{ijhk}$

Donde Y es la variable en estudio, μ es la media general, G*i* es el efecto fijo del genotipo de sorgos *i* (*i* = alto o bajo taninos), A*j* es el efecto fijo del momento de apertura de los microsilos (*j* = 30, 90 y 180 días) y se consideró H*h* el efecto fijo de humedad *h* (alta, media y baja), (G*A)*ij* es la interacción entre el genotipo *i* y la apertura *j*, (G*H)*ih* es la interacción entre el genotipo *i* y la humedad *h*, (A*H)*jh* es la interacción entre la apertura *j* y la humedad *h,* (G*A*H)*ijh* es la interacción de las tres variables entre sí, el genotipo *i*, la apertura *j* y la humedad *h;* y Ɛ*ijhk* es el error residual.

Se consideraron diferencias significativas cuando $P<0,05$ y tendencias cuando $P<0,10$.

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1

El nivel de taninos del grano de sorgo al momento del ensilaje no afectó la producción potencial de gas (a) ni el tiempo de latencia (L). El efecto del tiempo de ensilaje se evidenció en un menor tiempo de latencia en los días 90 y 180 de ensilaje con respecto a los días 0 y 30 (*P*=0,004). La tasa fraccional de producción de gas (kd) presentó una interacción entre variedad y momento de apertura. En este sentido, la velocidad de fermentación de los granos AT se incrementó 39% entre el día 0 y 180 de ensilaje (P<0,05), mientras que los granos BT aumentaron la velocidad 44% entre el día 30 y 90 (P<0,05). Sin embargo, solo se observaron diferencias entre variedades en el día 30.

Cuadro III. Efectos principales de la variedad (alto o bajo en taninos) y de la apertura (0, 30, 90 y 180 días) sobre la producción de gas *in vitro* de granos de sorgo ensilados húmedos de cinco establecimientos productores lecheros.

Parámetro	Variedad				Apertura						P Interacción Variedad x Apertura
	AT	BT	EEM	P	0	30	90	180	EEM	P	
a	326,9	320,9	6,541	0,518	324,3	331,3	328,2	311,9	9,30	0,478	0,757
kd	-	-	0,002	0,412	-	-	-	-	0,005	0,003	0,010
L	2,70	2,65	0,052	0,478	2,86[a]	2,67[a]	2,59[b]	2,59[b]	0,073	0,043	0,678

a: producción potencial de gas (ml de gas/g MS incubada); kd: tasa fraccional de producción de gas (h^{-1}); L: tiempo de latencia de la producción de gas (h); AT: variedad de sorgo alto tanino; BT: variedad de sorgo bajo tanino; 0: momento de cosecha; 30, 90 y 180: días de ensilados en silo bags; EEM: error estándar de las medias. P: nivel de significación.

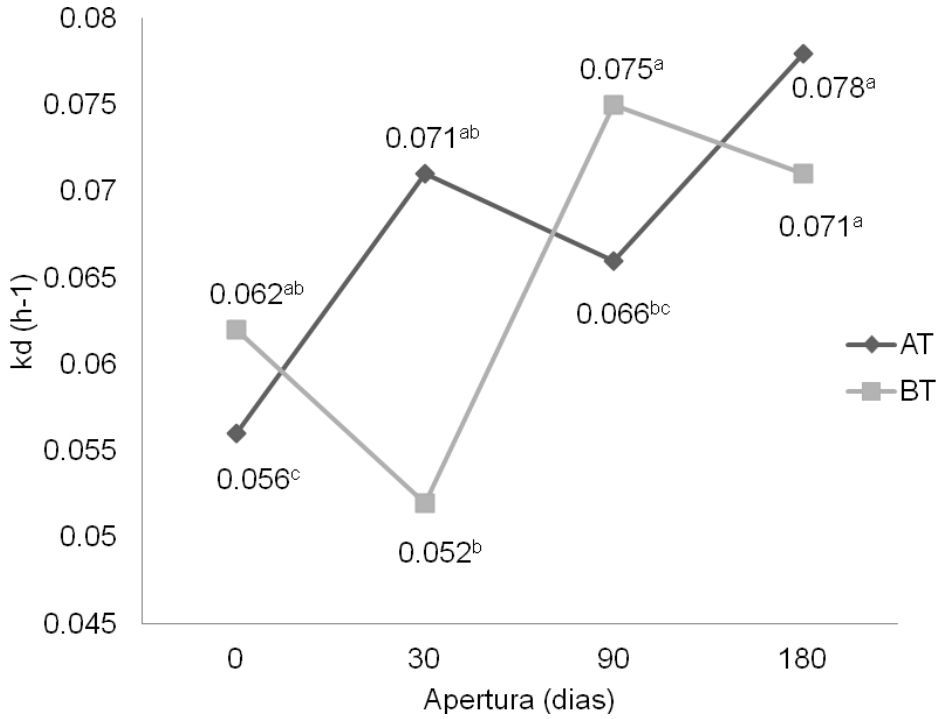

Figura 5. Efecto del tiempo de ensilaje de las variedades altas en taninos (AT) y bajas en taninos (BT) sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd) (las letras indican diferencias para cada variedad).

EXPERIMENTO 2

Como se puede observar en el cuadro IV el volumen de gas fue afectado por el nivel de taninos, produciendo las variedades BT más volumen que las AT. Además, para este parámetro existió una interacción significativa entre el tiempo de ensilaje y el contenido de humedad de los granos al momento del ensilaje ($P<0,05$). Los granos de sorgo ensilados con un rango de humedad entre 26 y 32% disminuyeron 30 mL de gas/g de MS incubada entre el día 30 y el día 180 de ensilaje ($P<0,05$) (figura 6).

Cuadro IV. Efectos de las variedades de granos de sorgos ensilados (altos y bajos en taninos), de los diferentes momentos de aperturas (30, 90 y 180 días), y de los rangos de humedades de los microsilos sobre los parámetros de producción de gas *in vitro.*

Parámetro	Variedad				Apertura					Humedad					P Interacción Variedad x Apertura	P Interacción Variedad x Humedad	P Interacción Apertura x Humedad	P Interacción Variedad x Apertura x Humedad
	AT	BT	EEM	P	30	90	180	EEM	P	H_1	H_2	H_3	EEM	P				
a	223,3[b]	259,7[a]	4,64	<,001	-	-	-	5,71	0,890	-	-	-	5,71	0,208	0,670	0,059	0,031	0,633
kd	-	-	0,002	0,490	-	-	-	0,002	<,001	-	-	-	0,002	0,007	0,470	0,007	0,002	0,863
L	-	-	0,04	0,360	2,72	2,73	2,75	0,04	0,820	-	-	-	0,04	0,731	0,540	0,012	0,052	0,508

a: producción potencial de gas (ml de gas/g MS incubada); kd: tasa fraccional de producción de gas (h^{-1}); L: tiempo de latencia de la producción de gas (h); AT: variedad de sorgo alto tanino; BT: variedad de sorgo bajo tanino; 30, 90 y 180: días de almacenado en microsilo; H_1: humedad baja (15-25%); H_2: humedad media (26-32%); H_3 humedad alta (33-42%); EEM: error estándar de las medias. P: nivel de significación.

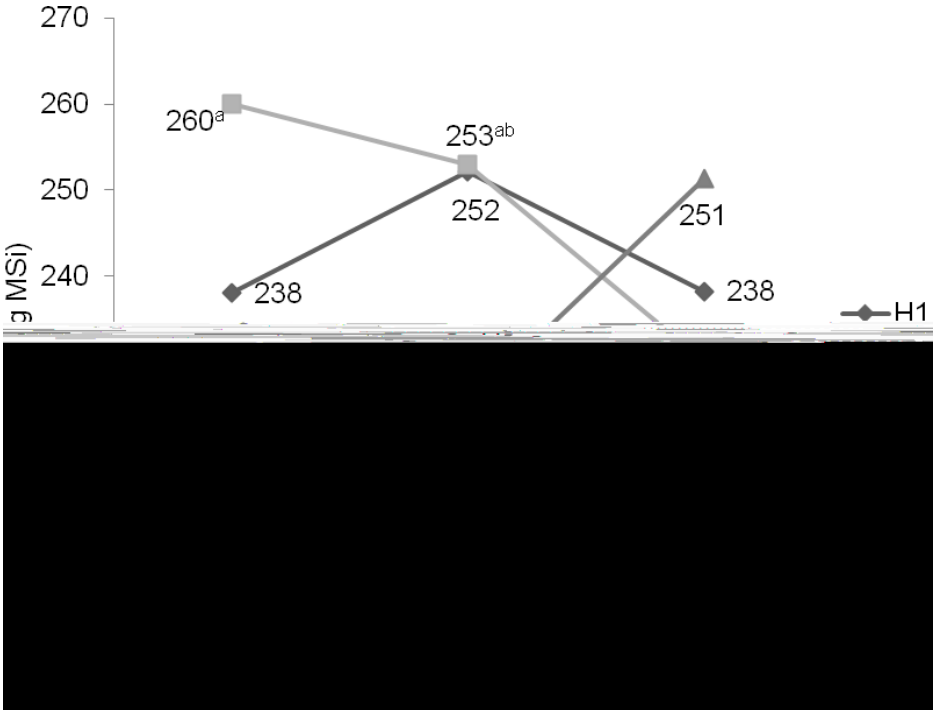

Figura 6. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) y el momento de apertura sobre el volumen de producción de gas (a) (Letras distintas indican diferencia significativa dentro del mismo rango de humedad).

En el caso de la tasa de producción de gas existieron interacciones entre variedad y humedad (P=0,007) y entre tiempo de ensilaje y humedad. (P=0,002). En la figura 7 se muestra el efecto del tiempo de ensilaje según el contenido de humedad del grano al momento del ensilaje, presentando los sorgos ensilados con humedad baja e intermedia mayores velocidades de fermentación en el día 180 de ensilaje que en los días 30 y 90.

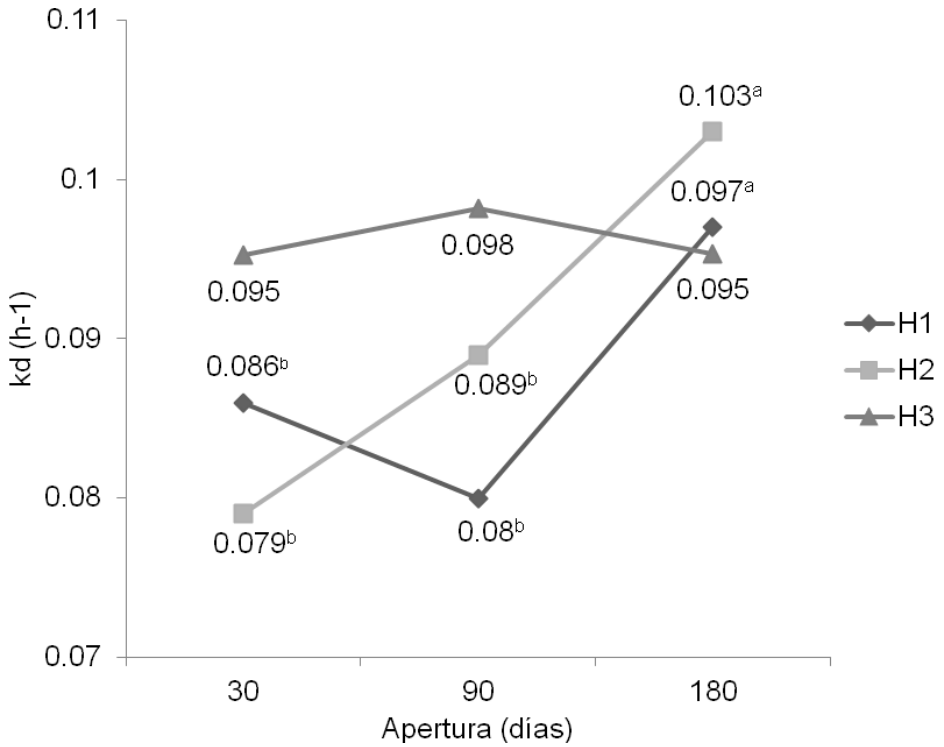

Figura 7. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) y el momento de apertura sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd) (Letras distintas indican diferencia significativa dentro del mismo rango de humedad).

En la figura 8 se observa que los sorgos BT fermentaron más rápido cuando fueron ensilados con humedad alta, mientras que los sorgos AT con humedad intermedia presentaron mayor tasa de producción de gas que con humedad baja.

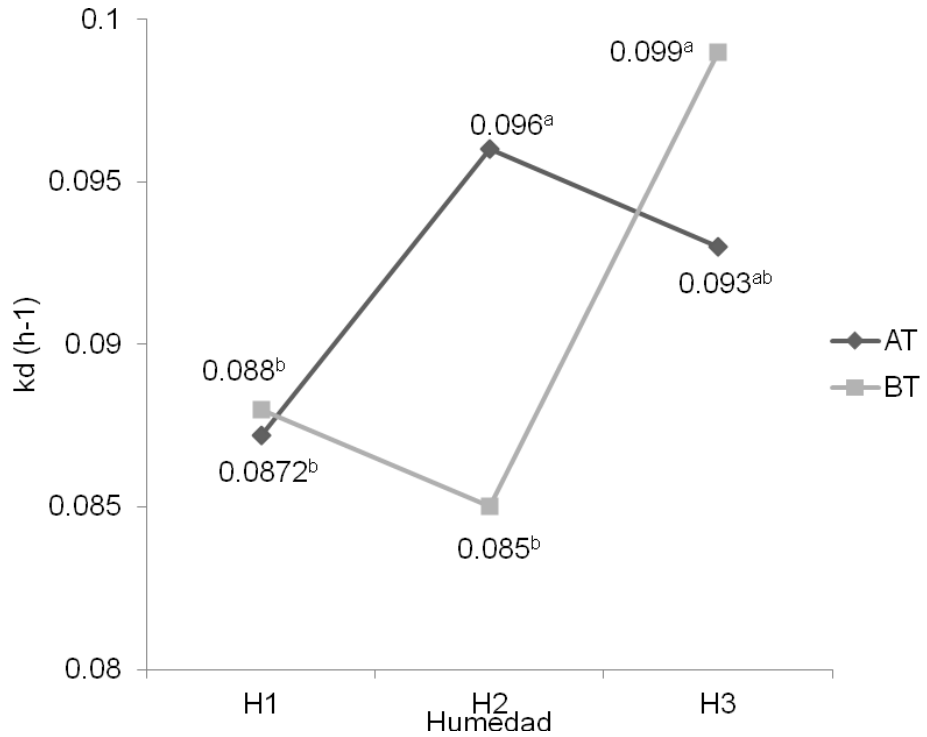

Figura 8. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) sobre la tasa fraccional de producción de gas (kd) de granos de sorgo de variedades con alto (AT) o bajo (BT) contenido en taninos (letras distintas indican diferencia significativa dentro de la variedad).

El tiempo de latencia (L) no se modificó a medida que transcurría el tiempo de ensilaje pero presentó una interacción significativa entre variedad y humedad al momento del ensilaje. Los sorgos bajos en taninos ensilados con humedad intermedia presentaron mayor tiempo de latencia que los ensilados con humedad baja (figura 9).

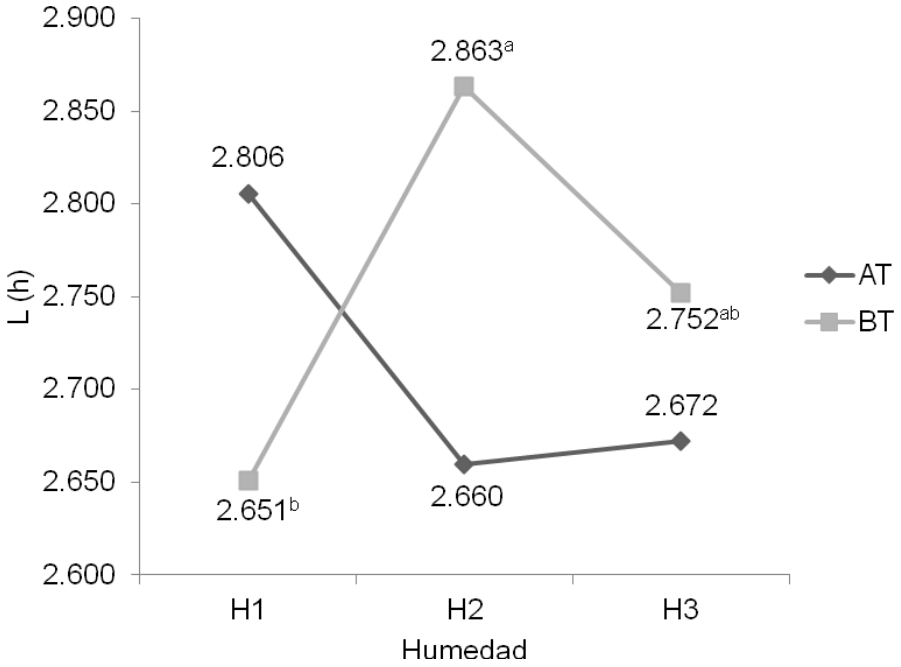

Figura 9. Efecto del rango de humedad (H1 = 15-25%; H2 = 26-32%; H3 = 33-42%) sobre el tiempo de latencia (L) de granos de sorgo de variedades con alto (AT) o bajo (BT) contenido en taninos (Letras distintas indican diferencia significativa dentro de la misma variedad).

DISCUSIÓN

EXPERIMENTO 1

En la evaluación de muestras obtenidas de establecimientos comerciales se observó el efecto beneficioso del proceso de ensilaje de grano húmedo sobre la fermentescibilidad ruminal *in vitro*, particularmente en las variedades catalogadas como altas en taninos condensados. Si bien se evaluaron ensilajes de variedades altas y bajas en taninos en estos experimentos, al momento del ensilaje (día 0) los granos de las variedades AT no se categorizarían como tales, ya que la concentración promedio de los AT fue de 0,70% y de los BT de 0,06% (Basilio y Orihuela, 2012). Esta menor concentración de taninos probablemente es debida a que el ensilaje de grano húmedo se realiza antes de la madurez fisiológica del grano, etapa en la que se alcanzan los niveles máximos de polifenoles y taninos (Waniska, 2000). Como consecuencia, las variedades AT no se diferenciaron de las BT en el tiempo para iniciar la fermentación ni en el volumen de gas producido. Según Magalhaes y col. (1997) y Waniska (2000), las concentraciones de taninos condensados por encima de las cuales podrían interferir con la digestibilidad de los nutrientes a nivel del tracto digestivo varían entre 3 y 15%, siendo superiores a los valores de las muestras usadas en este experimento.

Sin embargo, a medida que transcurrió el tiempo de ensilaje el tiempo de latencia disminuyó y la velocidad de fermentación aumentó. En este último parámetro el comportamiento de las diferentes variedades con el correr del tiempo fue diferente, pero el resultado final en ambas fue un aumento. Esto, podría deberse a una disminución de la concentración de TC durante el ensilaje (Cummins, 1971; Oliveira y col., 2009), fenómeno que ocurriría debido a las condiciones de bajo pH y anaerobiosis de los ensilajes (McSweeney y col., 2001). En nuestro experimento a los 180 días, la concentración de taninos del grupo AT había descendido significativamente a 0,21%, mientras que las concentraciones en los BT se mantuvieron constantes llegando a promediar 0,03% (Basilio y Orihuela, 2012).

Reichert y col. (1980) reportan que la desactivación de los taninos en el proceso de ensilaje de granos de sorgo húmedos altos en taninos, mejoraría el valor nutricional de los mismos. Esto se debería a que la fermentación ruminal está influenciada por las proteínas del sorgo y a su vez la disponibilidad del almidón por la solubilidad y fermentación de las proteínas (Van Barneveld, 1999). El ensilaje aumenta la solubilidad de las proteínas, dada por la lisis de la matriz proteica que rodea el almidón, lo que facilitaría su digestión enzimática (McNeill y col., 1975).

El tiempo de latencia en la producción de gas se vio disminuido al aumentar el tiempo de ensilado. Esto se podría explicar por el efecto beneficioso de este proceso sobre la fermentescibilidad de los granos (Reichert y col., 1980), facilitando la adhesión microbiana a las partículas del grano, lo que conduciría a una más temprana producción de gas.

EXPERIMENTO 2

El volumen total de gas producido fue mayor para las variedades BT en comparación con las AT. Hibberd y col. (1982 y 1985) y Curbelo (2010), también reportan mediante la técnica de producción de gas *in vitro,* una fermentescibilidad superior en granos de sorgo de genotipos BT en comparación con genotipos AT. Esto sería un efecto negativo de los taninos, ya que disminuyen la digestibilidad de los granos de sorgo, al formar complejos indigestibles con proteínas y almidón (Makkar, 2003). La extensión de la fermentación ruminal del grano de sorgo está influenciada por la disposición y características de la matriz de proteínas que recubren a los gránulos de almidón, por lo que su disponibilidad está influenciada por la solubilidad y fermentación de estas proteínas (Van Barneveld, 1999).

Si bien el volumen de gas disminuyó con el transcurso del tiempo en las muestras de humedad media, la velocidad de degradación aumentó en las muestras con humedad baja y media. De acuerdo a Lanzas y col. (2007) quienes compararon granos de sorgo, trigo, cebada y maíz, encontraron que el sorgo si bien llegaba a producir un volumen de gas total similar a los otros granos, la velocidad de degradación era la más lenta. En las condiciones en que se realizó este trabajo, podríamos decir que un mayor tiempo de ensilaje de los granos de sorgo, incrementó la velocidad de degradación mejorando el comportamiento de estos. Sin embargo, para el primer resultado no tenemos una explicación clara, porque lo esperable hubiera sido que el volumen de gas aumentara a mayor tiempo de ensilaje, ya que se ha observado que dicho proceso tiene un efecto positivo sobre el volumen de gas producido en granos de sorgo (Curbelo, 2010).

La mayor velocidad de degradación de los granos BT con humedad alta, y de los AT con humedad media y alta, podría deberse a que la humedad incrementa la degradación ruminal del almidón. Ésta se debe a la solubilización de la matriz proteica, que aumenta la susceptibilidad de los gránulos de almidón a la hidrólisis enzimática (Hibberd y col., 1985). En cambio, cuando el material es ensilado con humedad baja, no se compacta bien y se forman espacios de aire en las bolsas, lo que llevaría a pérdidas de nutrientes por fermentación aeróbica (Rovira y Velazco, 2012). Esto podría explicar la menor velocidad de degradación de los granos con humedad baja, independientemente de la variedad usada.

La humedad favorece la digestibilidad de los granos de sorgo independientemente del proceso de ensilaje. Esto explicaría porque las muestras con humedad alta de este experimento mostraron una alta tasa de degradación a los 30 días de ensilado. En cambio las muestras con humedad media y baja, necesitaron más tiempo de ensilado para mejorar la velocidad de producción de gas. Huck y col. (1999) demostraron que la reconstitución de granos de sorgo secos (hasta llegar a una humedad final de 25 -35 %) mejoró la digestibilidad de los mismos, asociado a una mayor digestión del almidón, sugiriendo que humedades mayores de 30%, podrían favorecer las características fermentativas y de digestibilidad en los rumiantes.

Al contrario de lo esperado, el tiempo L aumentó en las variedades BT con humedad media, en comparación con las de humedad baja, aunque si bien existe diferencia estadística, la diferencia numérica es de menos de 13 minutos. En cambio para las AT no varió entre las diferentes humedades y fue menor en comparación con las BT. Para este resultado, no encontramos explicación, ya que hubiera sido esperable una más rápida adhesión de los microorganismos en granos de sorgo con una estructura de los gránulos de almidón y de la matriz proteica menos compleja, como ocurriría en los BT. Por lo tanto, harían falta nuevos trabajos en esta línea para poder estudiar este efecto y encontrar una explicación al mismo.

CONCLUSIONES

Las diferentes variedades de granos de sorgo ensilado en predios lecheros comerciales, no mostraron diferencias en el volumen total de gas producido. Sin embargo, el proceso de ensilado favoreció la fermentescibilidad de los granos altos en taninos.

El comportamiento fermentativo de los granos de sorgo altos en taninos, se vio favorecido cuando estos fueron ensilados con porcentajes de humedad media. En cambio, los granos bajos en taninos, se comportaron mejor con rangos de humedad alta.

Un mayor tiempo de ensilado provoca respuestas favorables de los parámetros de fermentación, sobre todo, en los granos con altos taninos.

Incluso luego de culminada la estabilización del material ensilado, continurían ocurriendo procesos bioquímicos que modificarían el valor nutricional del material ensilado.

Si bien son necesarios más trabajos *in vitro* e *in vivo* para profundizar más sobre este tema, en las condiciones en que se realizaron estos experimentos, se podría decir que la utilización de granos de sorgo altos en taninos, lograrían los mismos efectos sobre la fermentación ruminal que los granos bajos en taninos. Siempre y cuando se tenga en cuenta la humedad de los mismos y el proceso de ensilado. Por lo que se podría aconsejar, que en caso de utilizar sorgos altos en taninos, los mismos sean ensilados con porcentajes de humedad media y durante períodos de almacenamiento mayores a 90 días.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta, Y. (2010). Ensilaje de grano húmedo de sorgo: detalles de confección y su efecto sobre el valor nutricional. Actividad de Difusión Nº604 INIA Treinta y tres. pp: 1-13.

2. Araújo, V.L., Rodríguez, N.M., Gonçalves, L.C., Rodríguez, J.A., Borges, I., Borges, A.L.C.C., Saliba, E.O.S. (2007). Qualidade das silagens de três híbridos de sorgo ensilados em cinco diferentes estádios de maturação. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 59(1): 168-174.

3. Basilio, D., Orihuela, J.J. (2012). Dinámica de los taninos condensados en cuatro genotipos de sorgo y su efecto en el tiempo y el desarrollo fúngico. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Uruguay. 48 p.

4. Bennett, W.F., Tucker, B. (1986). Producción moderna de sorgo granífero. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Disponible en: http://www.libreriaolejnik.com/ventana.php?codig=10111; Fecha de consulta: 5/5/2012.

5. Bhat, T.K., Singh, B., Sharma, O.P. (1998). Microbial degradation of tannins – A current perspective. Biodegradation. 9: 343-357.

6. Bianco, A., Goñi, V., Oholeguy, S. (2000). Efecto del procesado y el contenido de taninos del grano de sorgo sobre la composición química y la digestión de la materia seca en rumiantes. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_granos/04-taninos_del_grano_de_sorgo.pdf; Fecha de consulta: 07/03/2014.

7. Bruni, M.A., Chilibroste, P. (2001). Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 9(1): 43-51.

8. Caorsi, M.L., Olivera, A.P. (2005). Efecto del método de conservación de distintos materiales de grano de sorgo sobre la degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la materia seca. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Uruguay. 68 p.

9. Chalkling, D.J., Brasesco, R. (2003). ensilaje de grano húmedo: una alternativa promisoria. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/28-ensilaje_grano_humedo.pdf; Fecha de consulta: 16/04/2014.
10. Chessa, A. (2001). Calidad del sorgo granífero. Revista Agro Mercado. 62: 7-9. http://www.agromercado.com.ar/pdfs/062_sorgo_01.pdf; Fecha de consulta: 08/04/2014.

11. Chiossone, J., Misi, O., Vicini, R. (2011). Silaje de sorgo. INTA. Disponible en: http://inta.gob.ar/documentos/silaje-de-sorgo/ Fecha de consulta: 28/03/2014.

12. Coria, M.L. (2011). Calidad de sorgos según tipo y momentos de corte. Disponible en: http://inta.gob.ar/documentos/calidad-de-sorgos-segun-tipo-y-momentos-de-corte/at_multi_download/file/1.%20calidad_sorgo_segun_tipo_y_corte.pdf; Fecha de consulta: 10/03/2014.

13. Cummins, D.G. (1971). Relationship between tannin content and forage digestibility in sorghum. Agron. J. 63:500-502.

14. Curbelo, A.R. (2010). Ensilaje de grano de sorgo con diferente contenido en taninos: efecto sobre la composición química, degradabilidad ruminal, digestibilidad intestinal y fermentescibilidad. Tesis Magister en Ciencias Agrarias, Orientación Ciencia Animal. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Uruguay. 99 p.

15. D'Alessandro, J., Barlocco, N., Peinado, R., Garín, D. (1997). Digestibilidad, balance nitrogenado y energía de granos de sorgo alto y bajo en taninos para cerdos. Rev. Arg. Prod. Anim. 17(Sup. 1): 1-9

16. DIEA (2013). Anuario estadístico agropecuario 2013. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,754,O,S,0,MNU;E;27;9;MNU; Fecha de consulta: 09/06/2014.

17. Gallo, G.G. (1987). Plantas toxicas para el ganado en el cono Sur de América. 2º ed, Buenos Aires, Hemisferio Sur, 213 p.

18. Getachew, G., Blümell, M., Makkar, H.P.S., Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 72: 261-281.

19. Hibberd, C.A., Wagner, D.G., Schemm, R.L., Mitchell, E.D. Jr., Hintz, R.L., Weibel, D.E. (1982). Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grains. J. Anim. Sci. 55: 665-672.

20. Hibberd, C.A., Wagner, D.G., Hintz, R.L., Griffin, D.D. (1985). Effect of sorghum graana