

Características fermentativas y estabilidad aeróbica de ensilaje de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y su inclusión en dietas para ovinos

Por
Giovanna Emanuelli Oliver

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
en
Industria Pecuaria

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO DE MAYAGUEZ
2014

Aprobado por:

Abner Rodríguez Carías, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

John Fernández Van Cleve, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Paul Randel Folling, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Elsie I. Parés Matos, Ph.D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

José R. Latorre Acevedo, Ph.D.
Director, Departamento de Industria Pecuaria

Fecha

RESUMEN

La búsqueda de una fuente de fibra dietética durante la época de sequía en el trópico representa una necesidad urgente para muchos productores de carne. Debido a su disponibilidad y características agronómicas, la caña de azúcar (CA) vuelve a despertar interés como fuente de forraje útil para alimentar a los rumiantes. Esta investigación constó de dos experimentos, el primero *in vitro* y el segundo *in vivo*. El objetivo del primer experimento fue evaluar los cambios en la composición química de la CA fresca y fermentada (ensilaje de caña de azúcar, ECA) y determinar sus características fermentativas y la estabilidad aeróbica (EA). Muestras de CA fresca (31.13% materia seca, MS) y fermentadas en micro-silos (1.2 kg) por 30, 60, 90, 120 y 150 días se analizaron para determinar cambios en los contenidos de MS, carbohidratos solubles en agua (CSA), proteína bruta (PB), carbohidratos no fibrosos (CNF), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y hemicelulosa (HC); también se determinaron el pH y algunos productos fermentativos. Para evaluar la EA, el ECA de cada largo de fermentación fue expuesto al aire por 3 días con monitoreo de los cambios en pH y temperatura como criterios de deterioro. La composición química (base seca) determinada en la CA fresca fue: 86.35% materia orgánica (MO), 13.65% materia inorgánica (MI), 26.50% CSA, 3.58% PB, 29.47% CNF, 49.30% NDF, 35.33% ADF y 13.97% HC, en promedio. Después de fermentados por 30, 60, 90, 120 y 150 días, los componentes de la pared celular del ECA aumentaron a 71.30% FDN, 44.88% FDA y 26.72% HC. Los contenidos porcentuales de ácido acético (3.23), ácido láctico (3.01), etanol (6.37) y N-NH₃/N_{Total} (4.76) fueron los mayores productos de una fermentación fuertemente acídica (pH de 3.40). Exposición del ECA al aire por 24 horas resultó en marcados aumentos de temperatura y pH, indicativos de deterioro. Se concluye que durante el ensilamiento

del CA, se fermentan los CNF con mucha producción deseable de ácidos orgánicos, pero que también de mucho etanol indeseable y que el ECA es susceptible al deterioro aeróbico.

En el segundo experimento se estudió la inclusión de ECA, producido en bolsas plásticas de 55 galones al fermentarse por un mínimo de 45 días, como fuente de forraje en raciones completas mixtas (RCM). Se formularon dos RCM con las proporciones 60:40 de concentrado comercial (CC) y fuente de forraje (heno de gramíneas tropicales, HGT o ECA), designados T1 y T2, respectivamente. El ECA analizó un 28.75% MS, 3.50% PB, 69.63% FDN y un pH de 4. En una prueba con diseño de revisión de tratamientos, se alimentaron diariamente 8 ovinos maduros castrados con las dos RCM a un nivel de 3.0% del peso vivo (PV) en base seca. Cada uno de los períodos experimentales constó con 7 días de adaptación seguido por 5 días de recogido de las heces, en bolsas ajustadas al animal. Se llevó registro de las cantidades de RMC ofrecidas y rechazadas y de las heces excretadas y se tomaron muestras diarias de estos materiales que se combinaron para análisis químico. Los ovinos alimentados con T1 consumieron más MS (998 vs. 740 g/día) que los que recibieron T2, pero ocurrió lo contrario con respecto a la digestibilidad aparente de MS (57.35% vs. 51.24%). Se concluye que el uso del ECA como fuente alterna de forraje en RCM para ovinos es promisorio.

ABSTRACT

The search for suitable dietary fiber sources for use during the dry season in the tropics represents an urgent need for livestock producers. Because of its availability and agronomic characteristics, sugarcane (SC) is once again attracting interest as a useful forage resource for ruminant animals. The objective of this experiment was to evaluate changes in chemical composition of fresh and fermented SC and determine its ensiling characteristics and aerobic stability. Samples of fresh SC (31.13% dry matter, DM) and SC fermented in micro-silos (1.2 kg) for 30, 60, 90, 120 and 150 days were analyzed to determine changes in DM, crude protein (CP), non-fiber carbohydrates (NFC), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), water soluble carbohydrates (WSC) and hemicellulose (HC) content, also the pH and several fermentation products were determined. Sugarcane silage (SCS) was exposed to the air for 3 days while monitoring changes in pH and temperature as evaluation criteria of deterioration. The chemical composition (dry basis) analyzed in fresh SC was: 86.35% organic matter (OM), 18.65% inorganic matter (IM), 26.50% WSC, 3.58% CP, 29.47% NFC, 49.30% NDF, 35.33% ADF, and 13.97% HC. After ensiling for 30, 60, 90, 120 and 150 days, cell-wall components of the SCS increased (to 71.30%, NDF; 44.88%, ADF and 26.72% HC, on average). Acetic acid (3.23%), lactic acid (3.01%), ethanol (6.37%) and N-NH₃/N_{Total} (4.76%) represented the major fermentation products associated with a strongly acid fermentation (pH of 3.40). The SCS exposed to air for 24 h showed increases in pH and temperature, indicators of deterioration. In conclusion, during the fermentation period the NFC of the SC was fermented with a high production of desired organic acids but also of the undesirable product, ethanol. SCS is susceptible to aerobic deterioration.

In the second experiment the inclusion of SCS, produced in large plastic bags of 55 gallon capacity during at least 45 days of fermentation, was evaluated as a forage source in total mixed rations (TMR). The SCS analyzed 28.75% DM, 3.50% CP, 69.63% NDF and had a pH of 4. Two TMR were formulated with a 60:40 ratio of commercial concentrate (CC) and forage source (tropical grass hay, TGH or SCS), designated T1 and T2, respectively. In a feeding trial with a reversal of treatments design, 8 mature rams were offered the experimental TMR at a rate of 3.0% bodyweight on a dry basis daily. Each experimental period included 7 days of adaptation followed by 5 days of fecal collection in bags fitted to the animal. Data collected included feed offered,orts and fecal excretion; samples were collected daily and composited for chemical analysis. Rams fed TMR T1 (TGH + CC) had higher DM intakes (998 vs. 740 g/day) than those fed T2 (SCS + CC), whereas the opposite was true of apparent DM digestibility (51.24% vs. 57.35%). In conclusion, the use of SCS may prove to be a viable alternative forage source in TMR for rams.

DEDICATORIA

Este trabajo es dirigido a mis padres William R. Emanuelli y María L. Oliver, a mi hermano William Emanuelli, a mis abuelos Rafael Emanuelli (Q.D.G.) y Pedro I. Oliver (Q.D.G.), a mis abuelas Gladys I. Silva y Catalina Covas y última pero no menos importante, a mi bisabuela Ana A. Zayas (Q.D.G.), símbolos de esperanza y amor.

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo, gracias a Dios por permitirme comenzar y terminar esta fase de mi vida. Gracias a mi familia en especial a mis padres, William Emanuelli y María Luisa Oliver, a mi hermano William Emanuelli Oliver, por guiarme, apoyarme, comprenderme y motivarme a completar esta etapa de estudios. Gracias a Fausto Lugo Martínez, por toda su paciencia, ayuda y dedicación.

Gracias a mi mentor, el Dr. Abner Rodríguez Carías, por darme la oportunidad de trabajar como estudiante subgraduado en una investigación y por aceptarme como estudiante graduada. Además, le agradezco por permitirme viajar y presentar partes de ambas investigaciones y publicar en una revista científica la investigación subgraduada. La responsabilidad, la paciencia y la organización fueron entre los valores que pude aprender gracias a su ejemplo. Doy gracias al Dr. Paul Randel Folling por formar parte de mi comité graduado y por su precisión y exactitud al corregir la tesis. Doy gracias al Dr. John Fernández Van Cleve por formar parte de mi comité graduado, por su atención y colaboración al corregir la tesis. Doy gracias al director del departamento, el Dr. José La Torre, por su ayuda con la matrícula y su disposición. Agradezco a la representante graduada, la Dra. Elsie Parés Matos, por su colaboración con las correcciones y recomendaciones para la tesis.

Gracias a mis buenas amistades de maestría en especial al (Arod Team), Carlos Rosario, Viviana Rivera y Enrique Martínez, y a todos los que compartíamos y disfrutábamos de esas fiestas grupales inolvidables en familia. Doy Gracias a José Ariel Muñoz, Edgardo Cordero y a los trabajadores de la finca por su servicio y asistencia en todo momento. Agradezco al personal del Departamento de Industria Pecuaria en especial a la Sra. Sonia Miranda, a la Sra. Jacqueline Rivera y la Sra. Evelyn Rodríguez.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Resumen.....	ii
Abstract.....	iv
Dedicatoria.....	vi
Agradecimientos.....	vii
Tabla de contenido.....	viii
Lista de abreviaturas.....	xi
Lista de Figuras.....	xii
Lista de Tablas.....	xiii
1.0 Introducción.....	1
2.0 Objetivos.....	4
3.0 Revisión de literatura	
3.1 Historia de la caña de azúcar.....	5
3.2 La caña de azúcar de Puerto Rico.....	5
3.3 La caña de azúcar en la actualidad.....	6
3.4 La caña de azúcar como cultivo.....	7
3.5 Siembra y cosecha de caña de azúcar.....	8
3.6 Propiedades nutricionales de la caña de azúcar.....	8
3.7 Conservación de forraje.....	9
3.7.1 Ensilaje.....	9
3.7.2 Pasos del proceso de fermentación.....	11
3.7.3 Bioquímica de la fermentación.....	12
3.7.4 Microbiología del proceso fermentativo.....	13
3.7.5 Técnicas y factores que afectan la calidad del ensilaje.....	15
3.7.6 Productos de fermentación y calidad de los ensilajes.....	16
3.7.7 Estabilidad aeróbica.....	17

3.8	Consumo voluntario.....	19
3.9	Digestibilidad.....	20
4.0	Materiales y métodos	
4.1	Experimento I: <i>Características fermentativas y la estabilidad aeróbica de caña azúcar ensilada a diferentes largos de fermentación</i>	
4.1.1	Material vegetativo.....	22
4.1.2	Proceso fermentativo.....	24
4.1.3	Estabilidad aeróbica.....	25
4.1.4	Análisis estadístico.....	26
4.2	Experimento II: <i>Inclusión de ensilaje de caña de azúcar en raciones completas mixtas para ganado ovino</i>	
4.2.1	Material vegetativo.....	28
4.2.2	Facilidades y animales experimentales.....	28
4.2.3	Tratamientos experimentales y determinación de consumo voluntario y digestibilidad.....	29
4.2.4	Estabilidad aeróbica.....	31
4.2.5	Análisis estadístico.....	31
5.0	Resultados y discusión	
5.1	Experimento I	
5.1.1	Composición química de la caña de azúcar fresca.....	32
5.1.2	Composición química del ensilaje de la caña de azúcar.....	34
5.1.3	Características fermentativas.....	38
5.1.4	Estabilidad aeróbica.....	42
5.2	Experimento II	
5.2.1	Composición química del ensilaje de la caña de azúcar.....	46
5.2.2	Digestibilidad y consumo.....	47
5.2.3	Estabilidad aeróbica.....	52

6.0	Conclusiones.....	54
7.0	Implicaciones.....	55
8.0	Literatura citada.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

ADF	Acid detergent fiber	NDF	Neutral detergent fiber
AGV	Ácidos grasos volátiles	NFC	Non-fiber carbohydrates
BAL	Bacterias ácido lácticas	NNP	Nitrógeno no proteico
BS	Base seca	OM	Organic matter
CA	Caña de azúcar	PB	Proteína bruta
CC	Concentrado comercial (Commercial concentrates)	PV	Peso vivo
CNF	Carbohidratos no fibrosos	PVC	Polyvinil chloride
CP	Crude protein	RCM	Ración completa mixta
CSA	Carbohidratos solubles en agua	SC	Sugarcane
CV	Consumo voluntario	SCS	Sugarcane silage
DCA	Diseño completamente aleatorio	T1	Ración compuesta de CC + HGT
DM	Dry matter	T2	Ración compuesta de CC + ECA
EA	Estabilidad aeróbica	TGH	Tropical grass hay
ECA	Ensilaje de caña de azúcar	TMR	Total mixed ration
FDA	Fibra detergente ácido	WSC	Water soluble carbohydrates
FDN	Fibra detergente neutro		
GTN	Gramíneas tropicales naturalizadas		
HC	Hemicelulosa (Hemicellulose)		
HGT	Heno de gramíneas tropicales		
IM	Inorganic matter		
LF	Largo de fermentación		
MI	Materia inorgánica		
MO	Materia orgánica		
MS	Materia seca		

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Cambios que ocurren durante el proceso fermentativo para la producción de ensilaje.....	10
Figura 2. Productos de fermentación resultantes de la conversión de glucosa.....	11
Figura 3. Cambios en el ensilaje al entrar en contacto con el aire.....	18
Figura 4. Mapa con localización de Lajas, Puerto Rico (Google Maps - ©2013 Google).....	22
Figura 5. Protocolo previo a ensilar.....	23
Figura 6. Ilustración de los Micro-silos.....	24
Figura 7. Envase de poliestireno con las muestras y termómetros.....	25
Figura 8. Silo tipo bolsa con capacidad de 55 galones.....	28
Figura 9. Ovino con bolsa recolectora de heces.....	29
Figura 10. Cambios en temperatura observada durante 72 horas de exposición aeróbica en ensilaje de caña azúcar.....	45
Figura 11. Cambios en pH de la RCM conteniendo ECA expuesto a condiciones aeróbicas durante 3 días.....	52
Figura 12. Lectura de Temperatura (°C) de RCM conteniendo ECA durante 72 horas de exposición aeróbica.....	53

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Distribución de tratamientos asignados dentro de cada periodo.....	30
Tabla 2. Composición química de la caña de azúcar antes de ensilar.....	33
Tabla 3. Efecto del largo de fermentación sobre la composición química del ensilaje de caña de azúcar.....	35
Tabla 4. Composición química deseable en ensilajes de gramíneas.....	38
Tabla 5. Características fermentativas del ensilaje de caña de azúcar ensilado a diferentes largos de fermentación.....	40
Tabla 6. Efecto del largo de fermentación y días de exposición aeróbica sobre el pH de ensilaje de caña de azúcar.....	41
Tabla 7. Efecto del largo de fermentación y horas de exposición aeróbica sobre la temperatura (°C) de ensilaje de caña de azúcar.....	44
Tabla 8. Composición química de alimentos utilizados en la prueba de alimentación.....	47
Tabla 9. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de las RCM evaluadas.....	46

1.0 INTRODUCCIÓN

En Puerto Rico, la producción de pequeños rumiantes (ovinos y caprinos) es de tipo extensivo, donde predomina el pastoreo de gramíneas tropicales naturalizadas (GTN). Generalmente, bajo este tipo de régimen alimentario no se cumple con los requisitos nutricionales de ovinos y caprinos en producción (i.e. crecimiento animal). La suplementación con concentrados comerciales (CC) y otros ingredientes (i.e. residuos de cosechas) ha sido una opción para satisfacer dichos requerimientos. En la producción animal, la alimentación es el factor de mayor impacto económico y uno de los de mayor importancia biológica. Dependiendo en gran medida de la alimentación y nutrición que se le ofrezca al animal, será el producto final obtenido. La implementación de sistemas de alimentación innovadores como la utilización de raciones completas mixtas (RCM) debe ser evaluada para intensificar la producción de carne y leche ovina y caprina. Además, la RCM como sistemas de alimentación podría ser necesaria en la ganadería de Puerto Rico en un futuro cercano debido a limitaciones de terrenos agrícolas y las recurrentes épocas de sequía, factores que afectan negativamente la producción, disponibilidad y calidad de forraje fresco.

Las RCM se preparan al mezclar juntos los diferentes ingredientes (forraje, granos, aditivos, entre otros) necesarios en una dieta unitaria formulada para nutrir adecuadamente determinado tipo de animal. Teóricamente, el uso de RCM que satisfacen los requisitos nutricionales de ovinos y caprinos para carne acortaría el tiempo de alimentación hasta la matanza. Una de las limitaciones a la implementación de RCM en los sistemas de producción animal en la Isla lo es la disponibilidad de forraje adecuado para dicho uso. Las variaciones a través del año en cantidad y calidad de las GTN y la dificultad que presenta la producción de maíz y otros forrajes

alternos, tales como el sorgo y las leguminosas, hace necesaria la evaluación de otros potenciales fuentes de forraje.

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*; CA), es una gramínea tropical con un gran potencial agronómico. Es fácil de cosechar y se adapta a temperaturas cálidas 20-27°C (Kimberg et al., 2006). Es altamente resistente a patógenos y nemátodos, requiere relativamente poca fertilización y puede cosecharse a través de todo el año (Rosales, 2006). Banschbach y Letovsky (2010) señalaron que mientras el maíz debe ser regado frecuentemente y requiere fertilización intensiva la CA es todo lo contrario; no requiere de tan gran cantidad de agua y no hay que fertilizarla recurrentemente. Por lo tanto su producción podría ser menos costosa.

En 1936, Puerto Rico era uno de los mayores productores de CA en América Latina. Sin embargo, los aumentos en los costos de producción, entre otros factores, afectaron adversamente la industria azucarera local reduciendo y posteriormente eliminando las centrales azucareras. Éstas se extinguieron en el año 2003 con el cierre de la Central Coloso en Aguada. A nivel mundial, Brasil cosechó 238.9 millones de toneladas de CA en la zafra de 2003/2004. Cuatro años más tarde, en el 2008, se reportó una producción de 645.3 millones de toneladas colocándose como el mayor productor mundialmente. En Brasil se utiliza la CA no sólo como fuente de azúcar para consumo humano sino también como materia prima para la producción industrial del etanol y como alimento para animales rumiantes, ofreciéndola ya sea como forraje fresco o ensilada.

La literatura científica incluye estudios sobre la CA y sus subproductos como ingredientes en dietas para rumiantes realizados recientemente (Adrizal et al., 2012; Antunes et al., 2012; Midori et al., 2012; Valle et al., 2006). Sin embargo, en Puerto Rico no existen estudios recientes

sobre el uso potencial de esta fuente forrajera en dietas para pequeños rumiantes, ni sobre sus características ensilatorias y la estabilidad aeróbica del ensilaje. Por lo tanto, sería útil conocer el efecto de la duración de la fermentación sobre la calidad del ensilaje obtenido y su resistencia al deterioro aeróbico. Tampoco existe información local sobre la posible inclusión del ensilaje de la caña de azúcar (ECA) como fuente forrajera en RCM. La presente investigación se diseñó con el objetivo de evaluar las características fermentativas de la CA y la inclusión del ensilaje como ingrediente en RCM para ovinos.

2.0 OBJETIVOS

Determinar las características ensilatorias y estabilidad aeróbica de la caña de azúcar fermentada durante diferentes tiempos. Evaluar la inclusión de ensilaje de la caña de azúcar como fuente de forraje en raciones completas mixtas para ovinos.

3.0 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Historia de la caña de azúcar

La CA pertenece a la familia *Poacea*. Su centro de origen es Nueva Guinea, isla identificada como el primer lugar donde fue cultivada la misma (Macinnis, 2002). Posteriormente se distribuyó en Asia y los árabes se encargaron de trasladarla al Oriente Medio (Palestina, Siria, Arabia y Egipto) y a otros países de África. La CA era desconocida en el nuevo mundo hasta que en el 1493, Cristóbal Colón la introdujo a la Isla Hispaniola en su segundo viaje a América (Crist, 1948). En el 1501 llegó a Puerto Rico donde obtuvo mucha aceptación como endulzante. Con la colonización europea de las Américas, el Caribe se convirtió en el mayor productor de azúcar mundialmente. Durante el Siglo 18 ocurrió una revolución en los hábitos alimentarios cuando se popularizó la limonada, el chocolate, el té y el café. A todos estos alimentos se añadía el azúcar para mejorar su sabor. Por esta razón, el azúcar de la caña tenía mucha demanda mundialmente. A comienzos del siglo XX, el azúcar proveniente de la remolacha surgió como un gran competidor de la CA, llegando a producir en su apogeo hasta un 65% de la azúcar mundial. Ya para mediados del año 1980 fue lo contrario, la caña de azúcar aportaba un 63% a nivel mundial (Galloway, 2005).

3.2 La caña de azúcar en Puerto Rico

Fue alrededor del 1850 cuando se comenzaron a establecer las primeras centrales azucareras en la Isla. En el 1882, las centrales azucareras puertorriqueñas ganaron medallas y honores por la buena calidad del azúcar (Hernández, 1969). Los municipios mayores productores de la CA eran Ponce, Mayagüez y Guayama. En el 1936 existían aproximadamente 43 centrales azucareras locales con una zafra de 909,445 toneladas de azúcar. Para los años 1970-1972, la central Aguirre en Salinas era la mayor productora de azúcar y existían en la Isla seis refinerías, cada

una con su propia marca comercial: Guánica (Parrot), Santa Juana (Blanquita), Roig (Starlight), Río Llano (Eversweet), Igualdad (Brillante) y Mercedita (Snow White), siendo esta última la más próspera. Posteriormente la producción fue declinando hasta que en el año 2003 cerró la Central Coloso, última central puertorriqueña en operaciones.

Según Zayas (2008), en un momento dado la industria del azúcar local produjo un 60% del ingreso bruto de la Isla. El grano fino del azúcar producida y refinada en Puerto Rico dio fama a los azucareros puertorriqueños como verdaderos artesanos. Las principales razones de la decadencia de la industria azucarera en Puerto Rico fueron: la industrialización de la isla, la reducción de cuotas azucareras en la década de 1950, los requisitos ambientales impuestos en la década del 1970, la proliferación de convenios colectivos onerosos, la utilización de los mejores terrenos agrícolas para la construcción de viviendas y centros comerciales, la excesiva reglamentación y leyes laborales, los altibajos del mercado de azúcar, la falta de automatización e inversión en las centrales azucareras y refinerías y por último, la intervención gubernamental y su política de tratar la industria no como negocio sino como fuente de empleo (Zayas, 2003).

3.3 La caña de azúcar en la actualidad

La producción de la CA en los Estados Unidos se centra en el estado de Luisiana (Rochman, 2010). Mundialmente en 2008, Brasil se convirtió en el mayor productor con una producción de 648,921,280 toneladas, seguido por India, China, Tailandia, México, Pakistán, Australia, Colombia, Estados Unidos y Guatemala, en ese orden respectivo (Bindraban et al., 2009). Brasil, además de producir azúcar, utiliza el cultivo para la producción de etanol y aguardientes como la chaca, la cuarta bebida destilada más consumida en el mundo. Durante el 2003-2004 se produjeron aproximadamente 13×10^9 litros de etanol (Aronow, 2004) y más de mil millones de

litros de chaca se embotellan anualmente (Miszputen, 2007). Además, en Brasil se utiliza la CA, ya sea fresca o ensilada, como fuente de alimento para el ganado vacuno productor de leche o carne.

3.4 La caña de azúcar como cultivo

La caña de azúcar aventaja cualquier otro cultivo en varios aspectos. Se destaca como fotosintéticamente eficiente. Es una planta metabólicamente C_4 , por lo que sus cloroplastos aportan a la eficiencia en la captura y uso del CO_2 , incrementando la velocidad de la fotosíntesis. Por lo tanto, dispone de una enorme capacidad de producir masa verde al acumular mayormente almidones y azúcares compuestos, lignina, celulosa y agua (Subiros, 1995). Además, tolera condiciones extremas de temperatura y sequía. La caña de azúcar se aclimata al trópico y subtropico, manteniendo constantemente un producto de calidad. Es una planta semiperenne, lo que le permite generar una nueva cosecha después de cada corte; reduciendo así las inversiones monetarias en siembras sucesivas y requiriendo únicamente de mantenimiento. Tolerancia también condiciones de altura y se adapta desde el nivel del mar hasta los 1623 m.s.n.m. (Gómez, 1983). Todos estos y demás atributos sin mencionar, convierten a la CA en una planta necesaria e importante en la industria agrícola. Se estima que constituye la gramínea tropical mayor productora de biomasa con rendimientos hasta de 160 t/ha en el corte inicial y de 90-110 en el quinto a sexto corte (Martin, 2004).

3.5 Siembra y cosecha de la caña de azúcar

Se recomienda que este cultivo se siembre teniendo en consideración la temporada de lluvia y que se coseche en la temporada seca del año. El tiempo seco ayuda a que se concentre un mayor contenido de azúcar dentro del tallo. Al tratarse de caña para alimentar rumiantes, esta práctica es ideal ya que cosechándola en la época seca constituye un alivio para la escasez de forraje fresco causado por la sequía. Actualmente, la práctica corriente en Luisiana es sembrar la caña a una distancia de 0.91 m entre fila y fila y 0.46-0.61 m entre planta y planta (Shih y Gasho, 1980). El corte mecánico de la CA requiere maquinaria potente debido a la cercanía entre plantas. Al cosecharla es importante cortar el tallo a una altura no menor de 15.24 cm del suelo, adecuada para favorecer el rebrote de la planta.

3.6 Propiedades nutricionales de la caña de azúcar

Según Cuarón y Shimada (1981), la CA contiene un 15% de materia insoluble y 85% de materia soluble, constando esta última de 70% agua y 15% azúcar. Otros datos analíticos incluyen un 29% de materia seca, 2% de proteína, 20% de hemicelulosa, 27% de celulosa, 7% de lignina, 40% de azúcares solubles y 5% de cenizas en base seca (BS). Como alimento para animales, la CA es deficiente en su aporte de proteína. Se requiere la suplementación para compensar ese déficit proteico. Por el lado positivo, la CA produce materia vegetativa de alto contenido de energía, y alta digestibilidad en rumiantes. Se ofrece la CA a los animales en estado fresco, ya sea picada o molida, o luego de su conservación como ensilaje.

3.7 Conservación de forraje

La necesidad ha conducido al invento de diferentes técnicas para conservar y almacenar el forraje para usarlo cuando hay escasez por diversas causas. Los principales métodos de conservación son el heno, el henilaje y el ensilaje.

3.7.1 Ensilaje

El ensilaje es un método de conservación de forraje durante el cual el material vegetativo sufre una fermentación microbiana anaeróbica que lo acidifica. Los azúcares hidrosolubles presentes sirven de sustrato para los microorganismos con formación de ácidos orgánicos, entre estos, el ácido láctico (Weingerg et al., 2003). La práctica del ensilaje existe desde la antigüedad. En el 1887, el agricultor francés Auguste Goffart publicó su experiencia preservando forraje en silos para alimentar animales domésticos en tiempo de escasez (Brassley, 1996). Posteriormente, esta práctica se hizo popular especialmente en el campo de la ganadería.

En la producción de ensilaje, el material vegetativo fresco debe tener un contenido de 65-70 % de humedad para su uso. Además, los materiales vegetativos para ensilar deben contar con un contenido adecuado de carbohidratos solubles en agua (CSA) mayormente monosacáridos y polisacáridos; y un contenido no muy alto de carbohidratos insolubles en agua o estructurales ni de compuestos nitrogenados por la capacidad amortiguadora de éstos (Midori et al., 2011). La prevalencia de bacterias productoras de ácido láctico (BAL) durante la fermentación sobre otros microorganismos asociados a la producción de ensilaje (i.e. coliformes, hongos, levaduras) es otro factor crítico para lograr los procesos fermentativos

deseados. Si la fermentación está controlada por las BAL en rápida multiplicación, el ácido láctico formado disminuye el pH durante las etapas iniciales del proceso (Figura 1).

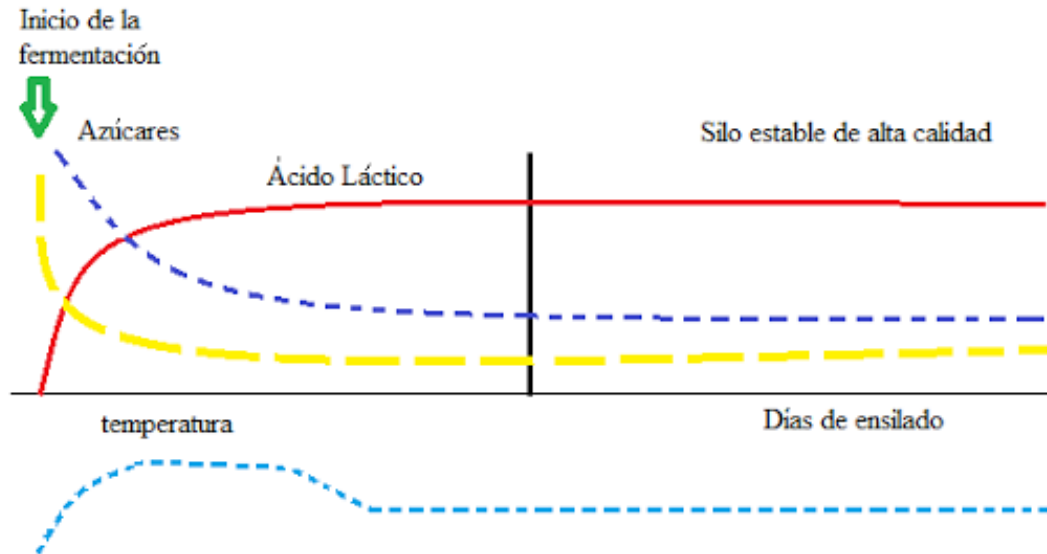


Figura 1. Cambios que ocurren durante el proceso fermentativo para la producción de ensilaje

De igual manera, la ausencia de oxígeno no permite que levaduras y hongos crezcan ni afecten adversamente el proceso de fermentación. La temperatura aumenta mientras los microorganismos siguen en plena actividad fermentativa consumiendo sus sustratos. A medida disminuye la disponibilidad de éstos ocurren la estabilización del ensilaje.

3.7.2 Pasos del proceso de fermentación

El proceso de ensilaje se ha dividido en seis fases fermentativas sucesivas que se describen como sigue (Shroeder, 2004):

Fase 1: La primera fase es aeróbica, cuando sigue la respiración celular del material vegetativo y la producción de CO₂, calor y agua. En esta etapa, los microorganismos epifíticos toman parte ya que son mayormente aeróbicos. Un microorganismo epifítico es aquél que vive sobre la superficie de una planta, pero no obtiene beneficios nutricionales de ella. En esta fase, el pH se mantiene generalmente entre los límites de 6.0 a 6.5 y la temperatura entre 20.5°C y 32.2°C.

Fase 2: La segunda fase es denominada “lag” o demora cuando se comienza gradualmente a producir los ácidos acético y láctico, y el etanol por las bacterias al degradar los azúcares (i.e. glucosa) del material vegetativo (Figura 2). Los microorganismos presentes en esta fase incluyen BAL, como *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *Streptococcus lactis* y *Pediococcus acidilacti*, entre otros. El pH desciende módicamente a valores entre 6 y 5, y la temperatura se mantiene generalmente entre 28.8°C y 32.2°C.

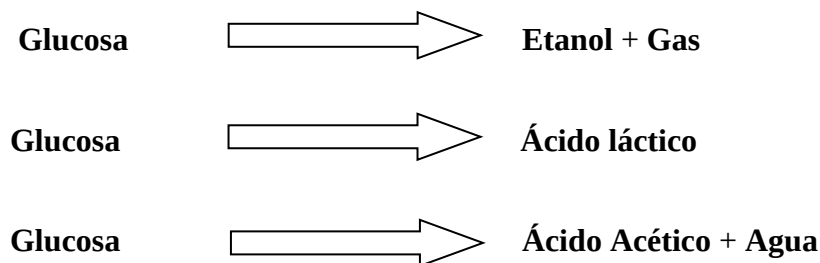


Figura 2. Productos de fermentación resultantes de la conversión de glucosa

Fase 3: Durante esta tercera fase se intensifica la tasa de producción de ácidos orgánicos, maximizando especialmente la de ácido láctico y el pH desciende a valores de 4.0 a 4.5; mientras la temperatura sigue a un nivel alrededor de 28.8°C.

Fase 4: Ocurre la producción final de ácidos orgánicos, siendo casi todo ácido láctico y el pH alcanza un punto mínimo de 4.0 o menor, mientras la temperatura permanece en 28.8°C.

Fase 5: La quinta fase es la de almacenamiento del material ya estabilizado sin entrada de aire en el silo. Un pH entre 4.0 y 4.2 representa acidez suficiente para inhibir la actividad microbiana.

Fase 6: Finalmente se usa el ensilado para la alimentación animal. Al abrir el silo el material en la superficie se expone al aire y debe usarse antes de exceder su capacidad para resistir el deterioro aeróbico.

3.7.3 Bioquímica de la fermentación

Las bacterias presentes naturalmente en el forraje verde son mayormente aeróbicas. Al tomar auge la fermentación, éstas quedan reemplazadas por bacterias anaeróbicas que en ausencia de oxígeno utilizan los sustratos de la planta (i.e. azúcares, compuestos nitrogenados y ácidos orgánicos). Los principales ácidos orgánicos presentes en el forraje verde son el cítrico, málico, succínico y oxálico (Wiseman e Irvin, 1957). La concentración de estos disminuye a lo largo de la fermentación. El contenido de azúcares hidrosolubles disminuye también, sobre todo en fermentaciones tipo lácticas donde ocurre una rápida acidificación. Carbohidratos como el almidón, pectina y hemicelulosa generalmente no son fermentados o degradables por organismos lácticos aunque la acidez de la masa fermentada

puede afectar su estabilidad. La celulosa y la lignina son poco afectadas durante el proceso de ensilado. Un material vegetativo alto en contenido de compuestos nitrogenados dificulta el proceso fermentativo del ensilaje ya que siempre se hidroliza al menos una parte de la proteína lo que contribuye a la capacidad amortiguadora (Dawson y Steen, 2000). Dicha hidrólisis puede ser muy extensa debido a la actividad de ciertas bacterias (i.e. clostridios) con mucha producción de amoníaco y ácido butírico. Esto ocurre mayormente en ensilajes, producto de materiales vegetativos muy húmedos y con bajo contenido de CSA (Moran, 2005). En ensilajes de baja calidad, la degradación de compuestos nitrogenados tales como las proteínas, envuelve una deaminación de amino ácidos con la formación de diaminas como cadaverina y putresina (McDonald y Edwards, 1976). Un criterio para determinar la buena calidad en un ensilado es que el ácido láctico sea el ácido orgánico predominante. La molécula de ácido láctico está formada por una cadena de tres carbonos y corresponde a la fórmula empírica ($C_3H_6O_3$). Es el ácido que con mayor velocidad acidifica el ensilaje para conservarlo y evitar la pérdida de nutrientes. Mientras más rápido ocurra este proceso, mejor preservado quedará el valor nutritivo original. Otras bacterias (tipo heterofermentativas) hidrolizan los azúcares simples con formación de ácido acético, propiónico, láctico y butírico. La degradación bacteriana de los azúcares produce los dos ácidos más deseados en la conservación del forraje ensilado, estos son, el ácido acético y láctico.

3.7.4 Microbiología del proceso fermentativo

Las BAL son los principales microbios responsables de metabolizar los azúcares presentes en el material vegetativo con la formación de ácido láctico. Estas son anaeróbicas facultativas cuya actividad dominante inhibe el crecimiento de otras bacterias durante el

proceso de fermentación debido a su tolerancia a niveles altos de acidez. Existen bacterias lácticas homofermentativas y heterofermentativas. Según Parra (2010), éstas se diferencian en que las primeras convierten la glucosa principalmente a ácido láctico mientras que las segundas metabolizan la glucosa generando varios productos (CO_2 , etanol, ácido láctico y ácido acético).

Las bacterias homofermentativas son las responsables de producir entre el 80 y 95% del ácido láctico formado en una buena fermentación láctica. Las homofermentativas abarcan especies pertenecientes a los géneros *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Pediococcus*, entre otras. Según Contreras y Muck (2006), las bacterias homofermentativas superan a las heterofermentativas en eficiencia energética ya que por cada molécula de glucosa utilizada producen dos moléculas de ácido láctico.

Comparativamente la fermentación heterofermentativa produce entre un 50 y 55% de la cantidad de ácido láctico por unidad de glucosa utilizada. Dentro de este grupo de bacterias hay representación de los géneros *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* y *Lactobacillus*. La fermentación dominada por bacterias heterofermentadoras, convierte a cada molécula de glucosa en una sola molécula de ácido láctico, también a una de ácido acético o etanol y dióxido de carbono. El ácido acético, por ser un ácido más débil que el láctico, disminuye menos el pH del ensilaje, mientras que el etanol no tiene efecto alguno al respecto. La formación de CO_2 se considera una pérdida de materia seca en la forma de un gas.

Por otra parte, en el proceso de fermentación pueden participar también otros diversos microbios como lo son los coliformes, los hongos, las levaduras y los clostridios. Los coliformes activos en el ensilaje pertenecen a la familia Enterobacteriaceae y producen

ácido acético a partir de azúcares. Requieren de una temperatura entre los límites de 18°C y 25°C, y desaparecen en ambientes ácidos (a un pH menor de 4.2); (Roza, 2005). Usualmente su participación ocurre en la etapa temprana del ensilado ya que después éstos son reemplazadas por las BAL. Los hongos y las levaduras aparecen al momento de ocurrir la infiltración de aire mientras el material vegetativo está almacenado en el silo. Estos microorganismos aeróbicos hidrolizan el forraje pudriéndolo y generalmente se observa este proceso cerca de las aperturas de los silos los cuales están en más contacto con el aire (Roza, 1998). Los clostridios (del genero *Clostridium*) son indeseables en el proceso de ensilaje ya que compiten con las BAL por los azúcares y compuestos nitrogenados, aumentando así el pH y dañando el ambiente ácido del ensilaje. Estos son tolerantes al calor y pueden desarrollarse a una temperatura entre los límites de 20°C y 40°C.

3.7.5 Técnicas y factores que afectan la calidad del ensilaje

La calidad del ensilaje que se obtiene en un caso dado depende de una serie de factores. Uno de los factores claves es el estado de madurez de la planta forrajera y la época del año cuando se cosecha. La importancia del estado de madurez radica en que al madurarse el forraje, el contenido de hemicelulosa disminuye y aumenta el de lignina, lo que afecta las propiedades físicas del forraje haciéndolo más grueso y más difícil de compactar en el silo para excluir el aire y promover una fermentación óptima. Otros criterios de composición química claves son el contenido de materia seca (MS) y de azúcares que contiene el forraje. También son de importancia los microorganismos epifíticos que predominan en el forraje para ensilar. Prácticas de manejo adecuadas incluyen el cosechar el forraje en óptimo estado de madurez y contenido de humedad, cortar el forraje a un tamaño adecuado de partícula; y llenar, compactar y sellar rápidamente el silo para minimizar la exposición al aire (FAO,

2001). Si se permite la infiltración de aire al silo después de cerrarlo, se afectará la calidad del ensilaje debido a la proliferación de hongos dañinos. Lógicamente, el manejo certero requiere que se tenga disponible las estructuras de almacenaje con la capacidad adecuada para la cantidad de ensilado que se piensa preparar.

3.7.6 Productos de fermentación y calidad de los ensilajes

La concentración de ácido láctico es un criterio clave para determinar la efectividad con que se llevó a cabo el ensilado. En una fermentación láctica efectiva, se ha sugerido que aproximadamente de un 65% a 70% de los ácidos totales debe corresponder al láctico. Este ácido no se incluye entre los ácidos grasos volátiles (AGV) debido a su baja volatilidad. El ácido acético, por otro lado, se genera mayormente cuando la producción de ácido láctico no es lo suficientemente rápida para inhibir el desarrollo de microorganismos productores del mismo. Se recomienda que el nivel de ácido acético en el ensilado deber ser menor de 0.8% en BS, ya que niveles altos de este ácido (de un 2% a 4%) indican que el ensilaje es producto de una fermentación tipo heterofermentativa. Además, la presencia de mucho ácido acético podría afectar adversamente el consumo voluntario (CV) del ensilado. El ácido propiónico, otro AGV, debe estar presente en bien bajas proporciones en el ensilaje (menores de 0.3%). Este ácido graso tiene un olor y sabor dulce. Por el lado positivo, el ácido propiónico combate la formación de moho y contribuye a alargar la vida útil del ensilaje, pero posiblemente disminuye el CV en rumiantes (Bradford y Allen, 2007). El ácido butírico se encuentra generalmente en mayores proporciones en el henilaje que en el ensilaje. Posee un olor desagradable, fuerte y su presencia en altas concentraciones se asocia con deterioro y baja aceptación animal del forraje fermentado. El etanol también es un producto de la fermentación de forrajes y es producido mayormente por la acción fermentativa de las

levaduras sobre los CSA. Es indeseable un alto contenido de este alcohol en el ensilaje. Si se alimentan vacas lecheras con ensilaje cuyo contenido de etanol sobrepasa el 3%, entonces se puede impartir un mal sabor a alcohol a la leche. Otro criterio de calidad de un ensilaje es la relación nitrógeno amoniacal/ nitrógeno total. Un índice $N-NH_3/N$ total mayor de un 8% significa una degradación extensa de proteínas y posiblemente ausencia de condiciones anaeróbicas o de la falta de compactación del material vegetativo dentro del silo.

3.7.7 Estabilidad aeróbica

La estabilidad aeróbica (EA) se ha definido como la cantidad de tiempo que un ensilaje resiste al deterioro después de ser expuesto al aire (Kung, 2005). Cuando el ensilaje se expone a un ambiente aeróbico, los microorganismos (i.e. levaduras y hongos) comienzan a degradar el ácido láctico y los azúcares residuales (Figura 3), lo que resulta en aumentos en el pH y la temperatura de la masa fermentada (Jobim et al., 2007). Entre los microorganismos asociados al deterioro aeróbico de los ensilajes se encuentran las levaduras de los géneros *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces* y *Torulopsis*.

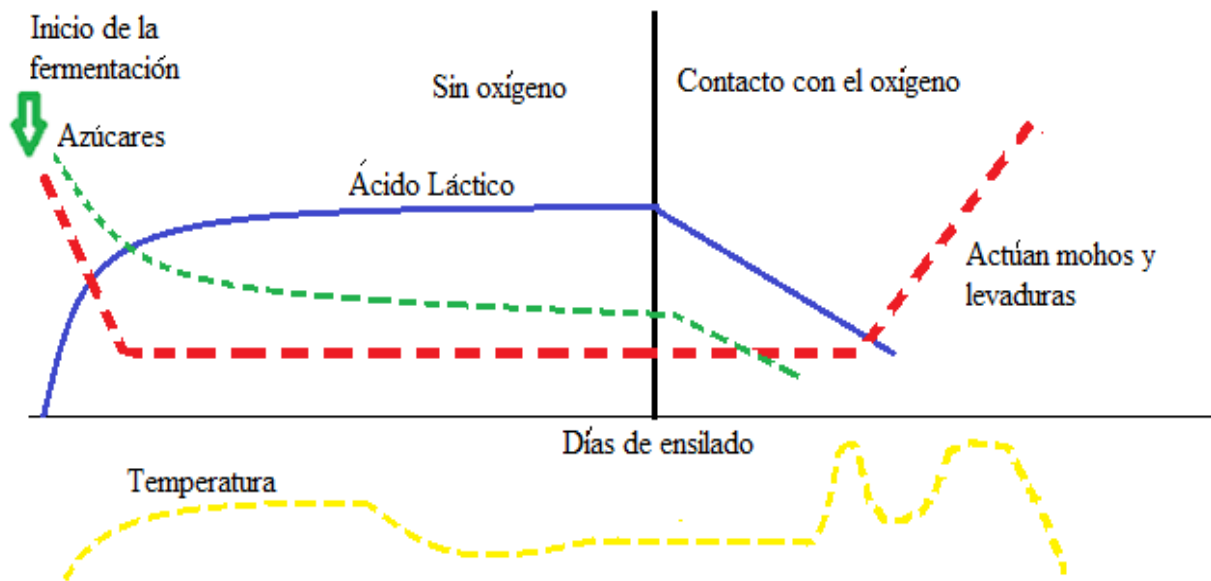


Figura 3. Cambios en el ensilaje al entrar en contacto con el aire

Posterior a la presencia de levaduras se intensifica el desarrollo de hongos, mayormente de los géneros *Mucor*, *Monilia*, *Aspegillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Holzer et al., 1999). Según Borreani et al. (2008), la cadena de eventos que resulta en el deterioro del ensilaje se puede resumir en siete pasos. Estos pasos son:

1. El ensilaje expuesto al aire.
2. La proliferación inicial de levaduras aeróbicas.
3. Las levaduras degradan ácido láctico generando CO_2 , agua y calor.
4. La población de levaduras aumenta a su máximo en la masa del ensilaje.
5. El pH del ensilaje aumenta.
6. Proliferación de hongos y bacterias aeróbicas.
7. Deterioro masivo, pérdidas de materia seca y nutrientes; disminución de la palatabilidad; formación de compuestos antinutritivos (micotoxinas).

3.8 Consumo voluntario

El CV se define como la cantidad de alimento ingerido por un animal en un tiempo específico cuando la disponibilidad del mismo no es limitante (Beaumont et al., 2000). El CV de un forraje está influenciado por factores asociados al animal, a la planta y al medio ambiente (Mejía, 2002). Se le considera al CV el componente individual determinante más importante para el desempeño y producción del animal ya que a mayor cantidad de MS consumida, mayor será la ingestión de nutrientes. El consumo voluntario de un animal estabulado se calcula por la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido y el rechazado en base seca. En rumiantes, el CV de diversos alimentos depende del apetito del animal y varía con su edad y estado fisiológico. Según Mejía (2002), los cuatro factores que más influyen sobre el CV de los rumiantes son:

- Tamaño corporal- lógicamente animales de mayor talla requieren de mayor cantidad de alimento para poder satisfacer sus requisitos nutricionales de mantenimiento, los cuales son proporcionales a la masa corporal.
- Estado fisiológico- los procesos de crecimiento, engorde, reproducción y lactación requieren de una aportación adicional de nutrientes.
- Preferencia- las características organolépticas influyen sobre el apetito del animal. El sabor (palatabilidad), olor y consistencia del alimento afectan el consumo. Bell (1984) determinó que los animales pueden distinguir entre alimentos contaminados con heces y alimentos limpios, al seleccionar los segundos.
- Condiciones ambientales- un ambiente frío estimula el consumo de alimentos que resulta en mayor producción de calor corporal tanto como calor de digestión (fermentación)

como calor de metabolismo tisular. Por el contrario, un ambiente caluroso tiende a disminuir el consumo y la consecuente producción de calor corporal.

3.9 Digestibilidad

Además de la composición química o contenido de nutrientes y el CV, la digestibilidad es otro criterio para determinar el valor nutritivo de los alimentos. La digestión es el proceso en que las macromoléculas presentes en los alimentos se hidrolizan hasta sus componentes básicos para poder ser absorbidas por el sistema digestivo y alcanzar el cuerpo interior (Kennington et al., 2005). La digestión emplea procesos mecánicos, enzimáticos y fermentativos. Se entiende por digestibilidad aparente la proporción de un alimento consumido que no aparece en las heces y su cálculo en el caso de la MS es por la ecuación:

$$\% \text{ Digestibilidad de MS} = ((\text{MS Consumida} - \text{MS Fecal}) / \text{MS Consumida}) \times 100$$

La digestibilidad estima la eficiencia con que se digieren los alimentos y es útil para predecir el desempeño animal en dependencia de su alimentación. Los rumiantes deben su capacidad de utilizar los carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa) presentes en alta proporción en los forrajes a la actividad de los microorganismos que habitan en el complejo retículo-rumen. Los productos principales de la digestión microbiana de los carbohidratos son AGV, cuya absorción es facilitada por las papilas de las paredes ruminales. Luego de absorbidos los AGV son transportados en la sangre hasta el hígado, primero y eventualmente usados en el metabolismo celular donde representan de un 66% a 75% de la energía de origen dietético que sostiene al animal.

Los compuestos nitrogenados digeridos por el rumiante incluyen las proteínas alimentarias y el denominado Nitrógeno No Proteico (NNP), de menor tamaño molecular. La mayor parte del

nitrógeno que se encuentra en la proteína dietética (en promedio 65%) y prácticamente todo el NNP que entra al complejo retículo-rumen se convierte en amoníaco, que es utilizado por las bacterias para sintetizar proteína microbiana. El exceso de amoníaco se absorbe por las paredes del rumen y en la sangre es transportada hasta el hígado en donde se convierte en urea. Una parte de la urea formada se excreta por vía urinaria y el restante regresa al retículo-rumen por la saliva o por difusión a través de la pared ruminal, reciclándose. La proteína dietética no degradada y la proteína microbiana pasan desde el retículo-rumen al abomaso e intestino delgado donde son digeridas y absorbidas al torrente sanguíneo atravesando la pared del intestino delgado.

4.0 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Experimento I: Características fermentativas y estabilidad aeróbica de la caña de azúcar ensilada a diferentes largos de fermentación

4.1.1 Material vegetativo

La CA se obtuvo de una parcela experimental antigua que mantiene la Estación Experimental Agrícola (EEA) de la Universidad de Puerto Rico (UPR), localizada en el Municipio de Lajas en la latitud 18.03 N y la longitud -67.07 W (Figura 4).

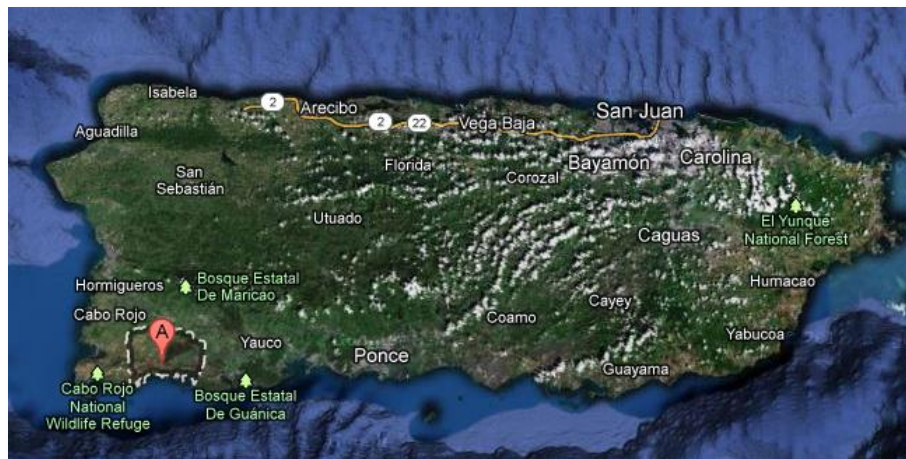


Figura 4. Mapa con localización de Lajas, Puerto Rico (Google Maps - ©2013 Google)

Se cosechó el material vegetativo manualmente procurando cortar las cañas a unos 15.24 cm del suelo y se transportó hasta las facilidades del Departamento de Industria Pecuaria en la Finca Alzamora localizada en la UPR, Recinto de Mayagüez. Posteriormente el forraje verde se picó en pedazos de 5.08-10.16 cm de largo utilizando la maquinaria comercial marca Craftman (Figura 5.3). Se tomaron muestras de la CA fresca (N=4) y se analizaron para determinar el pH y el contenido de diversas fracciones químicas. Se utilizaron 50 g de forraje fresco diluido en 450 ml de agua destilada y homogenizada durante 3 minutos (Stomacher®80). Para determinar el pH se sometieron muestras de la solución homogenizada

a lectura con un medidor de pH (Oakton®) estandarizado con soluciones amortiguadoras comerciales (4/7 Fisher Sci). Se determinó el contenido porcentual de MS, MO (materia orgánica), MI (materia inorgánica), PB (proteína bruta) y fracciones de las paredes celulares (Fibra Detergente Neutro, FDN; Fibra Detergente Ácido, FDA, y Hemicelulosa, HC) siguiendo los procedimientos estándares (AOAC, 1990; Van Soest, 1994). El contenido inicial de CSA del material vegetativo fue determinado en un laboratorio comercial (Dairy One Forage Laboratory).



Figura 5. Protocolo previo a ensilar

1. Cosechado de la caña de azúcar. 2. Transporte desde Lajas hasta la finca Alzamora, UPRM. 3. Picado desde el tallo hasta las hojas.

4.1.2 Proceso fermentativo

Se utilizaron 20 micro-silos de laboratorio contruidos de PVC con una capacidad neta de 1.2 kg (Figura 6) para determinar las características ensilatorias de la CA después de cinco tiempos de fermentación (30, 60, 90, 120 y 150 días). Los micro-silos se llenaron con el forraje picado, se compactaron manualmente y se cerraron utilizando tapones de goma con cintas de presión en ambos extremos para evitar la pérdida del efluente. Además, se facilitó la salida de gases con una válvula de gas situada en la tapa superior. Los micro-silos se expusieron a temperatura ambiente bajo condiciones de laboratorio durante todo el proceso fermentativo.

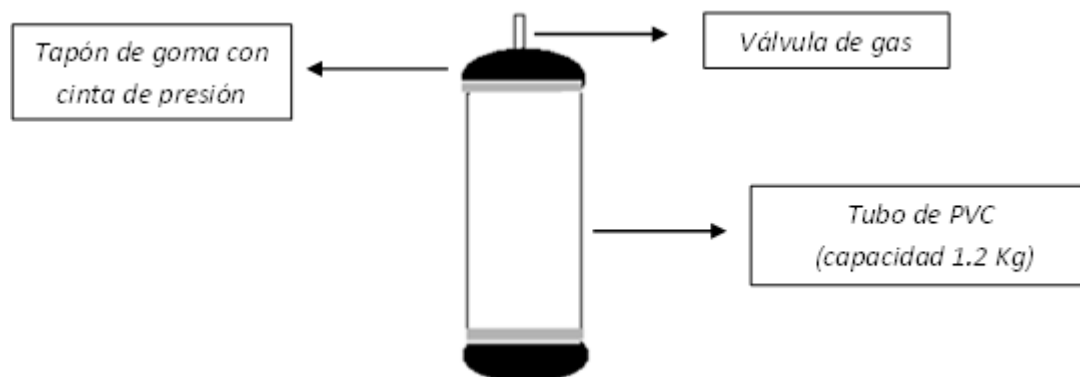


Figura 6. Ilustración de los Micro-silos

Después de cada uno de los aludidos tiempos de fermentación, entonces se abrieron 4 de los micro-silos y se analizó el material fermentado para determinar su pH, composición química y productos de fermentación. El pH y la composición química fueron determinados por los métodos descritos previamente referentes a las muestras del material vegetativo fresco. Los productos de la fermentación, que incluyeron: ácidos orgánicos (láctico, acético, propiónico y butírico), el nitrógeno amoniacal y el etanol, fueron determinados al enviar las

muestras de las soluciones homogenizadas a dos respectivos laboratorios comerciales (1) Dairy One Forage Laboratory, en Ithaca, New York y (2) Rock River Laboratory, en Milwaukee, Wisconsin (USA).

4.1.3 Estabilidad aeróbica

Las muestras del material vegetativo fermentado correspondiente a cada uno de los cinco tiempos de fermentación fueron colocadas en envases de poliestireno previamente dividido en 4 compartimientos para determinar la EA del ensilaje ECA (Figura 7). En cada compartimiento se colocaron sobre bolsas plásticas 800 g de ensilaje de uno de los silos repetidos. A cada muestra expuesta al aire se le colocó un termómetro situado en la masa del ensilaje durante 3 días.



Figura 7. Envase de poliestireno con las muestras y termómetros

Se tomó la lectura de temperatura cada 6 horas durante el primer día de exposición al aire y cada 12 horas durante el segundo y tercer día para un total de 9 lecturas (0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 y 72 h). Además, el día 0, 1 y 3 de exposición al aire se midió el pH del ensilaje como descrito previamente de la muestra correspondiente a cada tiempo de fermentación.

4.1.4 Análisis estadístico

Los datos correspondientes al proceso fermentativo; el pH, la composición química y los productos de fermentación, se sometieron a análisis estadístico según un diseño completamente aleatorio (DCA) con 5 tiempos de fermentación (0, 30, 60, 90, 120 y 150 días) utilizando el programa Infostat (2009). Se fijó la significancia de las variancias en el nivel de probabilidad 0.05 y de resultar significativo el efecto del tiempo de fermentación, la separación de las medias se realizó por la prueba de Tukey. A los datos recolectados durante el periodo de exposición aeróbica se aplicaron los mismos métodos de análisis según un DCA, pero con arreglos factoriales de 5 (tiempos de fermentación) x 9 (lecturas de temperatura) y 5 (tiempos de fermentación) x 3 (lecturas de pH). El modelo general utilizado para analizar las características fermentativas fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ijk} = es la variable dependiente evaluada (pH, fracion química) o producto de fermentación)

μ = es la media general estimada

α_i = es el efecto del tiempo de fermentación (30, 60, 90, 120 y 150 días)

ε_{ijk} = es el error experimental

Mientras que el modelo general utilizado para analizar el pH y la temperatura durante el periodo de exposición aeróbica fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ijk} = es la variable dependiente evaluada (pH o temperatura)

μ = es la media general estimada

α_i = es el nivel del primer factor (Tiempo de fermentación; LF 30, 60, 90, 120 y 150 días)

β_j = es el nivel del segundo factor (Tiempo de exposición al aire en días u horas)

$\alpha\beta_{ij}$ = es la interacción de ambos factores (LF * tiempo exposición al aire)

ε_{ijk} = es el error experimental

4.2 Experimento II: Inclusión de ensilaje de caña de azúcar en raciones completas mixtas para ganado ovino

4.2.1 Material vegetativo

Parte del mismo material vegetativo de CA previamente picado y utilizado en el experimento I fue ensilado en 6 bolsas de plástico (Figura 8) con capacidad de 55 galones (250 L) durante un mínimo de 45 días. Luego de compactar el material vegetativo dentro de las bolsas, entonces se retiró el aire utilizando una bomba de vacío y se amarró herméticamente el extremo superior de las bolsas. Estas se mantuvieron a temperatura ambiente (28 a 30°C) hasta su uso en la fase de alimentación experimental.



Figura 8. Silo tipo bolsa con capacidad de 55 galones

4.2.2 Facilidades y animales experimentales

La evaluación del CV y la digestibilidad de las RCM formuladas con ECA o heno de gramíneas tropicales (HGT) como fuente de forraje en combinación con concentrado comercial CC se realizó en las facilidades del Proyecto de Pequeños Rumiantes de la Finca Alzamora, localizada en la UPR, Recinto de Mayagüez. Las unidades experimentales fueron 8 ovinos criollos machos castrados adultos con un peso vivo (PV) promedio de ($\pm$, 35 kg) y

previamente desparasitados oralmente utilizando el producto Valbazen. Se alojaron los ovinos en jaulas individuales de dimensiones 1.22 x 2.44 x 1.22 m; cada una provista de un comedero de madera y bebedor automático para proveer agua a discreción. A cada animal se le ajustó una bolsa de lona recolectora de heces (Figura 9).



Figura 9. Ovino con bolsa recolectora de heces

4.2.3 Tratamientos experimentales y determinación de consumo voluntario y digestibilidad

La inclusión del ECA o del HGT como ingrediente fijo de las RCM fue en proporción al 40% de la MS total. El heno se obtuvo de un productor comercial y constó mayormente de las especies hierba Guinea (*Panicum máximum*), Pangola, (*Digitaria decumbens*), Johnson, (*Sorghum halepense*) y Buffel (*Cenchrus ciliaris*). En ambas RCM se incluyó un 60% del CC. Ambas fuentes forrajeras se picaron mecánicamente a un tamaño de partícula teórico de 10.16 cm de largo para facilitar la mezcla con el CC y disminuir la selectividad de hojas y tallos por el animal. El experimento siguió un diseño reversible dividido en 2 periodos de 12 días cada uno, incluyendo 7 días de adaptación a la dieta y 5 días de recolección de datos comparativos para determinar el CV y la digestibilidad de la MS, PB y FDN de los 2

tratamientos experimentales; T1 = 40% HGT + 60% CC y T2 = 40% ECA + 60% CC (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de tratamientos asignados dentro de cada periodo

<i>Periodo</i>	Animal							
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
<i>1</i>	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1
<i>2</i>	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2

Durante los 5 días de recolección de datos comparativos de cada periodo de tiempo, entonces se cuantificó diariamente el alimento ofrecido y el rechazado para calcular el consumo por diferencia; y las heces excretadas para calcular la digestibilidad. Para establecer la cantidad de RCM que sería ofrecida, se pesó a cada ovino antes del comienzo de cada periodo y el ofrecimiento asignado fue equivalente al 3.0% de su PV en BS. A diario se mezcló manualmente el CC y el forraje (ECA o HGT) correspondiente a cada tratamiento. A la mezcla HGT:CC se le añadió agua suficiente para humedecerla facilitando así la adhesión entre partículas del forraje y el CC para evitar o reducir la selectividad animal entre granos y forraje. El ofrecimiento de las RCM se dividió en dos porciones diarias equivalentes al 1.5% del PV en BS que se proveyeron a las 8:00 am y las 4:00 pm. Se recogió el alimento sobrante y las heces acumuladas en las bolsas para su cuantificación en el mismo horario que la alimentación. Diariamente se recogieron alícuotas (10% del total) de las RMC ofrecidas y rechazadas, como de las heces de cada ovino. Posteriormente se formaron muestras compuestas de cada ovino correspondiente a cada periodo experimental para la determinación de su contenido de MS, PB y FDN según metodología citada previamente.

Además de determinar el CV absoluto de las dos RMC, también se calculó el consumo diario como porcentaje del PV en BS.

4.2.4 Estabilidad aeróbica

Se determinó también la EA de la RCM de T2, basada en ECA (60% CC y 40% ECA) al exponer muestras de 800 g de la misma a condiciones aeróbicas siguiendo la metodología descrita en el Experimento 1. Se hizo lecturas de pH y temperatura de la masa de RCM expuesta al aire después de 0, 1 y 3 días; y al cabo de 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 horas, respectivamente.

4.2.5 Análisis estadístico

Los datos de CV y digestibilidad de la MS, PB y FDN de ambas RCM experimentales se analizaron mediante el programa Infostat (2009) según un diseño reversible con 8 repeticiones por tratamiento y separación de las medias por prueba de Tukey. El modelo general utilizado para CV y digestibilidad fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \tau_k + \varepsilon_{jik}$$

En donde:

Y_{ijk} = es la variable dependiente (MS, PB y FDN: consumo voluntario y digestibilidad)

μ = es la media general estimada

α_i = es el efecto de la dieta (T1 y T2)

δ_j = es el efecto del animal individual (1 al 8)

τ_k = es el día de toma de datos (1 a 5 d)

ε_{jik} = es el error experimental

El modelo general utilizado para analizar el pH y la temperatura durante el periodo de exposición aeróbica fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ijk} = es la variable dependiente evaluada (pH o temperatura)

μ = es la media general estimada

α_i = es el efecto del día u hora de exposición aeróbica

ε_{ijk} = es el error experimental

5.0 RESULTADOS

5.1 Experimento I

5.1.1 Composición química de la caña de azúcar fresca

La composición química de la CA antes de ensilar demostró valores típicos para este cultivo cuando se cosecha para uso en la alimentación animal (Cavali et al., 2010; Pedroso et al., 2005; Alli et al., 1982) como muestra la Tabla 2.

Tabla 2. Composición química de la caña de azúcar antes de ensilar

Componente	Valor (%)*
MS	31.13
MO ²	86.35
MI ²	13.65
CSA ²	26.50
PB ²	3.58
FDN ²	49.30
FDA ²	35.33
Hemicelulosa ^{2,3}	13.97
Lignina ²	3.62
CNF ^{2,4}	29.85

***Media de 4 repeticiones, ² Base Seca, ³ FDN-FDA, ⁴ Carbohidratos no fibrosos
CNF=(100-FDN-MI-PB-Lignina)**

El contenido promedio de MS de la CA utilizada en este experimento de 31.13%, la ubica dentro de los límites recomendados para ser fermentada en forma de ensilaje (McDonald et al., 1991). El contenido inicial de CSA de 26.50% es considerado un valor normal para la CA (Silva et al., 2008). Diversas investigaciones han señalado que el contenido de CSA en CA puede ser tan elevado como 34% y tan bajo como 17% (Cavali et al., 2010; Pedroso et al., 2005; Alli et al., 1982). El bajo contenido de PB en la CA del presente experimento también era de esperarse (Pedroso et al, 2005). El contenido proteínico de la CA es deficiente desde el punto de vista nutricional animal. Por esta razón, se tiene que combinar con otras fuentes alimentarias suplidoras de este nutriente esencial para balancear la dieta. Los contenidos de paredes celulares (FDN), la fracción lignocelulosa (FDA) y la HC (49.30%,

35.33% y 13.97%, respectivamente) concuerdan también con valores publicados por Pedroso et al., (2010). Dependiendo del estado de madurez es posible la variación en las fracciones fibrosas de este cultivo, tanto como de 28.6% a 67.6% en FDN, de 24.2% a 36.0% en FDA y de 16.41 a 24.99% en HC (Cavali et al., 2010; Pedroso et al., 2010).

5.1.2 Composición química del ensilaje de la caña de azúcar

El efecto del tiempo de fermentación sobre los cambios en la composición química del ECA incluyó una disminución progresiva en el contenido de MS, MO y CSA, como también aumentos correspondientes en MI y los componentes de la pared celular (Tabla 3). El contenido de MI decreció durante los primeros dos lapsos del periodo fermentativo y luego subió durante los próximos tres lapsos, mientras que el contenido de MO se comportó a lo inverso. Desde el comienzo de la fermentación (día 0) hasta el día 150, las proporciones MO: MI cambiaron sólo un poco hacia menos MO y más MI (de 86.35: 13.65 a 84.32: 15.68). Lógicamente, la pérdida por volatilización afecta más la MO que la MI. La PB ($N \times 6.25$) aumentó por 0.35 unidad de por ciento a los 150 días de fermentación respecto al valor inicial antes de ensilarse el material vegetativo.

Tabla 3. Efecto del largo de fermentación sobre la composición química del ensilaje de caña de azúcar

Componente¹ (%)	Tiempo de fermentación (días)						EEM²	p
	0	30	60	90	120	150		
MS	31.13 ^a	29.18 ^b	28.21 ^b	26.83 ^c	26.23 ^c	26.15 ^c	1.02	0.01
MO³	86.35 ^b	86.98 ^b	88.12 ^a	85.39 ^c	84.64 ^{c,d}	84.32 ^d	0.90	0.01
MI³	13.65 ^c	13.02 ^d	11.88 ^e	14.61 ^b	15.36 ^a	15.68 ^a	0.46	0.01
PB³	3.58 ^c	3.73 ^b	3.80 ^a	3.88 ^a	3.86 ^a	3.93 ^a	0.13	0.02
CSA³	26.50 ^a	8.21 ^b	7.81 ^{b,c}	7.51 ^c	6.92 ^d	6.35 ^d	1.05	0.03
FDN³	49.30 ^d	55.90 ^c	69.12 ^b	70.24 ^a	70.27 ^a	71.30 ^a	1.67	0.01
FDA³	35.93 ^c	42.38 ^b	44.12 ^a	44.06 ^a	44.10 ^a	44.58 ^a	0.78	0.01
Hemicelulosa^{3,4}	13.97 ^c	13.52 ^c	25.00 ^b	26.18 ^{a,b}	26.17 ^{a,b}	26.72 ^a	1.23	0.01

¹ Media de 3 repeticiones, ² Error estándar de las medias, ³ Base seca, ⁴ FDN-FDA,
^{abc} Medias con diferentes letras en la misma fila tienen difieren (p<0.05)

La reducción neta en el contenido de MS durante 150 días de fermentación fue de 4.98 unidades porcentuales (31.13 a 26.15). Esto coincide con estudios realizados en Brasil donde se ha observado que el ensilamiento de CA resulta en mayor pérdida de MS durante la fermentación en comparación con otras gramíneas tropicales fermentadas i.e. hierba elefante (Cavali et al., 2010). En sus investigaciones, Pedroso et al. (2008; 2005), reportaron pérdidas de hasta 4 unidades porcentuales en el contenido de MS de ECA fermentado durante 40 días. No obstante, se logró reducciones en estas pérdidas al fermentar la CA en combinación con hierba elefante en diferentes proporciones. La fermentación de dicha hierba sola resultó en pérdidas modestas de MS de 1.2 unidades porcentuales después de 40 días. Se atribuyeron las mayores pérdidas de carbono en el ECA a mayor producción de CO₂ resultante del metabolismo de azúcares solubles por microorganismos como levaduras que se hallan presentes en mayores poblaciones en el ECA que en otros forrajes tropicales fermentados. Nussio et al. (2009) observaron pérdidas en el contenido de MS de 10.87% en ECA producto de los gases producidos durante la fermentación. En el presente experimento se observó una alta degradación del CSA de la CA durante el proceso fermentativo. El contenido de esta fracción química del forraje siempre fue mayor ($p > 0.05$) en el material vegetativo fresco que en el fermentado a todos los tiempos de fermentación estudiados. Dicho contenido disminuyó del valor inicial de 26.5% a 8.21% a los 30 días de fermentación, una disminución relativa de 69% y continuó disminuyendo progresivamente a 6.35% a los 150 días de fermentación, una reducción relativa de 72% con respecto al valor inicial. Esta disminución en el contenido de CSA coincide con una creciente fibrosidad, es decir mayor contenido de paredes celulares y subfracciones de éstas. Comparado con sus valores porcentuales iniciales en el material

vegetativo fresco, los contenidos de FDN, FDA y HC mostraron aumentos relativos de 22%, 8.55% y 12.75% después de 5 meses de fermentación, respectivamente.

Otros investigadores han observado que el alto contenido de CSA de la CA sufre reducciones durante la fermentación superiores al 44% respecto del contenido inicial (Cavali et al., 2010; Alli et al., 1982). Kung y Stanley (1982) encontraron que durante el proceso de ensilamiento de la CA se puede metabolizar hasta el 90% de los CSA presentes en el material fresco y alcanzar contenidos de etanol hasta 15% en BS. Estos cambios observados en la composición química del ECA al transcurrir el periodo fermentativo difieren de lo normalmente observado al ensilar otras gramíneas tropicales, como hierba guinea, hierba pangola y otras naturalizadas (Rodríguez y León, 2006; Rosario, 2012; Martínez et al., 1998) en donde predomina una activa degradación de compuestos nitrogenados. Aguilera et al. (1992) señalaron que los ensilajes de gramíneas tropicales se caracterizan por la pobre aptitud fermentativa, específicamente inadecuado contenido de CSA y excesivo contenido de paredes celulares. Además, existen altas poblaciones de microorganismos epifíticos (i.e. coliformes, levaduras) no deseables para el proceso fermentativo en gramíneas cultivadas en el trópico (Rodríguez et al., 1996).

5.1.3 Características fermentativas

Las características óptimas de un forraje conservado en forma de ensilaje incluyen un alto grado de acidez y que el ácido láctico sea el principal producto de la fermentación. Además, son deseables bajos contenidos de ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y etanol y una relación N-NH₃/N-total menor a 8%. McDonald (1991) y Woelford (1990) han propuesto valores óptimos de esos componentes químicos que debe presentar un ensilaje de calidad y sus intervalos aceptables según se describe en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición química deseable en ensilajes de gramíneas

Componente	Nivel Óptimo
pH	4.3 - 4.7
Producto de Fermentación %	
Ác. Láctico	1.5 – 4
Ác. Acético	1 – 3
Ác. Propiónico	< 0.1
Ác. Butírico	0.5 - 1.0
Etanol	0.5 – 1.0
N-NH ₃ /N-Total	8 – 12

Los intentos por preparar ECA han conducido en muchos casos a fermentaciones en que predomina la producción de ácido acético y etanol con solo moderadas cantidades de ácido láctico (Álvarez et al., 1977). El alto contenido de CSA en el material vegetativo antes de ensilarse y las altas poblaciones de microorganismos epífitos no deseables para la fermentación (i.e. levaduras) que predominan en forrajes cosechados en ambientes cálidos y húmedos, contribuyen a estas pobres características ensilatorias de la CA (Pedroso et al., 2008). En el presente experimento se observaron en el ECA valores muy bajos de pH (3.41

en promedio) y ninguno mayor de 3.55 (Tabla 4). Otros valores medios porcentuales fueron ácido láctico (3.01), ácido butírico (0.01), ácido acético (3.23), etanol (6.40) y $\text{N-NH}_3/\text{N-Total}$ (4.91). No se reportó la presencia de ácido propiónico y sólo trazas de ácido butírico en las muestras analizadas. De todos estos resultados, el menos favorable es en relación al etanol cuyo nivel porcentual máximo fue de 7.0 alcanzado a los 60 días de fermentación y aún estaba en 5.8 al finalizar el periodo de fermentación a los (150 días). Estos valores superan ampliamente el nivel etanólico que debe poseer un buen ensilaje de 1.0% máximo (Tabla 4). En efecto, el etanol fue el principal producto de la fermentación de la CA.

Se observó el mayor porcentaje de ácido acético y ácido láctico después de 60 días de fermentación, posteriormente disminuyeron dichos porcentajes hasta registrar sus valores mínimos a los 150 días, pero aún calificándose como bastante satisfactorias. El ensilamiento de la CA por 1 a 5 meses ocasionó la degradación de algunos compuestos nitrogenados para la formación de amoníaco, pero la proporción de N-NH_3 en el nitrógeno total siempre fue menor que el valor máximo especificado en la Tabla 5, aunque mostró una leve tendencia ascendente con el tiempo.

Tabla 5. Características fermentativas del ensilaje de la caña de azúcar ensilado a diferentes largos de fermentación

Componente ¹	Largo de Fermentación (días)					EEM ²	p
	30	60	90	120	150		
pH	3.55 ^a	3.42 ^b	3.40 ^{b,c}	3.33 ^c	3.34 ^c	0.06	0.02
<u>Productos de Fermentación</u>							
Ác. Láctico	3.04 ^{ab}	3.66 ^a	3.32 ^a	2.83 ^b	2.20 ^b	0.22	0.01
Ác. Acético	3.06 ^{bc}	3.99 ^a	3.78 ^{ab}	2.92 ^c	2.39 ^c	0.20	0.01
Ác. Propiónico		N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	
Ác. Butírico	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.89
Etanol	6.57	7.00	6.48	6.02	5.80	0.80	0.54
N-NH₃/NTotal	4.30 ^b	4.70 ^{ab}	5.10 ^a	5.14 ^a	5.28 ^a	0.16	0.01

¹ Media de 3 repeticiones, ² Error estándar de las medias, ^{abc} Medias con diferentes letras en la misma fila difieren p>0.05, N/D No Detectable

Basándose en los cambios observados en la composición química y productos de fermentación, es posible inferir una intensa actividad microbiana responsable de la rápida degradación de CSA durante el primer mes de la fermentación, actividad que continuó, en menor grado de intensidad, posteriormente. Los máximos porcentos de los tres principales productos de fermentación (ácido láctico, acético, o etanol), se observaron a los 60 días de fermentación para luego mostraran una tendencia decreciente a la vez que aumentaba lentamente la presencia de amoníaco. Aunque no se evidenció, estos cambios podrían ser indicativos de una ecología microbiana heterogénea durante los últimos 60 días de ensilamiento con la posible generación y reutilización de productos de fermentación, cambios típicos que ocurren como parte de la alimentación cruzada existente entre los microorganismos asociados con la producción de ensilaje (i.e. bacterias acetógenicas y levaduras que utilizan lactato como sustrato). Debido a las características inherentes del ECA y sus fermentaciones etanólicas, se han dirigido esfuerzos recientes con el objetivo de mejorar las características fermentativas de la CA mediante el uso de diversos aditivos de tipo orgánico e inorgánico (Cavali et al., 2010; Nussio et al., 2009; Pedroso et al., 2008 y Castro et al., 2006). Se ha evaluado el uso de compuestos químicos tales como óxido de calcio, urea, benzoato de sodio y sorbato de potasio para dicho fin con resultados variables. Otra vertiente en la investigación ha sido el estudio de la microflora epífita de la CA y la evaluación de inóculos bacterianos comerciales y como estos afectan la fermentación (Ávila et al., 2012; 2009; Pinto et al., 2009; Muraro et al., 2009; Nussio et al., 2009).

5.1.4 Estabilidad aeróbica

El deterioro aeróbico del ensilaje una vez expuesto al aire ocurre debido al metabolismo de azúcares residuales y ácidos orgánicos por microorganismos (i.e. bacterias aeróbicas, levaduras, hongos) lo cual puede ser detectado por aumentos en temperatura y pH (Spoeltra et al., 1998). En el presente experimento, los ECA obtenidos de todos los tiempos de fermentación evaluados, mostraron aumentos en pH ($p < 0.05$) según el tiempo de exposición al aire hasta un aumento promedio de 3.60 unidades de la escala y un valor final al momento final de 7.13 después de los 3 días de exposición (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto del largo de fermentación y días de exposición aeróbica sobre el pH de ensilaje de caña de azúcar

LF ¹ (d)	Exposición aeróbica (días)			EEM ²	p		
	0	1	3		Lf	P/d	Lfxd
30	3.39 ^b	4.21 ^b	7.01 ^a	1.81	0.01	0.01	0.02
60	3.37 ^b	4.69 ^b	6.81 ^a				
90	3.47 ^b	4.06 ^b	7.19 ^a				
120	3.85 ^b	4.80 ^b	7.56 ^a				
150	3.89 ^b	5.12 ^b	7.06 ^a				

¹ Largo de fermentación, ² Error estándar de las medias producto de tres repeticiones, ^{abc} Medias con diferentes letras en la misma fila difieren $p > 0.05$

El tiempo de fermentación de los ECA tuvo una relación inversa, casi uniformemente, con el nivel de acidez (pH mayor) al momento de exponerse al aire (pH de 3.39 a 3.89 con 30 a 150 días de fermentación). El deterioro de la acidez luego de 1 y 3 días de exposición aeróbica no guardó mucha relación con el tiempo de fermentación. Los dos ECA que más

aumentaron su pH de 0 a 1 día de exposición (los fermentados por 60 y 150 días) fueron los que menor aumento sufrieron de 1 a 3 días de exposición. El orden de mayor a menor aumento total en pH durante los 3 días de exposición fue: ECA de 90, 120, 30, 60 y 150 días de fermentación, siendo sus respectivos aumentos de 3.72, 3.71, 3.62, 3.44 y 3.17 unidades de pH, ausente un patrón claro. Teóricamente diferencias en el contenido de los ácidos láctico y acético y de CSA residuales al momento de exponer los ensilajes a condiciones aeróbicas podrían afectar su estabilidad. Por ejemplo, Ávila et al. (2012) observaron un efecto micostático de ácido acético en ensilajes expuestos a condiciones aeróbicas. Al buscar semejantes relaciones en los datos presentes no se discierne tendencias claras. Los microorganismos responsables del deterioro aeróbico de forrajes ensilados utilizan lactato y azúcares residuales como sustrato, reduciendo así la acidez de la masa ensilada y generando calor y pérdidas de carbono (Argamentarí et al., 1997). Una diferencia de 3°C entre la temperatura ambiental y la del ensilaje expuesto a condiciones aeróbicas se considera indicativa de inestabilidad aeróbica. No se verificó un efecto significativo de la interacción entre el largo de fermentación y las horas de exposición aeróbica sobre la temperatura de los ECA (Tabla 7). Lógicamente, sí se detectó un efecto principal del tiempo en horas de exposición sobre los cambios de temperatura de los ensilajes.

Tabla 7. Efecto del largo de fermentación y horas de exposición aeróbica sobre la temperatura (°C) de ensilaje de CA

LF ¹	Hora ²									EEM ³	Lf ²	H	Lfxhr
	0	6	12	18	24	36	48	60	72				
30	26.53	27.92	29.28	31.51	33.19	31.40	30.33	29.38	30.52	4.15	0.73	0.01	0.53
60	27.08	27.78	28.77	30.91	33.49	31.14	30.57	28.97	29.97				
90	26.94	28.47	29.44	31.19	33.14	31.25	30.69	29.00	30.00				
120	27.22	28.31	29.37	31.47	33.29	30.92	29.98	29.52	30.22				
150	26.81	27.86	29.05	30.94	32.92	30.87	30.54	28.87	29.84				

¹ Promedio de 3 repeticiones, ² Largo de Fermentación, ³ Error estándar de las medias

Independientemente del tiempo de fermentación, la temperatura de los ECA expuestos a condiciones aeróbicas aumentó ($p>0.05$) significativamente durante las primeras 24 horas de exposición, luego disminuyó hasta las 60 horas para subir una segunda vez hasta las 72 horas. La temperatura observada en el ECA a las 24 horas de exposición a condiciones aeróbicas superó por más de 3°C a la temperatura ambiente. Esto concuerda con los cambios en acidez observados e indican que el deterioro del ECA durante su uso en la fase de alimentación podría ser un problema práctico.

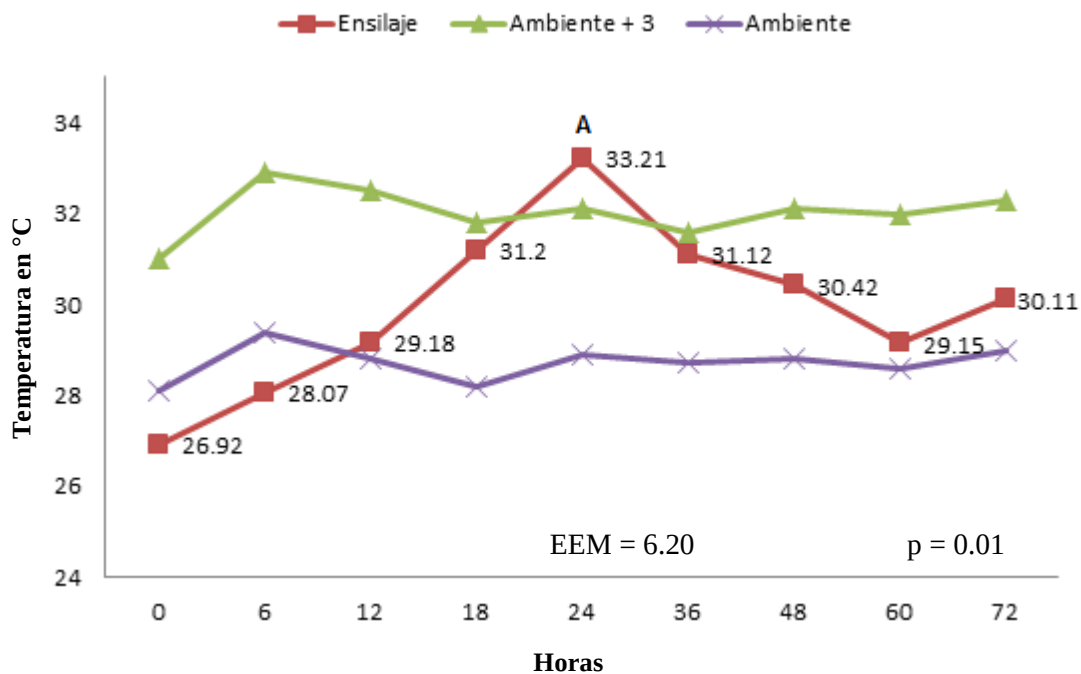


Figura 10. Cambios en temperatura observada durante 72 h de exposición aeróbica en ensilaje de caña de azúcar

Amaral et al. (2009) también señalaron la susceptibilidad del ECA al deterioro una vez expuesto a condiciones aeróbicas. Esta inestabilidad ocurre aun con su alto contenido de ácido acético al momento de exponerse al aire. El elevado contenido de CSA y altas poblaciones de microorganismos asociados al deterioro aeróbico, parecen contrarrestar el efecto micostático del ácido acético.

5.2 Experimento II

5.2.1 Composición química del ensilaje de la caña de azúcar

La composición química de los ingredientes utilizados en este experimento con el propósito de evaluar la inclusión de ECA en una RCM, se presenta en la Tabla 8. Después de 45 días de fermentación de la CA en bolsas plásticas de 55 galones de capacidad, el ensilaje producido tuvo una composición muy parecida a la del ECA obtenido luego de 60 días de fermentación en el experimento anterior (Tabla 2), difiriendo de aquel (en unidades porcentuales) por 0.54 en MS, -1.51 en MO, -0.30 en PB, 0.51 en FDN, 0.65 en FDA y -0.13 en HC. El ECA presente analizo 10.87% en CNF mientras el ECA de 60 días de fermentación del experimento anterior presentó 7.81% de CSA. El HGT resultó ser más fibroso que el ECA (mayores contenidos de FDN, FDA y HC) pero de mayor nivel de PB, mientras su mayor valor para CNF es sorprendente dado un menor porcentaje de contenidos celulares (100-FDN) de 23.2 vs. 30.37. Lógicamente, la composición química del CC usado en las RCM mostró un mayor contenido proteico y mucho menor nivel de FDN que los dos forrajes.

Tabla 8. Composición química de alimentos utilizados en la prueba de alimentación

Componente (%)	Ensilaje ECA	Heno HGT	Concentrado CC
MS	28.75	93.33	90.00
MO²	86.61	89.27	92.80
MI²	13.39	10.73	7.20
PB²	3.50	9.13	13.00
FDN²	69.63	76.80	29.82
FDA²	44.77	48.17	-----
Hemicelulosa^{2,3}	24.87	28.63	-----
CNF²	10.87	13.40	-----

Medias de 3 repeticiones, ² Base Seca, ³ FDN-FDA

5.2.2 Digestibilidad y consumo

Por otra parte, para la prueba en vivo de CV y digestibilidad aparente de las RCM, el PV promedio de los animales bajo ambos tratamientos fue casi igual (34.83 kg para T1y 35.27 kg para T2). Los resultados del consumo y digestibilidad de la MS, PB y FDN de las dos RCM compuestas de 60% CC y 40% HGT o ECA aparecen en la Tabla 9.

Tabla 9. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de las RMC evaluadas

Variable	CC (+) HGT ¹ T1	CC (+) ECA ² T2	EEM	p
Alimento ofrecido(g/día)				
MS	1050.00	1050.00		
PB	119.70 ^a	94.50 ^b	3.06	0.001
FDN	510.43 ^a	480.32 ^b	1.62	0.001
Alimento rechazado(g/día)				
MS	52.00 ^b	310.00 ^a	3.21	0.001
PB	4.75 ^b	10.85 ^a	0.45	0.001
FDN	39.94 ^b	215.85 ^a	2.29	0.001
Alimento consumido(g/día)				
MS	998.00 ^a	740.00 ^b	7.23	0.001
PB	114.95 ^a	83.65 ^b	4.59	0.003
FDN	470.49 ^a	264.47 ^b	6.80	0.001
Digestibilidad(%)				
MS	51.24	57.35	2.13	0.619
PB	57.97	59.44	2.61	0.696
FDN	53.31	52.60	2.92	0.865

¹Dieta Concentrado Comercial + Heno Gramínea Tropical, ² Dieta Concentrado Comercial+ Ensilaje Caña de Azúcar, ^{a,b} Medias con diferentes letras en la misma fila difieren (P<0.05)

El ofrecimiento diario de MS fue 1050 g en ambos tratamientos mientras la PB ofrecida fue mayor ($p<0.05$) por un margen de 25.2 g/día con T1 y el FDN también ($p>0.05$) por 30.1 g/día. Se observó un mayor rechazo ($p<0.05$) de PB y sobre todo de MS y FDN en ovinos alimentados con T2 en comparación con T1 y amplias diferencias ($p<0.05$) a favor de T1 en el consumo diario de MS (998 g vs. 740 g), PB (115 vs. 84 g) y FDN (470 vs. 264 g) (Tabla 9) que piden una explicación. Durante el proceso de recolecta de alimento sobrante fue evidente que hubo una selección de concentrado más que de forraje del T2. Se observó que

no quedaba CC sino mayormente los tallos más gruesos y secos del ECA. Aunque los pedazos de caña en el ECA tenían un largo aproximadamente uniforme algunos pedazos eran de tallo difícil de masticar por el animal, siendo este probablemente un factor importante que influyó negativamente en el consumo de la RCM en cuestión. El uso de ECA ha sido estudiado en otros países. Pedroso et al., (2010) compararon dietas basadas en ECA fermentado con adición de un inóculo de BAL (*L. buchneri*) y CA fresca para alimentar ganado lechero. Aquella dieta resultó en menor consumo de MS y producción de leche, pero una mayor eficiencia alimenticia (leche producida/ MS consumida) y aumentada concentración de grasa láctea relativo a la dieta a base de CA fresca. En otro estudio similar, Pedroso et al., (2010) evaluaron 4 fuentes de forraje, CA picada fresca y ECA fermentada sin aditivo, o con aditivo de benzoato de sodio o un inóculo de BAL conteniendo la cepa heteroláctica, *L.buchneri*, en dietas para novillas en crecimiento. Las novillas que recibieron ECA fermentada con la adición de benzoato de sodio o el inóculo BAL mostraron una mayor tasa de ganancia en peso y más eficiente conversión alimenticia a menor costo por kilogramo de ganancia en peso en comparación con aquellas alimentadas con la dieta a base de CA fresca. También se ha realizado investigación en cabras para evaluar el uso de CA como sustituto dietético de ensilaje de maíz y su efecto sobre varios criterios de desempeño productivo. Cañizares et al. (2012) informaron que la CA fresca picada puede sustituir al ensilaje de maíz en dietas para caprinos adultos en mantenimiento sin afectar su consumo de MS. Además puede reemplazar el ensilaje de maíz en dietas con proporciones de 60 (forraje): 40 (concentrado) para cabras lecheras sin alterar la producción de leche y su contenido de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales.

Cabral et al. (2012) sustituyeron el ensilaje de maíz por CA en la alimentación de cabras lecheras y observaron un efecto sobre la digestibilidad de la ración, pero sin cambios en el consumo del alimento. Recomendaron la CA para alimentar cabras lecheras con bajos requerimientos nutricionales. En otro estudio con cabras lechera, Cabral et al. (2008) observaron que sustituir ensilajes de maíz por CA en las dietas no alteró la composición de la leche aunque disminuyó el consumo de alimento.

En el presente experimento, no se observaron diferencias significativas entre T1 y T2 en la digestibilidad de las tres fracciones químicas estudiadas (Tabla 9). Hubo ventajas numéricas a favor de T2 en digestibilidad de MS y PB por respectivos márgenes de 6.11 y 1.47 unidades porcentuales y una ventaja a favor de T1 en digestibilidad de FDN por un margen de 0.71 unidad de porciento. Probablemente la ingestión selectiva de concentrado sobre ECA observada en T2, contribuyó a la mayor digestibilidad de MS obtenida con este tratamiento. No se encontró en la literatura resultados de otras investigaciones con que comparar los datos presentes de CV y digestibilidad.

Según Rodríguez (2010), el CV de los animales se ve influido por condiciones ambientales, rasgos propios de la planta forrajera y del animal y por las características organolépticas (olor, sabor, consistencia y forma visual) del alimento ofrecido. El AGV que predominó durante el proceso de fermentación de la CA fue el acético, el cual se ha asociado con un mermado CV. En cambio, había poca presencia de amoníaco en el ECA y poca probabilidad de un correspondiente efecto negativo. Cuando ocurre la formación de mucho NH_3 en los ensilajes es adversa al CV debido al olor fuerte y rancio en el material fermentado (McDonald et al., 1991). Este olor se debe a fermentaciones secundarias que realizan microorganismos que hidrolizan carbohidratos residuales. Por su parte, la extensiva

producción de etanol en el ECA si habrá sido un factor negativo que afectó el consumo (Pedroso et al., 2005). Durante el periodo de alimentación el olor a alcohol era notable, lo que pudo ser un factor organoléptico que contribuyó al bajo consumo de T2. Contrario al menor CV en ovinos que recibieron ECA, se observó mayor digestibilidad, aunque no significativa, de la MS y PB al comparar T2 con T1. Molina et al. (1999) estudiaron la digestibilidad de la CA y propusieron la digestión del 50% de la MS como valor mínimo representativo de una utilización eficiente, dato con el que cumplió el valor presente (57.35%), si bien el consumo simultaneo de CC contribuyo a este resultado. Debido a la presencia de muchos CSA en la CA la digestibilidad de su MS tiende a superar a la de los pastos tropicales (Muñoz y González, 1998). Se ha señalado que eliminándole la corteza a la CA antes de ensilarla aumenta todavía más la digestibilidad del ensilaje en ovinos (Montpellier y Preston, 1977). Boin y Tedeschi (1993) informaron digestibilidad de la MS de ECA entre los límites de 54 a 64%. Pedroso et al. (2010) obtuvieron un valor mayor para dicha digestibilidad de 68.2%. Los resultados en cuestión pueden variar dependiendo la variedad de la CA y madurez de la planta al momento de ser cosechada, entre otros factores. Los forrajes gramináceos tropicales, como pasto Guinea, Bermuda, Pangola, Buffel y Tanzania, cuentan con una digestibilidad de 45.2% como mínimo según Juárez et al. (2009). Los valores obtenidos para la digestibilidad de la MS y la PB de la RCM basada en HGT en este experimento fue de 51.24% y 57.97%, respectivamente. La digestibilidad de la PB puede variar ampliamente entre 40 y 90% en las gramíneas (Mertens, 1987) en dependencia de su composición química.

5.2.3 Estabilidad aeróbica

La EA de una RCM conteniendo forrajes fermentados durante la fase de alimentación podría resultar problemática debido al metabolismo de los ácidos orgánicos y azúcares residuales por microorganismos asociados al deterioro aeróbico. Al someter la RCM compuesta de CC y ECA a la prueba de EA durante 3 días, se observó un cambio en pH según ilustrado en la Figura 11. A partir de un valor inicial un poco mayor de 4.0 el pH subió por 2.04 unidades durante las primeras 24 horas ($p < 0.05$), luego siguió aumentando más lento y no significativamente a un valor cercano a 6.5 a los 3 días de exposición aeróbica.

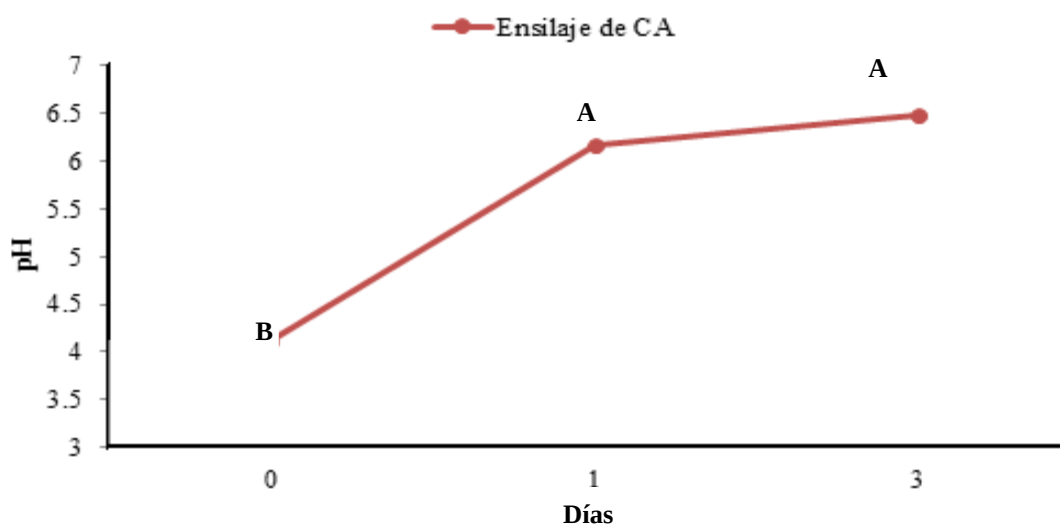


Figura 11. Cambios en pH de la RCM conteniendo ECA expuesto a condiciones aeróbicas durante tres días

La temperatura de la RCM conteniendo 40% de ECA al exponerse a condiciones aeróbicas durante 72 horas mostró un patrón de cambio expuesto en la Figura 12. Incrementó rápidamente durante el primer día de exposición al aire alcanzando su máximo valor de 34.15° C después de 18 horas, para luego disminuir gradualmente hasta un valor final de

30.2°C, después de haber estado a niveles igual o encima de la temperatura ambiente + 3°C por aproximadamente 18 horas.

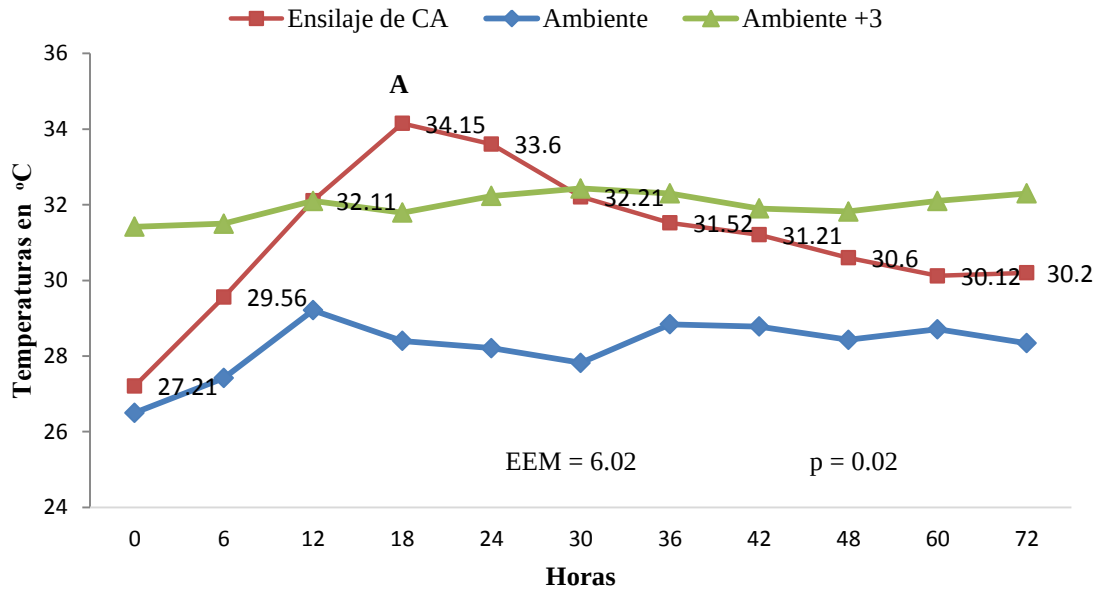


Figura 12. Lectura de Temperatura (°C) de RCM conteniendo ECA durante 72 horas de exposición aeróbica

Estos resultados sugieren que la RCM en cuestión sería susceptible a deterioro dentro de las primeras 24 horas de su uso en la fase de alimentación. Contrario al presente caso, Pedroso et al. (2008) reportaron que el ECA puede ser estable hasta las 48 horas durante la fase de alimentación debido a su contenido de ácido acético. Castro et al. (2006) informaron que las diferencias en EA observadas entre diversas gramíneas fermentadas se debe a varios factores incluyendo la rapidez de la fermentación secundaria al ser expuestas al aire, la composición química y la variedad de la planta ensilada y la naturaleza de la microflora presente.

6.0 CONCLUSIONES

El ensilamiento de la CA en silos de laboratorio por una serie de tiempos de fermentación demostró características fermentativas óptimas, incluyendo un pH promedio de 3.41 y la formación de ácidos orgánicos dentro de los límites sugeridos para definir un ensilaje de buena calidad. A medida aumentó la fermentación hasta 150 días, disminuyó el contenido de MS del ensilaje resultante por 4.63 unidades porcentuales en total y aumentó el de PB por 0.35 unidad con diferencias significativas. El tiempo de fermentación más favorable no pasa de 60 días.

La estabilidad aeróbica del ECA es problemática ya que al tercer día de exposición al aire el pH había aumentado en promedio por 3.62 unidades, mientras la máxima temperatura se había alcanzado ya a las 24 horas. El corto periodo de vida útil del ECA es un factor limitante a su uso cuya superación requiere investigación adicional.

En la prueba en vivo de consumo voluntario y digestibilidad para comparar dos RCM, los ovinos consumieron significativamente más de la dieta que incluyó 40% de HGT que la basada en igual proporción de ECA y la digestibilidad de MS, PB y FDN no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Se sugiere que el menor consumo de la RCM con ECA tuvo que ver con su alto contenido de etanol y la presencia de pedazos duros de las cañas.

7.0 IMPLICACIONES

La presente investigación sobre la utilidad de CA en forma de ensilaje como alimento para rumiantes reveló tanto bondades como limitantes a su posible uso en escala comercial. Se recomienda continuar analizando y mejorando las técnicas de fermentación. Tal vez la utilización de inóculos bacterianos podría ayudar a alargar la estabilidad aeróbica del material fermentado y controlar la producción extensa de etanol, los dos factores de mayor limitación al uso de ECA en la producción pecuaria del país.

8.0 LITERATURA CITADA

Adrizal, A., A. Suprpto, J. Mirzah, 2012. The potency of sugar cane waste product for supporting sustainable beef cattle feed resources at integrated farming center in solok regency, West Sumatra. *IPB*. No. 6, Vol. 5, p. 411-415.

Aguilera, R., G. Llamas, A. Shimada, 1992. Valor nutritivo del ensilaje de pasto elefante (*Pennisetum purpureum* Shem) cv Taiwan adicionado con un inhibidor y dos estimulantes de la fermentación. *Rev Tec Pec Méx*. No. 4, Vol. 30, p. 3.

Alli, I., B. Baker, G. García, 1982. Studies on the fermentation of chopped sugarcane. *Anim Feed Sci and Tech*. No. 33, Vol. 7, p.411- 417.

Álvarez, F.J., A. Priego, T. Preston, 1977. Animal performance on ensiled sugar cane. *Trop Anim Prod*. No. 50, Vol. 2, p. 27.

Amaral, R.C., A. Pires, I. Susin, 2009. Cana-de-açúcar ensilada com ou sem aditivos químicos: fermentação e composição química. *Rev Bras de Zootec*. No.8, Vol.38, p.1413-1421.

Antunes, F., S.Valadares, G.Chamon, M.Pies, D.Zanetti, M.Grossi, D. Pina, K. Komura, 2012. Intake and performance of feedlot cattle fed diets based on high and low Brix sugar cane with or without calcium oxide and corn silage. *R. Bras. Zootec*. No.6, Vol.41, p. 1499-1508.

AOAC. 1990. Methods of Analysis. The Association of Offical Analytical Chemists, Washington, D.C. No. 1, Vol.15, p.3-6.

Argumentaría, A., B. de la Roza, A. Martínez, L. Sánchez, A. Martínez, 1997. El ensilado en Asturias. *Centro de Investigación Aplicada y Tecnología*. No. 7847, Vol. 84, p. 1-127.

Aronow, L. 2004. Fueling Brazil's Future. *Américas*. No.6, Vol.65, p.46.

Avila, C., J.C. Pinto, W.F. Duarte, B.F. Carvalho, R.F. Shwan, 2009. Screeing of lactic acid bacteria for sugarcane ensiling. *XVth International Silage Conference Proceedings Madison Wisconsin*. p. 205.

Ávila, C., J.C. Pinto, D.P. Oliveira, R.F. Schwan, 2012. Aerobic stability of sugarcane silages with a novel strain of *Lactobacillus* sp. isolated from sugar cane. *R. Bras. Zootec*. No.2, Vol. 41, p. 78-92.

Banschbach, V., R. Letovsky, 2010. The use of corn versus sugarcane to produce ethanol fuel: A fermentation experiment for environmental studies. *American Biology Teacher*. No.18, Vol.72, p.31.

- Beaumont, R., S. Prache, M. Meuret, P. Morhand Fehr. 2000. How forage characteristics influence behavior and intake in small ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* No.61, Vol.1, p.15-28.
- Bell, F. 1984. Aspects of investigative behavior in cattle. *J. Anim. Sci.* No.5, Vol.59, p.1369-1372.
- Bindraban, P., E. Bulte, S. Conjin, 2009. Can large-scale biofuels production be sustainable by 2020? *Agricultural Systems.* No.21 ,Vol. 101, p. 197-199.
- Boin, C., L. Tedeschi, 1993. Cana-de-açúcar na alimentação de gado de corte. In:Simposio sobre nutrição de bovinos 5, Piracicaba, *FEALQ.* p.107-126.
- Borreani, G., T. Fernandes, E. Tabacco, 2008. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. *R. Bras. Zootec.* No. 34, Vol.31. p.68-77
- Bradford, B., M. Allen. 2007. Rate of propionate infusion within meals does not influence feeding behavior. *J. Dairy Sci.* No.5, Vol.90, p. 2305-2308.
- Brassley, P. 1996. Silage in Britain, 1880-1990; The delayed adoption of an innovation. *The Agricultural History Review.* No.1, Vol. 44, p. 63-87.
- Cabral, O., H. Rocha, J. Gash, M. Ligo, J. Tatsch, H. Freitas, E. Brasilio, 2012. Water use in a sugarcane platation. *GCB Bioenergy.* No. 5, Vol 4, p. 555-565.
- Cabral, L., S. Valadares, E. Detmann, 2008. Eficiência microbiana e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas à base de volumosos tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia,* No. 5, Vol.37, p. 919-925.
- Cañizares, G., H. Gonçalves, P. Meirelles, R. Branco, R. Marqués, R. Lourençon, M. Canizares, 2012. Intake and ruminal paramenters in goats fed sugarcane as a substitute of corn silage. *XI International Conference on Goats, Spain.* N.54.
- Castro, C., H. Carneiro, R. Castro, H. Pereira, R. Schwan, 2006. Perfil microbiológico e químico da silagem de cana-de-açúcar com aditivos químicos. *Braz. J. Microbiol.* No.4, Vol.37, p. 34-50.
- Cavali, J., O. Pereira, S. Valadares, E. Santos, G. Pinto de Carvalho, M. Santos, M. Porto, J. Huback, 2010. Características bromatológicas e microbiológicas de silagens de cana- de- açúcar tratadas con óxido de cálcio. *R. Bras. Zootec.* No.7, Vol.39, p. 65-72.
- Contreras, F., R. Muck, 2006. Inoculantes microbiales para ensilaje. *Focus on Forage.* No.4, Vol. 8, p. 1-4.

Crist, R., 1948. Sugar cane and coffee in Puerto Rico, I. The role of privilege and monopoly in the expropriation of the jíbaro. *American Journal of Economics and Sociology*. No. 10, Vol. 2, p. 173-184.

Cuarón, L., y S. Shimada, 1981. Manipulación de la fermentación en ensilajes de caña de azúcar y su valor alimenticio para corderos. 2. Adición de monensina sódica al suplemento y tratamiento físico y alcalino (NaOH) de la caña de azúcar en el comportamiento animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. No. 5, Vol. 15, p. 177-186.

Dawson, L., R. Steen, 2000. Relationship between dry matter, fibre and nitrogen degradation characteristics of silage and silage intake of steers. *J. Anim Sci*. No.3, Vol. 70, p. 537-546.

FAO. 2001. FAOSTAT Agriculture Data. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. (Available at: <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>). Consulted on: December 21, 2011.

Galloway, J., 2005. The Sugar Cane Industry: An Historical Geography from its Origins to 1914. *Cambridge Studies in Historical Geography*. p.284.

Gómez, F., 1983. Caña de azúcar. *Editorial FONAIAP* Caracas, Venezuela. No. 1, Vol. 10, p. 400- 650.

Google maps. 2013©. Map data Google.

Hernández, E., 1969. Crónicas de Puerto Rico: desde la conquista hasta nuestros días 1493-1955. *Editorial de la Universidad de Puerto Rico*. p. 5.

Holzer, M., E. Mayrhuber, H. Danner, L. Madzingaizo, R. Braun, 1999. Effect of *Lactobacillus* sp. and *Enterococcus* sp. on silaging and aerobic stability. *The XII International Silage Conference. Uppsala, Sweden*. p. 270-271.

Infostat, 2009. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Jobim, C., L. Nussio, R. Reis, P. Schmidt, 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *R. Bras. de Zootec.* No. 8, Vol.36, p. 101-119.

Juarez, F., J. Vilaboa, P. Diaz, 2009. La caña de azúcar: Una alternativa para la sustitución de maíz en la alimentación de bovinos de engorda. *Programa Agroecosistemas Tropicales*. p.1-6.

Kennington, L.R., C.W. Hunt, J.I. Szasz, A.V. Grove, and W. Kezar. 2005. Effect of cutting height and genetics on composition, intake, and digestibility of silage by beef heifers. *J. Anim. Sci*. No. 83, Vol. 32, p. 1445-1454.

Kimberg, C., W. White, J. Miller, B. Legendre, 2006. Sugarcane resistance to the sugarcane borer: response to infestation among progeny derived from resistant and susceptible parents.

Revista del Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar (CENGICANA). No.3, Vol. 24, p. 14-21.

Kung, L., R. Stanley, 1982. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. *J. Anim Sci.* No.4, Vol. 54, p. 689-696.

Macinnis, P., 2002. Bittersweet: The story of sugar. *Allen & Unwin St. Leonards, N.S.W. Australia*. XXV. p.190.

Martín, P.C., 2004. La alimentación del ganado con caña de azúcar y sus subproductos. *La Habana, Cuba. EDICA*. No. 3, Vol. 13, p.193.

Martínez, J.L., F. Arias, R. Machiavelli, E.O. Riquelme, A.A. Rodríguez, 1998. Effect of a lactic acid producing bacterial inoculant on the fermentation characteristics of forage sorghum ensiled in a tropical environment. *34th Annual Meeting, CFCS, Montego Bay, Jamaica*. p. 55.

McDonald, P., R. Edwards, 1976. The Influence of conservation methods on digestion and utilization of forages by ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*. No.2, Vol. 35, p. 201 - 211.

McDonald, P., N. Henderson, S. Heron, 1991. The Biochemistry of Silage. Chalcombe Publications, Marlow, UK.

Mejía, H., 2002. Consumo voluntario de forraje por rumiantes en pastoreo. *Acta Universitaria Mexico*. No.3, Vol. 12, p.34-50.

Mertens, D.R., 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Anim. Sci.* No.15, Vol. 64, p. 1548-1558.

Midori, E., L. Zeoula, C. Jobim, U. Cecato, L. Rigolon, R. Kazama, G. Jacobi, A. Grolli, 2012. Intake, digestibility, rumen characteristics and microbial protein synthesis efficiency in bovine and bubaline fed sugar cane silage with additives. *R. Bras. Zootec.* No.3, Vol. 41, p.46-52.

Midori, E., L. Zeoula, C. Cabreira, F. Bertaglia, R. Cornelis, L. Geron, D. Sampo, 2011. Chemical composition, fermentation, in vitro digestibility and in situ degradability of sugar cane silages with *Lactobacillus*, urea and agricultural byproduct. *R. Bras. Zootec.* No.12, Vol. 40, p.49-70.

Miszputen, M., 2007. Simply Cachaca, Simply Brazil. *The Journal of Food and Culture. Gastronómica*. No.2, Vol. 7, p. 90-93.

Molina, A., J. Sierra, I. Febles, 1999. Ensilaje de caña de azúcar con síntesis protéica. Efectos combinados del aditivo y la densidad. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* No. 8, Vol. 33, p. 215.

- Montpellier, F., T. Preston, 1977. Digestibility of tops, rind, derinded stalk and the entire plant of sugar cane. *Tropical Animal Production*. No. 14, Vol. 2, p.13–17.
- Moran, J., 2005. Making quality silage. *Tropical Dairy Farming*. No. 11, Vol. 312, p. 83-97.
- Muñoz, E., R. González, 1998. Caña de azúcar integral para estimular el consumo a voluntad de alimentos voluminosos en vacas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. No. 7, Vol. 31, p. 33-40.
- Muraro, G.B., G.B. Murao, B.N.F.S. Travagin, M. Zopallato, R.C. Amaral, S.G. Toledo, L.G. Nussio, 2009. Effects of *Lactobacillus buchneri* on fermentative profile and microbial population in sugar cane silages. *XVth International Silage Conference Proceedings, Madison, Wisconsin*. p. 179.
- Nussio, L.G., R.C. Amaral, G.B. Muraro, B. Domeniconi, V.P. Santos, A.L.B. Schogor, J.L.P. Daniel, G.B. Mourao, 2009. An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* to control total losses and improve the aerobic stability of the two sugarcane varieties harvested for silage. *XVth International Silage Conference Proceeding, Madison, Wisconsin*. p.285-286.
- Parra, R. 2010. Review. Bacterias Acido Lacticas: Papel Funcional en los Alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. No.1, Vol. 8, p.93-105.
- Pedroso, A., L. Nussio, A. Rodrigues, F. Portela, G. Barreto, W. Barioni, 2010. Performance of dairy cows fed rations produced with sugarcane silages treated with additives or fresh sugarcane. *R. Bras. Zootec.* No.9, Vol. 39, p.1889-1893.
- Pedroso, A., L. Nussio, D. Santana, S. Paziani, J. Ribeiro, L. Mari, M. Zopollatto, P. Schmid, W. Soares, J. Horii, 2008. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. *Sci. Agric. Piracicaba, Braz.* No.6, Vol. 65, p. 13560-970.
- Pedroso, A., L. Nussio, S. Paziani, L. Reboucas, M. Igarasi, R. Coelho, I. Packer, J. Horii, L. Gomes, 2005. Fermentation and ephiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. *Sci. Agric.* No.5, Vol. 62, p. 427-432.
- Pinto, J.C., C.L.S. Avila, B.F. Carcalho, R.F. Shwan, 2009. Effect of novel strain of lactic acid bacteria in sugarcane silage. *XVth International Silage Conference Proceeding Madison Wisconsin*. p. 87.
- Rochman, H., 2010. Sugar Changed the World: A Story of Magic, Spice, Slavery, Freedom, and Science. *Clarion Books*. No.3, Vol. 64, p. 43.
- Rodríguez, W., 2010. “Características fermentativas, consume voluntario y digestibilidad de nutrimentos de henilaje de sorgo forrajero (*Sorghum bicolor* L Moench) y sorgo-sudan (Sudax) fermentado en pacas cilíndricas. Tesis. MS. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

Rodríguez, A.A., F. León, 2006. Forage intake and nutrient digestibility of native tropical grass hay and sorghum silage with or without supplementation of the two fermented organic wastes. *J. Agric. Univ. P.R.* No. 90, Vol. 2, p. 57-73.

Rodríguez, A.A., S.R. Rust, E.O. Riquelme, M.T. Yokoyama, 1996. Effect of silage additives and length of aerobic exposure on dry matter degradability and recovery of forage sorghum ensiled at two stages of maturity. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* No. 2, Vol. 4, p. 91.

Rosales, R., 2006. Uso de la Caña de Azúcar en la Alimentación Animal. *Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica (ATACORI)*. No. 30, Vol.2, p. 859-864.

Rosario, C., 2012. Efecto de la aplicación de inóculos microbianos sobre las características fermentativas, estabilidad aeróbica y consumo voluntario de ensilaje de gramíneas tropicales naturalizadas. Tesis. MS. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

Roza, B. de la., 1998. Mantener la calidad del silo una vez abierto. *Tecnología Agroalimentaria. CIATA*. No. 12, Vol. 2, p.526-528.

Roza, B. de la., 2005. El ensilado en zonas húmedas y de calidad. *Jornadas de Alimentación Animal*. No. 5, p.1-20.

Shih, S., A. Gasho, 1980. Sugarcane stalk distribution in two row spacings. *Proc 17th Cong. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* No. 12, Vol. 7, p. 38-51.

Shroeder, J.W., 2004. Silage fermentation and preservation. AS-1254. North Dakota State University Extension Service.

Silva, F., C. Diaz-Ambrona, M. Buckeridge, S. Souza, V. Barbieri, D. Dourado, 2008. Sugarcane and climate change: effects of CO₂ on potential growth and development. *Acta Hort.* No. 3, Vol. 802, p. 331-336.

Spoelstra, S., M. Courtin, J. Van Beers, 1988. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage. *J. Agric. Sci.* No. 18, Vol. 11, p. 127-132.

Subirós, F., 1995. El Cultivo de la Caña de Azúcar. 1ed. San José, Costa Rica: EUNED. No.6, Vol. 2, p. 353-370.

Valle, A., J. Palma, S. Rodríguez, L. León., 2006. Caña de azúcar para la alimentación de rumiantes. *Carabobo Pecuario*. No.164, Vol. 0034-7744, p. 20-24.

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Comstock Publishing Assoc., Ithaca, New York.

Weingerg, Z., G. Ashbell, Y. Chen, 2003. Stabilization of returned dairy products by ensiling with straw and molasses for animal feeding. *J. Dairy Sci.* No. 4, Vol. 86, p. 1325-1329.

Wiseman, H., H. Irvin, 1957. Determination of organic acids in silage. *J. Agric. Food Chem.*, No.3, Vol. 5, p 213–215.

Woolford, M. K., 1990. The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* No. 11, Vol. 68, p. 101-116.

Zayas Rivera, D., 2003. El Verdor y Dulce de Nuestra Caña de Azúcar, 1er ed. *Grupo Editorial EPRL*. Puerto Rico. 08111801.

Zayas Rivera, D., 2008. El final de la industria azucarera en Puerto Rico, 1er ed. *Ediciones SITUM Inc.* Puerto Rico. 1596085800.