

**CONSUMO VOLUNTARIO Y DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES
DE HENO DE GRAMINEAS TROPICALES NATIVAS Y ENSILAJE
DE SORGO Y EL EFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON
RESIDUOS FERMENTADOS DE PESCADERÍA**

por

Félix Jaime León Álamo

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

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Industria Pecuaria

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2003

Aprobado por:



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

16 Diciembre 2003

Fecha



Teodoro Ruiz, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

16 dic 2003

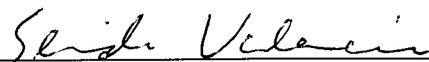
Fecha



Abner A. Rodriguez, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

16 - 12 - 2003

Fecha



Elíde Valencia, Ph. D.
Representante de Escuela Graduada

16 - 12 - 2003

Fecha



José R. Latorre, Ph.D.
Director de Departamento

16 - 12 - 2003

Fecha



José Mari Mutt, Ph.D.
Director Escuela Graduada

16 - 12 - 2003

Fecha

RESUMEN

Se llevaron a cabo tres ensayos con el objetivo de evaluar el consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas tropicales nativas (GTN) y ensilaje de sorgo (ES) con o sin suplementación de dos residuos fermentados de pescadería, residuos de la producción de filete de tilapia (RFPT) y lodos fermentados de la industria atunera (LFIA). Además, se evaluó la estabilidad aeróbica de éstos.

En el primer ensayo metabólico se determinó el consumo voluntario de forraje y la digestibilidad "in vivo" de la materia seca (MS), proteína bruta (PB) y fibra detergente neutro (FDN) de GTN y ES. Cuatro ovejos criollos adultos se distribuyeron a los tratamientos según un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los resultados indicaron un mayor consumo voluntario por parte de los animales alimentados con heno de GTN. La digestibilidad aparente fue mayor para heno de GTN que ES, pero estas diferencias no alcanzaron significación estadísticas.

En el segundo y tercer ensayos metabólicos se evaluó el efecto de la suplementación con RFPT y LFIA, a niveles de 30% del consumo de MS sobre el consumo y digestibilidad de los forrajes conservados. En ambos experimentos, se utilizaron 8 ovejos adultos distribuidos según un DCA. Se observó que al suplementar los ovejos con RFPT y LFIA aumentó ($P < 0.05$) el consumo voluntario de MS y PB en relación al consumo solo de forraje. Se alcanzaron mayores consumos de MS ($P < 0.05$) con heno de GTN que con ES. La suplementación con ambos residuos fermentados de pescadería tendió a aumentar la digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN en el ES.

Además, los residuos fermentados de pescadería aumentaron la digestibilidad aparente de la PB y el LFIA aumentó la digestibilidad aparente de la MS en el heno de GTN y solo se observó un efecto negativo en la digestibilidad aparente de FDN cuando se suplemento con LFIA. Por ende, el uso de RFPT y LFIA representa una alternativa para promover el consumo voluntario y en algunos casos aumentar la digestibilidad aparente en rumiantes consumiendo dietas basadas en forrajes tropicales conservados como heno de GTN y ES.

Para determinar la estabilidad aeróbica de los residuos fermentados, muestras en triplicado de RFPT y LFIA se expusieron al aire durante 5 días y se analizaron para determinar cambios en pH, temperatura y poblaciones microbianas (bacterias totales y hongos y levaduras). Se observó la temperatura diariamente después de 1, 3 y 5 días de exposición aeróbica y se cuantificó el porcentaje de residuo fermentado recuperado. No se observaron diferencias marcadas en el pH, temperatura, composición química y características fermentativas de los LFIA y RFPT expuestos al aire durante 5 días, lo que sugiere que ambos residuos fermentados de pescadería son aeróbicamente estables.

ABSTRACT

Three experiments were conducted to determine the dry matter (DM) intake and nutrient digestibility of native tropical grass hay (NTG) and sorghum silage (SS) with or without supplementation of the two fermented organic wastes, by-product from a tilapia fish processing plant (FWTP) and sludge from a tuna processing plant (FSTP). The aerobic stability of the fermented wastes was also evaluated.

In the first metabolic trial, the DM intake and "in vivo" digestibility of DM, crude protein (CP), and neutral detergent fiber (NDF) of NTG hay and SS were determined. Four native lambs were assigned to treatments as a completely randomized design (CRD). The results showed higher forage intake ($P < 0.05$) in lambs fed with NTG hay than with SS. Nutrient digestibility was higher for NTG hay than for SS, but these differences were not statistically significant.

In the second and third metabolic trials the effect of supplementation with FWTP and FSTP on forage intake and nutrient digestibility of NTG hay and SS was evaluated. Both fermented wastes were offered at 30% of expected animal DM intake based on live weight. In each experiment eight native lambs were assigned to treatments as in a CRD. The lambs supplemented with both fish by products had higher ($P < 0.05$) DM and CP intakes than animals without supplementation, but a greater response was observed in those consuming NTG hay rather than SS. Both fish supplements also tended to improved DM, CP and NDF digestibility in SS. Also both fermented fish residues improved CP digestibility and the FSTP increased digestibility of DM with NTG hay, and the only negative effect was observed on the digestibility of NDF when

supplemented with FSTP. Therefore, the use of FWPT and FSPT represents an alternative to promote the feed intake and improve in some respects the digestibility in ruminants consuming diets based on tropical conserved forages has hay or silage.

To determine the aerobic stability of FWTP and FSTP, triplicate samples from each fermented by-product were exposed to air for 5 days and analyzed to determine changes in pH, temperature and microbial populations (total bacteria, yeast and molds). Temperature was monitored daily and fermented product recovery (%) was calculated after 1, 3, and 5 days of aerobic exposure. In both fermented by-products pH, temperature, chemical composition and fermentation characteristics were similar during the 5 day aerobic exposure period, suggesting that both are stable to aerobic conditions.

DEDICATORIA

Por todos aquellos momentos de comprensión, paciencia, locura y apoyo moral
a mi esposa Yenariliz (Yeni).

“Hay un problema”

AGRADECIMIENTOS

Siempre en la vida hay personas que creen en ti. Por tal motivo, agradezco profundamente al Dr. Abner Rodríguez, presidente del comité graduado por brindarme orientación, paciencia y por darme la oportunidad de cursar estudios graduados y creer en mis capacidades. En especial, en exigir en los momentos que tenia que hacerlo; gracias por todo.

Al Dr. Teodoro Ruiz, miembro del comité graduado, por su apoyo, sugerencias y revisión del documento.

Al Dr. Paul Randel, miembro del comité graduado, por su apoyo, sugerencias y revisión del documento.

Al Dr. Alfredo Sanjuan por sus orientaciones y apoyo técnico.

Al Dr. Ernesto Riquelme, por sus sugerencias, orientación técnica y apoyo.

A todas aquellas personas que me brindaron su ayuda en determinado momento, mis compañeros de laboratorio por brindarme de su tiempo y esfuerzo. En especial al Agro. Shyara Alvelo por su apoyo en los procedimientos de laboratorio y apoyo moral. El Agro. Héctor Díaz por su apoyo técnico y sugerencias. Al Agro. Rafael Rivera por su ayuda en la recolección de datos en el campo y amistad. Además, a todo el personal del Departamento de Industria Pecuaria que de una u otra manera aportaron al desarrollo de este proyecto.

Al final a mi esposa; Yenariliz (Yeni) por toda su comprensión, paciencia, consejos y fortaleza. Por ultimo, en especial Dios, por permitirme crecer como ser humano. Gracias a todos.

TABLA DE CONTENIDO

Lista de figura.....	x
Lista de cuadros.....	xi
Introducción.....	1
Objetivos.....	4
Revisión de Literatura.....	5
I. Alimentación de rumiantes en pastoreo.....	5
II. Forrajes conservados.....	6
1. Heno.....	6
2. Ensilaje.....	8
III. Residuos agrícolas y subproductos.....	9
IV. Procesado, manejo y utilización de residuos de la industria pesquera.....	10
1. Producción de aceite y harina de pescado.....	11
2. Ensilaje de residuos de pescadería.....	13
3. Uso de ensilaje de residuos pesqueros en la industria pecuaria	17
Materiales y Métodos	
Facilidades físicas.....	24
Heno y ensilaje.....	24
Residuos fermentados de pescadería.....	24
Animales y su manejo.....	25

Estabilidad aeróbica de los residuos fermentados de pescadería.....	27
Diseño experimental y análisis estadísticos.....	28
Ensayos metabólicos.....	28
Estabilidad aeróbica.....	29
Resultados y Discusión.....	30
Heno y ensilaje.....	30
Suplementación con los residuos fermentados de la producción de filete de tilapia.....	34
Suplementación con lodos fermentados de la industria atunera.....	38
Comparación dentro de cada forraje del efecto de la suplementación de residuos fermentados de pescadería sobre el consumo y digestibilidad de nutrientes.....	42
Estabilidad aeróbica de residuos fermentado de la producción de filete de tilapia y lodos fermentados de la industria atunera.....	46
Conclusiones.....	56
Implicaciones.....	57
Literatura Citada.....	58
Apéndices.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Producción de harina y aceite mediante el sistema continuo de reducción húmeda de residuos de pescado.....	21
Figura 2	Producción de harina y aceite mediante el sistema de reducción seca de pescado.....	22
Figura 3	Proceso de acidificación directa y de fermentación biológica en la producción de ensilaje de residuos de pescadería	23
Figura 4	Materia húmeda recuperada de residuos fermentados de la producción de tilapia expuestos al aire durante 5 días.....	50
Figura 5	Materia húmeda recuperada de lodos fermentados de la industria atunera expuestos al aire durante 5 días.....	54
Figura 6	Temperatura de residuos de pescadería expuestos al aire durante 5 días...	55

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición química de los forrajes utilizados en los ensayos metabólicos.....	30
Cuadro 2.	Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales nativas.....	32
Cuadro 3.	Composición química y productos de fermentación de los residuos fermentados de la producción de filete de tilapia.....	34
Cuadro 4.	Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales nativas suplementados con residuos fermentados de la producción de filetes de tilapia.....	35
Cuadro 5.	Composición química y productos de fermentación de los lodos fermentados de la industria atunera.....	38
Cuadro 6.	Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales nativas suplementados con lodos fermentados de la industria atunera.....	40
Cuadro 7.	Consumo voluntario y digestibilidad aparente de heno de gramíneas tropicales nativas suplementado con residuos fermentados de pescadería.....	43
Cuadro 8.	Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo suplementado con residuos fermentados de pescadería.....	44
Cuadro 9.	Composición química de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	48
Cuadro 10.	Productos de fermentación de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	49
Cuadro 11.	pH y poblaciones microbianas de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	50

Cuadro 12.	Composición química de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	52
Cuadro 13.	Productos de fermentación de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	53
Cuadro 14.	pH y poblaciones microbianas de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.....	54

INTRODUCCIÓN

En la empresa agropecuaria local la alimentación es uno de los renglones más importantes debido a los altos costos relativos a su variabilidad. En la actualidad, el consumo de gramíneas tropicales en pastoreo se considera como la mayor fuente alimenticia de vacunos para carne, ovinos y caprinos en Puerto Rico. Sin embargo, en épocas de lluvia excesiva o de sequía, la disponibilidad y calidad del forraje en sistemas de pastoreo se ve afectada. Actualmente la conservación de los forrajes en forma de heno en pacas cuadradas y de ensilaje en pacas cilíndricas son las alternativas más utilizadas por los productores pecuarios de la isla. No existe mucha información actualizada sobre el aporte nutricional en términos del consumo voluntario y digestibilidad de los diversos nutrientes, de gramíneas tropicales conservadas. No hay duda que, en general, el valor nutritivo de las gramíneas tropicales, ya sean frescas o conservadas, no es capaz de sostener una alta producción animal. Esto sugiere que el uso de suplementos proteicos y energéticos son necesarios para satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales para una alta productividad.

En toda industria moderna rentable destinada a la producción de alimentos se producen cantidades de residuos orgánicos que, de no ser utilizados en la generación de otros productos para el consumo humano o animal, representan un problema operacional y en ocasiones legal para la industria y una fuente de contaminación ambiental. Este problema es uno de los más críticos para la industria de la pesca a nivel mundial, debido a las grandes cantidades de residuos orgánicos que se generan y se descartan en el mar o en tierra (vertederos). Actualmente estos residuos orgánicos

representan un 60% de la materia total resultante del procesado de pescadería para el consumo humano (Raa y Gildberg, 1982). Debido a la preocupación que genera la disposición de estos residuos como posibles contaminantes del medio ambiente (agua, suelos y aire) y la incapacidad de costear un sistema de manejo de desperdicios efectivo, se crea el interés en evaluar nuevas tecnologías alternas para su disposición que sean económicamente factibles.

En Puerto Rico, la disposición de los residuos orgánicos de la industria acuícola (peces de descarte y residuos del procesado de filete) y la industria del enlatado de atún (lodos) resulta en problemas de contaminación ambiental y de costos adicionales para las operaciones, limitando así las posibilidades de expansión de estas empresas. Los residuos del procesado de pescadería para el consumo humano, provenientes de peces descartados y residuos del procesado de filete, no se han cuantificado, pero en Puerto Rico la industria de enlatado de atún y los diferentes procesos de recuperar harina y aceite, generan subproductos adicionales equivalentes a 2.5 millones de galones de aguas usadas, que al tratarse producen unos 75,000 galones de lodo viscoso por día (comunicación personal, Dr. Alfredo Sanjuán). Para su disposición final estos residuos se inyectan en la tierra según establecido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés).

El aporte proteico y energético de los alimentos es fundamental para la producción pecuaria. Actualmente, uno de los mayores retos de la industria agropecuaria local es la disponibilidad sostenida de alimentos a precios accesibles. La escasez de materias primas locales similares en aporte nutricional a la harina de pescado, maíz de

grano y harina de soya, así como otras fuentes alternas de nutrientes señala la deseabilidad del desarrollo de nuevas tecnologías para el uso de subproductos de bajo costo. Investigaciones recientes han demostrado que residuos de pescadería previamente sin utilidad pueden servir de suplementos proteicos en dietas para animales domésticos (Bello, 1997; Sanjuan, 2001). Un ejemplo de ello son los ensilajes fabricados por la fermentación anaeróbica de residuos de pescadería, que son utilizados como alternativos a la harina de pescado en situaciones donde no existe la posibilidad de procesar aquellos, manufacturarlos o almacenarlos adecuadamente (Oyedapo y Jauncey, 1993; Sanjuan, 2001).

Esta investigación se diseñó con el objetivo de comparar el valor nutritivo en términos de consumo voluntario y digestibilidad, de dos forrajes tropicales conservados como heno y ensilaje. Además, se buscó evaluar los efectos de la utilización de ensilaje de residuos fermentados de pescadería sobre el consumo voluntario y digestibilidad de los mismos forrajes tropicales conservados y también estudiar la estabilidad aeróbica de los subproductos fermentados.

OBJETIVOS

Comparar el consumo voluntario y la digestibilidad de los nutrientes presentes en dos forrajes tropicales conservados como heno y ensilaje.

Evaluar el efecto de la suplementación con ensilaje de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia y de lodos de la industria atunera sobre el consumo voluntario y la digestibilidad de los dietas basadas en gramíneas tropicales.

Evaluar la estabilidad aeróbica de dos ensilajes de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia y de lodos de la industria atunera.

REVISIÓN DE LITERATURA

I. Alimentación de rumiantes en pastoreo

En la operación de cualquier empresa agropecuaria la alimentación animal representa uno de los renglones fundamentales. En Puerto Rico, las gramíneas tropicales para pastoreo, se consideran la fuente alimenticia más abundante y de menor costo existente entre los productores de vacunos de carne y pequeños rumiantes, y son la principal fuente de fibra de que dependen los productores de vacunos para leche. Sin embargo, debido a nuestras condiciones tropicales, caracterizados por épocas lluviosas y secas, la disponibilidad del forraje es variable, lo que impone la necesidad de disponer de reservas alimenticias durante ciertas épocas. Por ende, la conservación de forrajes es esencial para la alimentación animal en la mayoría de las operaciones ganaderas.

Por otro lado, las gramíneas tropicales, ya sean frescos o conservados, tienen limitaciones en su valor nutricional. Un factor que afecta la composición química y valor nutritivo de los forrajes es la etapa de madurez (estado fenológico) al momento de la cosecha o pastoreo (Church et al.; 2002). Su composición química varía también con la época del año. En áreas de producción extensivas, durante los meses secos, el contenido de proteína bruta oscila entre un 3% a 4% con la posibilidad de disminuir aun más en secas prolongadas (Rodríguez et al., 1998a). Estos bajos niveles de nitrógeno pueden afectar negativamente la actividad ruminal de las bacterias celulolíticas, causando una utilización incompleta de los carbohidratos estructurales y una menor razón de pasaje de la digesta, reduciendo así el consumo voluntario de los animales (Van Soest, 1994; Crowder y Cheda, 1982; Milford y Minson, 1983 citados por Rodríguez et al., 1998b).

El uso estratégico de suplementos nitrogenados en rumiantes consumiendo dietas basadas en gramíneas tropicales durante la estación seca del año, puede corregir dicha deficiencia en beneficio del consumo voluntario y rendimiento animal.

Los pastos y forrajes tropicales conservados en forma de heno en pacas cuadradas y de ensilaje en pacas cilíndricas son en la actualidad las alternativas más utilizadas por los productores pecuarios de la isla. Comparado con el material vegetativo fresco, el valor nutritivo del ensilaje puede afectarse debido a las pérdidas relacionadas con los procesos de fermentación y deterioro aeróbico (Ojeda, 1988). El valor nutritivo del heno se afecta en mayor o menor grado, durante el proceso de secado (Van Soest, 1994). Actualmente existe en la literatura información limitada sobre las diferencias entre el valor nutritivo (consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes) entre gramíneas tropicales conservadas como heno y ensilaje, por lo que existe la necesidad de la evaluación entre forrajes conservados por estos dos métodos.

II. Forrajes conservados

1. Heno

Durante la henificación una estrategia utilizada comúnmente es cosechar el cultivo en la etapa óptima (crecimiento) para obtener la máxima producción de nutrientes por unidad de área superficial. La calidad y tonelaje del heno obtenido dependen de factores como la madurez de la planta, método de corte y condiciones climatológicas durante la cosecha, entre otros (Church et al., 2002). Para producir un heno de calidad es esencial reducir el contenido de agua rápidamente a un nivel lo suficiente bajo para su almacenamiento con el mínimo de cambios nutricionales en el forraje (Church et al.,

2002). El nivel de humedad óptimo en el heno para almacenaje no debe exceder de un 15%, o sea mayor de 85% de materia seca (MS). El proceso de secado debe ser lo más rápido posible para minimizar los cambios en los componentes químicos del forraje, que resultan de la actividad de enzimas vegetales y de microorganismos y la oxidación de nutrientes, reflejándose éstos por cambios en el color del forraje (Church et al., 2002). El secado lento suele estar acompañado de crecimiento excesivo de moho que reduce la aceptabilidad animal y el valor nutricional y aumenta la posibilidad de toxicidad del forraje. Entre los factores que pueden influenciar el contenido de humedad durante la henificación están la edad del forraje cortado, la pérdida de hojas durante el secado y factores climatológicos. La lluvia puede ser desde leve hasta marcadamente perjudicial. Si un forraje cortado para henificar está parcialmente seco al presentarse un tiempo lluvioso el producto suele ser de baja calidad por la condición húmeda prolongada y el consiguiente daño debido a lixiviación, posible desarrollo de hongos y pérdidas de hojas (Church et al., 2002).

Antes de que el forraje alcance su punto de sequedad final puede haber pérdidas de MS de hasta 3.5% por la respiración celular durante las primeras 24 horas; 5 a 14% por lixiviación en caso de lluvia y 3 a 5% por rompimiento y caída de las hojas (Church et al., 2002). Pacas de heno almacenadas demasiado húmedas sufren un incremento en la temperatura debido a la fermentación. En ocasiones el calor generado es tanto que resulta en combustión espontánea. Una decoloración puede ser causada por una exposición prolongada al sol o por daño resultante del rocío y la lluvia. La decoloración pálida causada por el sol es ocasionada por una pérdida rápida de los carotenos y otros

pigmentos. La lixiviación causada por la lluvia principalmente causa pérdidas de carbohidratos solubles y nitrógeno (Church et al., 2002).

2. Ensilaje

El ensilaje es el producto de la fermentación anaeróbica controlada del forraje con un alto contenido de humedad (65-70%). La conservación del material ensilado se logra como resultado de la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico y cantidades menores de otros ácidos como acético y propiónico, hasta que se estabilice la masa (Church et al., 2002). El objetivo principal de producir ensilajes es preservar al máximo posible el valor nutricional del forraje original (McDonald et al., 1991). Para su debida producción, es esencial establecer y mantener condiciones anaeróbicas en la masa de forraje para disminuir así el crecimiento de microorganismos indeseables (ej. *clostridia*, *listeria*). El logro de un ensilaje de calidad depende de la presencia de una microflora epifítica en el material a ensilarse, una composición química y una capacidad amortiguadora adecuada (Fenlon et al., 1995). Un forraje fresco a ensilarse debe contener, idealmente, niveles adecuados de sustratos fermentables en forma de carbohidratos solubles en agua, una relativa baja capacidad amortiguadora (resistencia a cambios en pH) y un contenido de materia seca de 30 a 35%. La naturaleza de los carbohidratos (solubles o estructurales) presentes en el ensilado puede ser afectado por la especie botánica y el cultivar del forraje ensilado, estado de crecimiento, niveles de fertilización y condiciones climatológicas. El contenido de carbohidratos fermentables en forrajes tropicales tiende a ser menor que en los de clima templado (Ojeda et al., 1987).

Durante la fermentación efectiva la acción de bacterias productoras de ácido láctico sobre los carbohidratos solubles idealmente resulta en un producto con un pH entre 3.7 a 4.2 y con concentraciones de ácido láctico de 8% a 12% (McDonald et al., 1991). La capacidad amortiguadora de las plantas es su habilidad para resistir cambios drásticos en pH. Como resultado de cambios químicos causados por la fermentación, la capacidad amortiguadora del ensilaje puede aumentar hasta tres veces su valor original.

También se encuentran presentes compuestos nitrogenados en los ensilajes, que son principalmente en forma proteica en los bien preservados (75% a 90%), pero también cuentan con un componente de N no proteico (NNP) en forma de aminoácidos libres y amidas. Las proporciones de NNP o N residual en forrajes frescos de gramíneas tropicales fluctúan entre 25% y 45% del N total, mayormente en forma de aminoácidos y amonio (Oshima y McDonald, 1978).

El exponer un ensilaje al medio ambiente, resulta con relativa rapidez en un aumento en el pH y la temperatura de la masa fermentada y en la proliferación de bacterias aeróbicas, hongos y levaduras. Al ocurrir el deterioro aeróbico durante la fase de alimentación disminuye el valor nutritivo del ensilaje y la calidad del ensilaje (Ruz y Ojeda, 1995).

III. Residuos agrícolas y subproductos

Las empresas destinadas a la producción industrial de alimentos generan grandes cantidades de residuos orgánicos que pueden ser adecuadas o inadecuadas para el consumo humano o animal. Se trata de materiales secundarios obtenidos a partir de la elaboración de un producto principal. Algunos de éstos son subproductos de la molienda

de granos, de mataderos y plantas procesadoras de diversas especies de animales, de fábricas de farmacéuticos, y también residuos de cultivos agrícolas y domésticos. Estos pueden clasificarse según su origen; vegetal, animal o industrial; o por su composición química (principalmente proteico, energético o fibroso). En dietas para animales domésticos estos subproductos se utilizan mayormente como suplementos.

El uso de pulpa de frutas y subproductos de caña de azúcar y de granos de cereales como suplementos de origen vegetal ha sido muy estudiados (FAO, 1997). Ejemplos de suplementos de origen animal incluyen gallinaza y residuos de mataderos (harinas de carnes, huesos o sangre) y de pescadería. La lista incluye también las aguas residuales de la industria de caramelo y los solubles de la producción de antibióticos (subproductos industriales). En diversos casos se requieren metodologías de procesado y manejo para la destrucción de posibles patógenos, reducción de factores anti-nutricionales, alargamiento del período de almacenaje, y mejoramiento de la palatabilidad de estos subproductos (Fontenot, 1996). Los métodos comúnmente utilizados para su procesamiento incluyen la deshidratación, fermentación, tratamiento químico ó biológico, cocción y extrusión.

IV. Procesado, manejo y utilización de residuos de la industria pesquera

El 75% de los centros de pesca a nivel mundial capturan peces para ser vendidos en mercados internacionales, alcanzando dichas exportaciones más de 80 millones de toneladas al año (Watson y Pauly, 2001). Los productos de origen pesquero se obtienen de una variedad de especies, de las cuales sólo una porción de la canal es utilizada como alimento para humanos (Okkerman y Hansen, 2000a). Los residuos pesqueros que

resultan de la captura, procesado y descarte de peces, representan un gran inconveniente de disposición para la industria, creando problemas de contaminación ambiental. Estos residuos también incluyen peces muertos de los estanques y las vísceras, espinas, escamas, cabezas, colas y aletas del pescado procesado. La utilización de agua para lavar durante el procesamiento del pescado remueve no sólo la proteína soluble, sino sustancias y enzimas indeseables, generando lodos con alto contenido orgánico como residuo adicional (Okkerman y Hansen, 2000b). De no tratarse adecuadamente, ocurre en los residuos una proteólisis indeseable, resultando en la producción de N-amoniaco, y las aminas cadaverina y putresina, que emiten un olor desagradable (Alvelo, 2001). Por lo tanto se han evaluado alternativas biológicas durante los últimos años para el tratamiento de estos residuos (Alvelo, 2001; Sanjuán, 2001; Sánchez, 2002).

Actualmente, algunos de estos residuos se utilizan para la elaboración de productos alimenticios, como aceites, harinas, alimentos líquidos y semilíquidos, y ensilajes para el uso en la industria pecuaria.

1. Producción de aceite y harina de pescado

Existen alternativas económicamente rentables para el manejo de residuos de pesca que buscan reducir el impacto sobre la ecología terrestre. La producción de harina de sub-productos de pescado como alimento para animales ha sido común debido a su alto valor nutricional. Muchos alimentos comerciales de uso acuícola se basan en harina de pescado como principal ingrediente, debido a su alto contenido de proteína (Tacon, 1993 citado por Sanjuán, 2001). La harina de pescado procesada adecuadamente contiene altos niveles de los aminoácidos esenciales metionina, lisina y triptófano; de las

vitaminas del complejo B (cianocobalamina, colina, niacina, ácido pantotéico y riboflavina) y de minerales esenciales incluyendo calcio, hierro y fósforo (Okkerman y Hansen, 2000b). Además de la harina de pescado, la producción de aceite a partir de residuos pesqueros, es una práctica corriente. Ambos, subproductos son obtenidos mediante la cocción y prensado. Se utiliza el método de reducción húmeda o el método seco para su elaboración (Okkerman y Hansen, 2000b). Además, se puede utilizar el método de extracción con solventes ácidos y básicos, tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y dióxido de azufre (SO_2) acuosos. El método de reducción húmeda es de naturaleza continua, y es ideal para trabajar grandes cantidades de residuos, debido a que facilita el almacenaje de material. Este involucra el uso de solventes (ej. etanol, isopropanol, n-butanol) a concentraciones de 15-25%. Además, el proceso incluye pasos de desintegración, cocción, recocción, separación, prensado y remoción parcial de agua (12-20% húmeda, figura 1 en página 21). Este método se recomienda para especies de pescado con alto contenido de grasa, aunque puede ser utilizado también con residuos solubles y no solubles. Finalmente el secado de la harina se realiza mediante la exposición a llama directa, lo que lo hace más complejo y menos flexible que el método seco. Este último es ideal para pescado con bajo contenido de aceite, sean éstos enteros o residuos generados durante el proceso de enlatado. Consiste en moler y cocinar a vapor el material en equipo previsto con un sistema hidráulico operado bajo presión atmosférica o a vacío, y donde el residuo es presionado hidráulicamente para remover el líquido. Debido a las altas temperaturas y largo tiempo de cocción (6-7 horas), el aceite obtenido

es oscuro y de baja calidad. Algunos de los aceites recolectados pueden ser reincorporados a los residuos o utilizados como combustible (figura 2, en página 22)

Es la actualidad es práctico el uso de harina de pescado como fuente de proteína para cerdos, aves y ciertos rumiantes a razón de 3-6% de la dieta. Un nivel de inclusión mayor puede sobrecargar la dieta con los ácidos grasos omega-3, que imparten un olor a pescado en los productos animales vendidos como carne, huevos y leche (Okkerman y Hansen, 2000a). En ambos métodos de producción, el secado inadecuado puede permitir la proliferación de hongos y en ocasiones de *Salmonella*, resultando en harina de baja calidad y hasta peligrosa para la salud animal. Además, si la temperatura de cocción es demasiado alta puede alterar químicamente los aminoácidos presentes. La harina de pescado suele contener de un 60% a 70% de proteína de alta digestibilidad y buen perfil de aminoácidos; sin embargo, existe mucha variación según la calidad del material crudo utilizado y los métodos de procesamiento (Kjos, 2001).

2. Ensilaje de residuos de pescadería

La palabra ensilaje se deriva del vocablo “silo” de la palabra griega siros, que significa un hueco o zanjón en la tierra (McDonald et al., 1991). El silo se utiliza mayormente para preservar y almacenar materia vegetal, sin embargo, su aplicación práctica en la actualidad abarca residuos orgánicos incluyendo los de pescadería. El ensilaje de residuos de pescadería, puede designarse como “pescado líquido” o “concentrado de proteínas” (Ward et al., 1985), y se produce mediante fermentación anaeróbica o acidificación directa. Por ensilaje de acidificación directa, se entiende el producto resultante de la mezcla de residuos pesqueros con ácidos orgánicos e

inorgánicos que reducen el pH lo suficiente como para prevenir el deterioro del residuo. Por su parte el ensilaje de fermentación anaeróbica, es el resultado de la degradación de una fuente de carbohidrato (azúcar), por bacterias ácido lácticas, resultando en la producción de ácidos orgánicos, mayormente el láctico, que reducen el pH, preservando así la masa ensilada.

La utilización de residuos de pescadería mediante la producción de ensilados, aumenta el aprovechamiento de la proteína animal, a la vez que minimiza los efectos de la contaminación ambiental. Las técnicas empleadas para su manufactura son simples, requieren baja inversión de capital y mínima mano de obra (FAO, 1997). Además, se elabora un ingrediente que puede ser almacenado a temperatura ambiente por períodos prolongados de tiempo, sin que se reduzca su valor nutricional ni la calidad higiénica (Kjos, 2001). Existe evidencia de que desde tan temprano como 1920, se ha evaluado la acidificación y la fermentación anaeróbica como métodos para preservar residuos de pescadería (Ward et al., 1985). Su uso ha sido estudiado como fuente alterna de proteína de origen pesquero para uso animal a un costo razonable, en especial en dietas para cerdos y aves en situaciones donde hay baja disponibilidad de la harina de pescado o otras alternativas de suplementos proteicos (Hassan y Health, 1986).

En los dos métodos existentes para la producción de ensilaje de pescado (químico y biológico), se tiene en común las operaciones de molienda, homogenización, envasado y almacenamiento, así como la eliminación de material adulterante o indeseado que acompañe la materia prima (Bello et al., 1992 citado por FAO, 1997). En los ensilados químicos el agente acidificante más utilizado ha sido el ácido fórmico, aunque, también

se puede utilizar ácidos sulfúrico, clorhídrico, propiónico o combinaciones de éstos (figura 3, en página 23).

En el proceso de ensilado biológico, (figura 3) es común utilizar inóculos de bacterias productoras de ácido *láctico* (BPAL) tipo homofermentativos de los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* o *Streptococcus* (FAO, 1997; Zuberi et al., 1993) y fuentes de carbohidratos como la melaza de caña, para acelerar el proceso fermentativo. Además, una fermentación apropiada genera una temperatura óptima a la cuál los microorganismos se proliferan y alcanzan poblaciones de 10^8 u.f.c./g después de 4 a 8 días. Durante este proceso ocurre un cambio rápido en la composición bacteriológica, generando una dominancia de BPAL y la inhibición de microorganismos indeseables causantes de efectos negativos de deterioro en el ensilaje (Hurst, 1979 citado por Lindaren y Pleje, 1983). Esta ruta de fermentación homofermentativa es más eficiente que la heteroláctica ya que garantiza una menor pérdida de MS y una disminución rápida de pH. El crecimiento y densidad de la población bacteriana del ensilaje varía según el tipo de materia prima presente. La microflora dominante durante las etapas iniciales de la fermentación son los del género *Enterobacteriaceae* (*coliformes*), que luego ante condiciones ideales es sustituida por *Leuconotos* y *Streptococci* y posteriormente por BPAL, *Lactobacilli* y *Pediococci* (McDonald et al., 1991). Uno de los microorganismos más indeseables y cuya población se busca reducir mediante la fermentación ácido láctico es *Clostridia*. El crecimiento de este organismo es dañino debido a que tiene la capacidad de fermentar carbohidratos para producir ácido butírico y CO₂. Las bacterias del genero *Clostridia* actúan en contra de la preservación, evitando la producción de ácido láctico y

resultando en un aumento de pH y una mayor degradación de aminoácidos a una variedad de productos de poco valor nutricional (McDonald et al., 1991).

Los hongos y levaduras también pueden influenciar significativamente en el proceso de ensilado. Estos microorganismos, son de tipo aeróbicos obligados, requiriendo para su crecimiento la presencia de oxígeno (O_2) o exposición aeróbica del material fermentado (McDonald et al., 1991). Los hongos tienen como principales productos de fermentación el acetato y etanol, además en ocasiones producen toxinas (Fenlon et al., 1995). Por otra parte, las levaduras se caracterizan por crecer como células sencillas capaces de fermentar azúcares, teniendo la habilidad para sobrevivir en condiciones anaeróbicas y niveles bajos de pH al existir una fuente de energía disponible (Fenlon et al., 1995).

Durante la producción de ensilaje de pescado, no se puede generar una fermentación láctica sin la adicción de una fuente de carbohidrato, debido a la demanda de energía de las BPAL. Estas utilizan, además de azúcares, aminoácidos, nucleótidos, vitaminas y factores de crecimientos (no definidos) para su proliferación y desarrollo. La fuente de carbohidrato más comúnmente utilizado con este propósito es la melaza de caña, debido a su riqueza en azúcares, costo económico, ausencia de factores antinutricionales y facilidad de manejo. Kompang y colaboradores (citado por Zuberi et al., 1993) mezclaron diferentes niveles de melaza de caña con residuos de pescado y observaron que la proporción 95:5 (pescado/melaza) resultó inadecuado para la preparación de ensilaje, debido a que el pH no disminuyó a un valor menor de 5. Sin embargo, mezclas con proporciones de 85:15 y 80:20, produjeron un pH estable (4.3), y

un material almacenable por largo tiempo. Fagbenro y Juancey (1998) demostraron que la harina producto de la fermentación ácido láctica de subproductos de pescado puede almacenarse a 30° C hasta por seis meses sin cambios significativos en su calidad. Zuberi y colaboradores (1993) reportaron que dicha mezcla resultó en ensilajes de bajo costo y de olor agradable. Van Wyk y Heydenrych (citado por Zuberi et al., 1993) también encontraron que la misma combinación resultó en una masa ensilada estable. Otros azúcares, evaluados como sustratos en ensilajes a las proporciones de 90:10 incluyen sacarosa y glucosa líquida, pero su utilización práctica se limita por factores económicos (alto costo y poca disponibilidad).

3. Uso de ensilajes de residuos pesqueros en la industria animal.

La utilización de ensilajes de residuos pesqueros en la alimentación de animales domésticos es una práctica ya establecida y comprobada. El perfil de aminoácidos presentes en el ensilaje de pescado es favorable para animales no-rumiantes; aunque contengan niveles más bajos de lisina, metionina y triptófano que las harinas de pescado de alta calidad (Kjos et al., 2000). En Venezuela, se evaluó el ensilaje como una fuente alternativa de proteína y éste comparó satisfactoriamente con la harina de pescado (Bello, 1997). En Dinamarca, el ensilaje de pescado se ha utilizado por más de 30 años como parte integral del concentrado o como suplemento proteico en aves y cerdos (Ward et al., 1985). Además, el ensilaje de pescado ha despertado interés como ingrediente alimenticio en las industrias avícola y porcina en otros países con residuos pesqueros. En estudios para evaluar el desempeño de pollos parrilleros que consumieron solamente ensilaje de pescado, se observó un menor consumo de alimento, una menor ganancia en peso y una

menor eficiencia de conversión alimenticia en comparación con lo obtenido con una dieta comercial. Sin embargo, al usar el ensilaje de pescado como parte de la dieta se observó un comportamiento similar al de aves que consumieron la dieta control (Disney et al., citado por Sánchez, 2003). Bello y Fernández (1995) evaluaron el uso de ensilaje biológico de pescado, preparado con la adición de residuos de papaya y piña; inoculado con *Lactobacillus plantarum*, e incorporado a diferentes niveles en dietas para pollos parrilleros en sustitución de harina de pescado. Se encontró que los pollos no difirieron en rendimiento al consumir dietas con hasta un 50% de ensilaje de pescado. En otros estudios, gallinas ponedoras alimentadas con ensilaje de pescado pusieron huevos con cascarones más gruesos y densos, yemas más amarillas y con un mayor contenido de yodo que aquellos puestos por gallinas alimentadas con harina de pescado (Wirahakusumah citado por Hassan y Heath, 1986). La adición de residuos fermentados del procesamiento de filete de tilapia al nivel dietético de 6% no afectó la ganancia en peso, consumo voluntario y eficiencia de conversión alimenticia en pollos en crecimiento (Bello, 1997). Estos resultados y otros reportados por Kjos y colaboradores (2000) sugieren que el ensilaje de pescado es apto para uso como fuente de proteína para pollos parrilleros. En estudios realizados en cerdos, se aportó 9% de la proteína dietética total en forma de ensilaje de pescado, y no se observó efectos negativos sobre el crecimiento corporal, las características de la canal, ni la calidad sensorial de la carne (Kjos et al., 1999). La inclusión de 2.5% y 5% de ensilaje de residuos fermentados de pescado en dietas porcinas ha resultado en un aumento en ganancia de peso y consumo de alimento, además de mejor aceptación del producto por el animal (FAO, 1997). Samuels y

colaboradores (1991) también evaluaron favorablemente distintos subproductos de pescadería ensilados como suplementos en ovejoes alimentados con heno, lo que implica su potencial para uso en la alimentación de rumiantes.

En Puerto Rico ya se han desarrollado metodologías para la fermentación anaeróbica de residuos de pescadería y de lodos de la industria atunera (Alvelo, 2001; Sanjuán, 2001). Lodos fermentados han sido evaluados como fuente proteica en dietas para tilapias sin afectar la utilización de alimento, crecimiento y composición corporal (Sanjuán, 2001); y como parte integral en dietas para cerdos, concluyendo que tiene potencial alimenticio (Sánchez, 2003). Además, Alvelo (2001) reportó que la adición de lodos fermentados de la industria atunera no afectó la degradabilidad in vitro de heno GTN, lo que sugiere que no produce efectos detrimentales sobre la ecología ruminal. Sin embargo, existe poca información sobre la utilización de otros residuos fermentados de pescadería como suplementos en rumiantes. La posible utilización de estos residuos pesqueros fermentados como suplemento proteico para diversas clases de animales resultaría beneficiosa tanto para la industria de la pesca como para la agropecuaria, reduciendo a la vez los problemas de contaminación ambiental y disposición de residuos sólidos.

Un punto a considerar sobre el uso de residuos de pescadería fermentados como suplementos en rumiantes es su estabilidad aeróbica. El efecto de la exposición aeróbica sobre el deterioro de ensilajes de forrajes está bien documentado, pero no hemos encontrado información publicada sobre la estabilidad de residuos fermentados de pescadería al ser expuestos a condiciones aeróbicas.

La presente investigación está diseñada para evaluar, primero el consumo voluntario y digestibilidad (criterios de calidad) de heno de gramíneas tropicales naturalizadas (GTN) y ensilaje de sorgo (ES) y segundo el efecto de la suplementación de ensilaje del lodo proveniente del procesamiento de atún y ensilaje de los subproductos generados del procesamiento de filete de tilapia, sobre los aludidos criterios de calidad de ambos forrajes. Además, se determinó el efecto de la exposición aeróbica sobre el deterioro de dichos ensilajes.

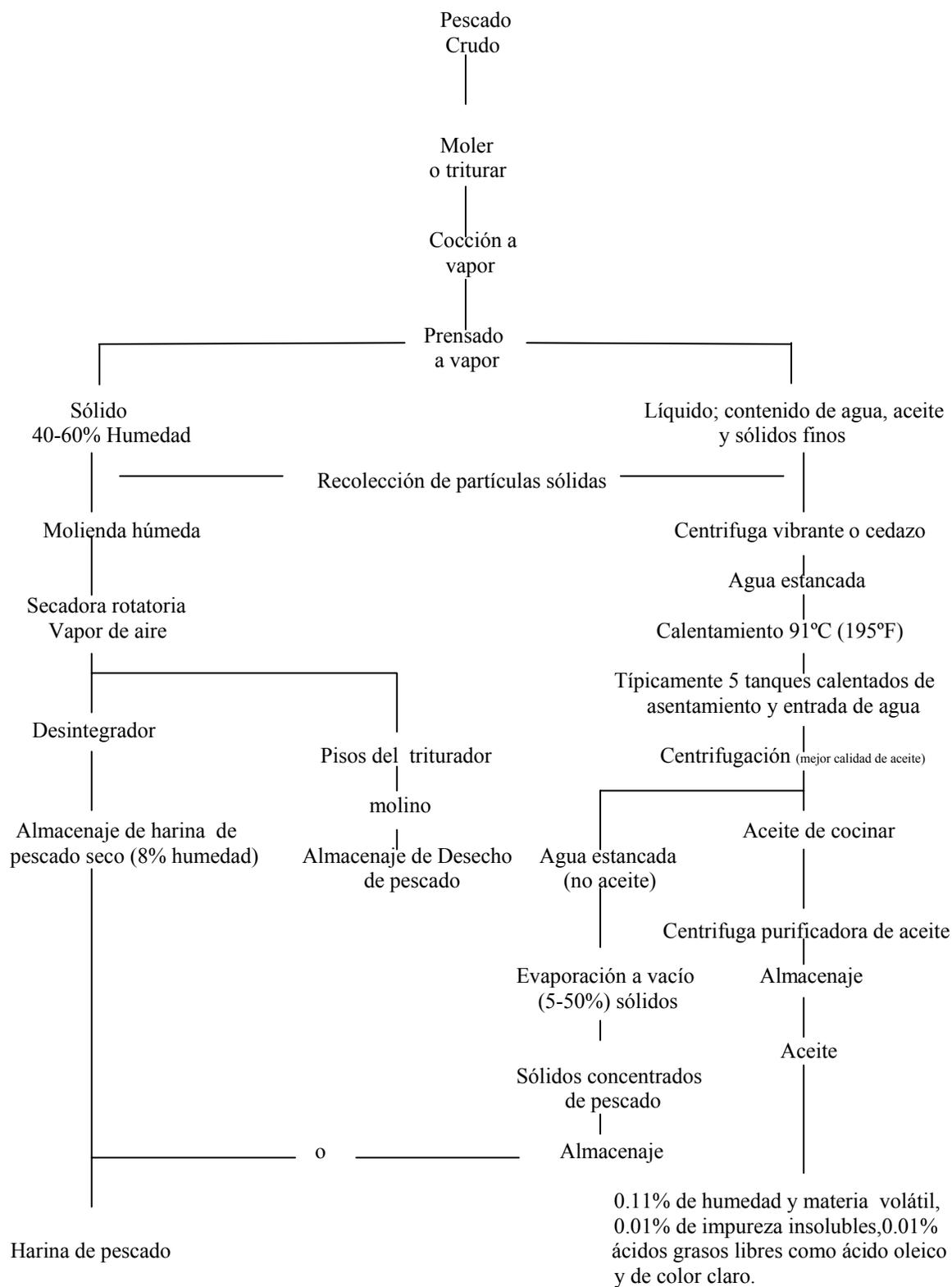


Figura 1: Producción de harina y aceite mediante el sistema continuo de reducción húmeda de residuos de pescado (Brody, 1965 citado por Okkerman y Hasan, 2000b).

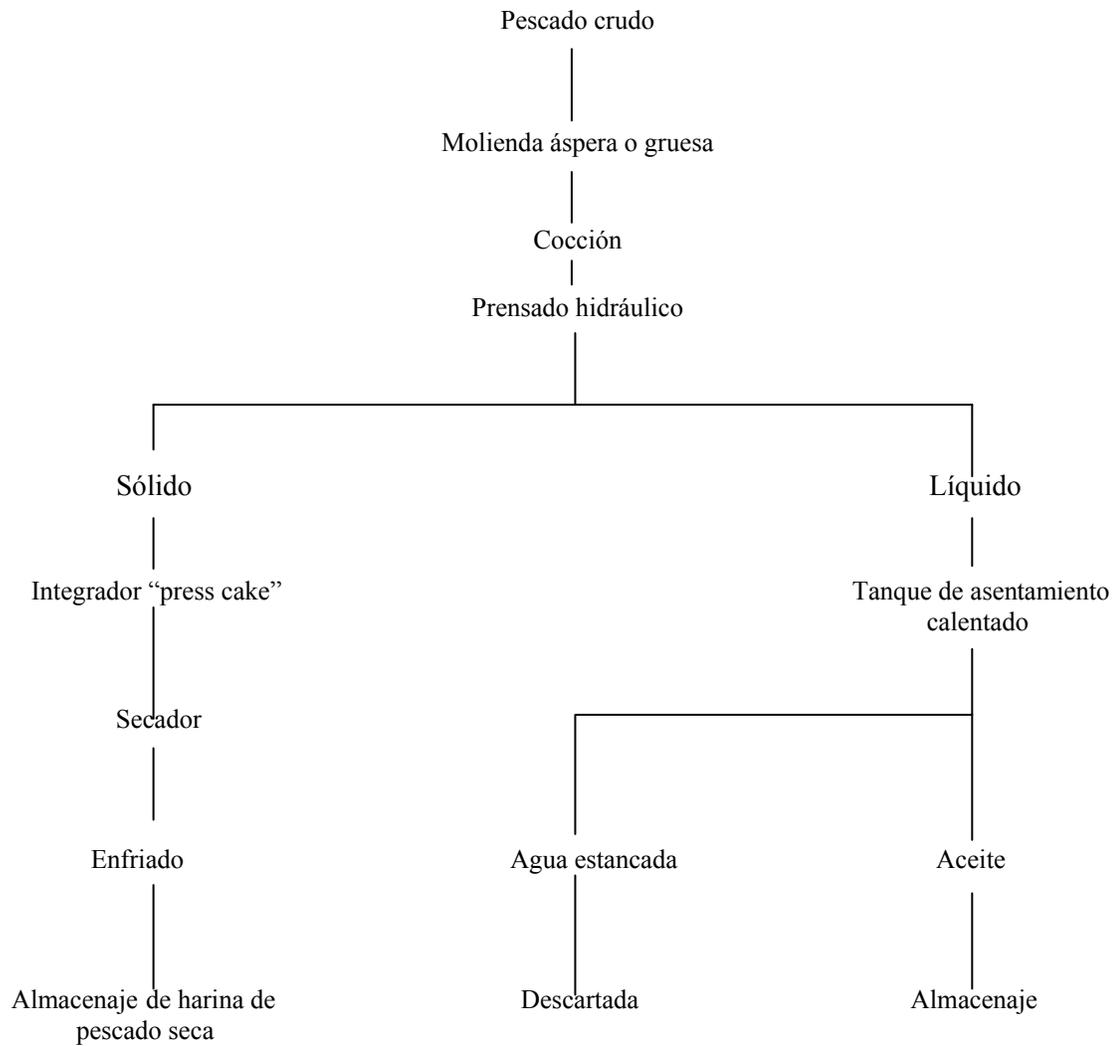


Figura 2. Producción de harina y aceite mediante el sistema de reducción seca de residuos de pescado (Brody, 1965 citado por Okkerman y Hansen, 2000b).

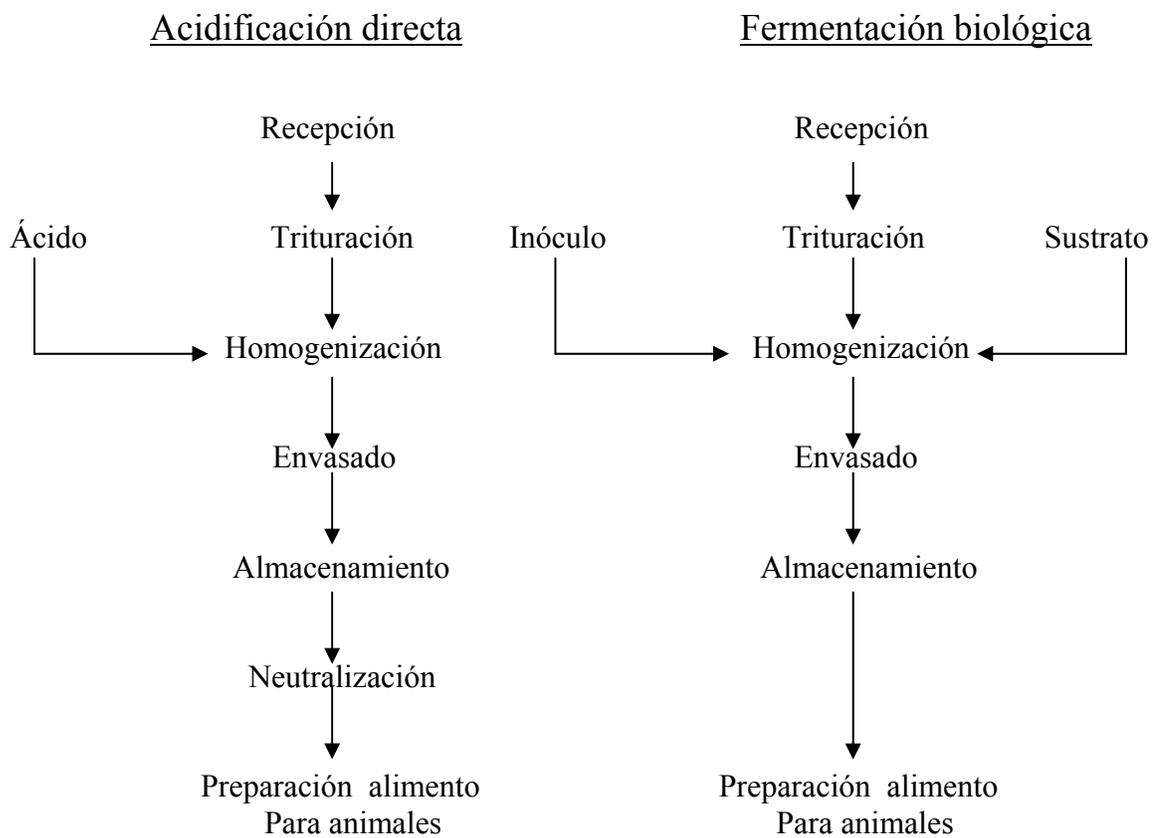


Figura 3. Proceso de acidificación directa y de fermentación biológica en la producción de ensilaje de residuos de pescadería (FAO, 1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

Facilidades físicas

Los experimentos que a continuación se detallan fueron realizados en las facilidades de la Finca Laboratorio Alzamora del Recinto Universitario de Mayagüez (RUM). El estudio consistió de tres ensayos metabólicos utilizando ovejos como animales experimentales. Todos los análisis químicos y microbiológicos así como la preparación de los ensilajes, se realizaron en las facilidades del Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Industria Pecuaria del RUM.

Heno y ensilaje

Se obtuvo un total de 80 pacas cuadradas (\pm 11-14 Kg) de heno de gramíneas tropicales (aproximadamente con 20% *Sorghum halepense*, 80% *Panicum maximum*) y 15 pacas cilíndricas (\pm 350 Kg) de ensilaje de sorgo forrajero (*Sorghum sp*) de un productor comercial de forrajes en Lajas, Puerto Rico. Cada paca cilíndrica de ensilaje de sorgo fue utilizada por un máximo de 3 días para reducir la posibilidad de rechazo por deterioro aeróbico. El heno y ensilaje, fueron triturados antes de ser ofrecidos a los animales mediante el uso de un triturador comercial (Craftsman, 6.5 hp), procurando obtener pedazos de unos 7 a 8 cm de largo en promedio para así disminuir la ingestión selectiva de los forrajes durante los ensayos de consumo voluntario y digestibilidad.

Residuos fermentados de pescadería

Se obtuvo residuos del procesamiento de filete de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (RPT) del Centro de Investigación y Desarrollo en Acuicultura Comercial en Puerto Rico (CIDACPR) de la U. P. R., ubicada en el municipio de Lajas. El residuo incluyó la cabeza, espinazo, cola y viseras de los peces procesados. Los lodos de la industria atunera

(LIA) se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas secundarias de las empresas Starkist Caribe Inc. y Bumble Bee Inc. localizada en el malecón del puerto de Mayagüez.

Los RPT frescos fueron congelados por un período de 24 horas y después picados en pedazos con una sierra eléctrica comercial de carne, procurando dimensiones teóricas de 2.5 por 2.5 cm. Se mezcló el material picado con 20% de melaza de caña (P/V), obtenida de un vendedor comercial local (Gapso Inc., Mayagüez P.R.). La mezcla pescado:melaza se fermentó anaeróticamente por un término no menor de 21 días en 15 pailas plásticas con capacidad de 18.93 litros (5 galones), equipadas con válvulas unidireccionales para la liberación de gas. Los silos se mantuvieron a temperatura ambiente (28-30°C) durante todo el transcurso de la fermentación, obteniéndose residuos fermentados (RFPT)

Para la producción de LIA, en estado fermentado (LFIA) se mezcló el residuo con 30% de melaza (v/v) y se mantuvo por un periodo no menor de 30 días a temperatura ambiente (28- 30° C), bajo condiciones anaeróbicas en un tanque con capacidad para 208 litros (55 galones) equipado con válvulas unidireccionales para la liberación de gas.

Animales y su manejo

Se utilizaron 4 ovejos criollos en el primer ensayo metabólico y 8 ovejos para el segundo y tercero. Todos los ovejos fueron adaptados a las condiciones de manejo y a su alojamiento en jaulas individuales provistas de comederos y bebederos durante 10 días previo al inicio de cada ensayo,

Cada animal fue desparasitado (Ivomec) previo al comienzo del periodo experimental. Los animales se pesaron antes y después de cada ensayo metabólico para determinar la cantidad de alimento a ofrecer diariamente en base de su peso vivo.

En los tres ensayos se evaluaron primeramente dietas basales de heno de GTN sin suplemento y ensilaje de sorgo sin suplemento y luego suplementados (heno+RFPT, heno+LFIA, ensilaje+RFPT y ensilaje+LFIA). En el primer ensayo metabólico, se evaluó el consumo voluntario y la digestibilidad aparente de heno de GTN (20 % *Sorghum halapense*, 80% *Panicum maximum*) y ensilaje de sorgo (ES) forrajero (*Sorghum sp.*) mencionados, utilizando dos ovejos por forraje distribuidos aleatoriamente. En el segundo y tercer ensayo metabólico se evaluó, como suplemento, los ensilajes de RFPT y LFIA, respectivamente, en términos de su efecto sobre el consumo voluntario y digestibilidad de ovejos consumiendo heno de GTN o ES como dieta basal. En el segundo y tercer ensayos metabólico ocho ovejos asignados aleatoriamente a los dos forrajes conservados. Los residuos fermentados se ofrecieron al 30% del consumo total anticipado de MS calculado en base al 3% del peso vivo (PV, ver apéndices). El ensilaje de RFPT fue ofrecido separadamente del forraje en envases plásticos según la cantidad correspondiente por animal. Los LFIA fueron filtrados diariamente con el fin de reducir la rancidez del residuo, previo a su ofrecimiento como aderezo vertido sobre el forraje conservado. En todos los ensayos el agua se ofreció *ad limitum* durante todo el periodo experimental.

El suministro de la ración se realizó diariamente a las 5:00 pm. Los ovejos fueron sometidos a un periodo de adaptación a los tratamientos experimentales durante 10 días y luego a un periodo de recolección de datos comparativos de 6 días. Se cuantificó la cantidad de forraje ofrecido y rechazado por cada animal diariamente para determinar su consumo voluntario. De la cantidad de heces fecales producidas, se conservó una alícuota (10 % del total) para análisis químicos posteriores y determinación de la digestibilidad aparente.

Al final del periodo de recolección se analizaron muestras compuestas de alimento ofrecido y rechazado y de heces producidas por animal, para contenidos de materia seca (MS; 65°C/48h), proteína bruta (PB; AOAC, 1990) y fibra detergente neutro (FDN; Van Soest et al., 1991). Además, se determinó en los alimentos ofrecidos el N-total, grasa (AOAC, 1990) y los carbohidratos solubles en agua (CSA; Dubois et al., 1956). En cada ensayo metabólico se determinó el consumo voluntario y la digestibilidad aparente de las tres aludidas fracciones químicas.

Estabilidad aeróbica de los residuos fermentados de pescadería

La estabilidad aeróbica de los dos ensilajes de subproductos de pescadería fue evaluada en el laboratorio. Debido a la escasez de materiales y facilidad de manejo las muestras en pailas de 5 galones con 15 kg de RFPT y en envases de plástico con 0.6 kg de LFIA, se dejaron expuestas al aire a temperatura ambiente durante 5 días. Durante este tiempo se tomaron lecturas de la temperatura del material bajo exposición con termómetros (Koch) situados en la masa del ensilaje a intervalos de 6 horas durante las primeras 24 horas; y cada 24 horas desde el segundo día hasta el quinto día de exposición. Después de 0, 1, 3 y 5 días de exposición aeróbica una muestra de cada ensilaje fue analizada para determinar pH, composición química, productos de fermentación y poblaciones microbianas. Además, se cuantificó la recuperación del material fermentado original después de 1, 3 y 5 días de exposición aeróbica.

Para la determinación del pH se homogenizó 50g del material fermentado por cada tratamiento y día de exposición aeróbica en un equipo Stomacher 450, con 450 ml de agua deionizada (pH 7.0) por 2 minutos. El medidor de pH fue estandarizado con soluciones amortiguadoras comerciales (4 y 10, Fisher Sci., Cayey, P.R.). La composición química de ambos ensilajes se analizó como descrito anteriormente en los

ensayos metabólicos y los productos de fermentación en un laboratorio analítico comercial (Dairy One Forrage Lab, Ithaca, N.Y.).

Para la enumeración de las poblaciones microbianas se diluyeron muestras de cada material fermentado correspondiente a cada día de exposición aeróbica (10^{-2} a 10^{-10}) en una solución estéril de peptona (0.1 %). Las diluciones fueron utilizadas para la enumeración de bacterias totales (Tryptic Soy Agar, 24 hr) y hongos y levaduras (Rose Bengal suplementado con Chloramphenicol, 48 hr) por la técnica de vertida en plato. Las colonias de los microorganismos fueron enumerados utilizando un contador digital manual.

Diseño experimental y análisis estadísticos

Ensayos metabólicos

Los datos de cada uno de los 3 ensayos metabólicos fueron analizados individualmente mediante un diseño completamente aleatorizado (DCA), con 2 repeticiones por tratamiento para el ensayo 1, y 4 repeticiones por tratamiento en los ensayos 2 y 3, utilizando el modelo lineal general (SAS Inst, 1990). La comparación de las medias dentro cada ensayo se realizó mediante la prueba de Bonferroni. El modelo utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_i$$

Donde:

Y_{ij} = variables dependientes de consumo voluntario y digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN.

μ = media general estimada

α_i = efecto de los tratamientos i (heno, ensilaje, heno+RFPT, ensilaje+ RFPT, heno+LFIA, ensilaje+LFIA)

ϵ_i = error experimental asociado con la respuesta del factor tratamiento i

Estabilidad aeróbica

Los datos de exposición aeróbica se analizaron mediante un DCA dentro de cada uno de los suplementos (RFPT Y LFIA). Se utilizaron 4 periodos de exposición (0, 1, 3, 5 días) para las variables de pH, composición química, productos de fermentación y poblaciones microbianas; 3 periodos de exposición para la variable de materia húmeda recuperada (1, 3, 5 días) y 9 periodos de exposición para la temperatura de la masa ensilada (0, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96 y 120 horas). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el modelo lineal general y la prueba de Bonferroni para separación de medias (SAS Inst., 1990). El modelo utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$$

Donde:

Y_{ij} = variables dependiente de pH, composición química, productos de fermentación y poblaciones bacterianas.

μ = media general estimada

α_i = efecto del periodo de exposición aeróbica j (0, 1, 3, 5 días).

ϵ_i = error experimental asociado con día de exposición j .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Heno y ensilaje

La composición química del material vegetativo utilizado en los tres ensayos metabólicos (Cuadro 1), coincide en general con valores publicados para GTN (Vicente-Chandler et al., 1983; Van Soest, 1994; Rodríguez et al., 1998a).

Cuadro 1. Composición química del ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales utilizados en los ensayos metabólicos.

Componente	Ensilaje de sorgo	Heno de gramíneas
<u>Composición Química (%)¹</u>		
Humedad	65.05	12.32
Materia seca	34.95	87.68
Materia orgánica ²	90.76	90.83
Materia inorgánica ²	9.24	9.17
Proteína bruta ²	6.79	5.69
Fibra detergente neutro ²	64.14	68.20
Fibra detergente ácida ²	45.51	44.48
Hemicelulosa ³	18.64	23.88
Carbohidratos solubles en agua ⁴	0.11	ND
pH	4.10	ND
<u>Productos de fermentación (%)</u>		
Ácido láctico ²	0.40	ND
Ácido acético ²	0.11	ND
Ácido propiónico ²	0.01	ND
NH ₃ ²	0.02	ND
N-NH ₃ / N-total ²	1.56	ND

¹Medias de 4 repeticiones

²Base seca

³Calculo por diferencia FDN-FDA

⁴Base húmeda

ND= no determinado

El heno de GTN compuesto por aproximadamente 80% de hierba Johnson (*Sorghum halepense*) y 20% de hierba guinea (*Panicum maximum*) presentó un alto contenido de MS, FDN y hemicelulosa y un bajo contenido de PB. La composición

química, el pH y las características fermentativas del ES utilizado en este experimento coinciden con valores de previos experimentos locales (Rodríguez, 1996; Martínez et al., 1999). El ensilaje tuvo un pH de 4.10, contenidos adecuados de MS, materia orgánica, CSA, PB y FDN; un moderado contenido de ácido láctico y poco de ácido acético. Además, el contenido de NH_3 y la proporción NH_3/N total (cuadro 1) son indicativos de un ensilaje producto de una fermentación estable.

En la evaluación de los forrajes se observó un mayor ($P < 0.05$) consumo voluntario de MS por parte de los animales alimentados con heno de GTN que con ES (cuadro 2). Dado que las características nutritivas (composición química) de ambos forrajes no fueron similares el ES presentó mejores características nutritivas, se puede inferir que los animales seleccionaron el forraje que consumieron de acuerdo a preferencias de tipo sensorial (sabor, tacto y olor). En estudios previos, para evaluar el consumo voluntario de forraje en novillos alimentados con GTN ensiladas en pacas cilíndricas o henificadas, también se observó una mayor preferencia animal por el heno que por el ensilaje (León et al., 1999).

El menor consumo de ES que de heno de GTN observado en este experimento también pudo deberse al deterioro del forraje fermentado (cambios en olor y sabor) al ser expuesto a condiciones aeróbicas. Estudios previos han revelado que la disminución en el consumo voluntario del ensilaje están relacionadas con el deterioro debido a la exposición aeróbica (Ojeda, 1988). En este experimento se ofreció a los ovejos ensilaje expuesto al aire por un máximo de 3 días con el fin de disminuir la posibilidad de deterioro aeróbico. Sin embargo, se observó deterioro en el ensilaje alimentado lo que pudo haber influenciado en el consumo voluntario de los animales.

Cuadro 2. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales naturalizadas.

Características Alimento	Ensilaje de sorgo	Heno de gramíneas	EE ²
Consumo voluntario, (g/d) ¹			
Alimento ofrecido			
Materia seca	769 ^b	963 ^a	36.33
Proteína bruta	26 ^b	38 ^a	2.76
Fibra detergente neutro	246 ^b	456 ^a	29.49
Alimento rechazado			
Materia seca	386	294	33.73
Proteína cruda	12	14	1.75
Fibra detergente neutro	121 ^b	213 ^a	22.92
Alimento consumido			
Materia seca	383 ^b	669 ^a	44.47
Proteína bruta	14 ^b	24 ^a	2.91
Fibra detergente neutro	125 ^b	243 ^a	37.70
Materia seca/Peso vivo (%)	1.49 ^b	2.08 ^a	0.13
Digestibilidad aparente, (%)			
Materia seca	52.54	54.71	6.44
Proteína bruta	50.63	60.82	5.94
Fibra detergente neutro	47.57	48.83	7.27

¹ Datos en base seca

²EE= error estándar

Medias con diferente letra en la misma fila difieren (p< 0.05)

El consumo voluntario diario de estos forrajes no se acercó al 3% del PV animal. Estas observaciones coinciden con otros estudios que indican bajo consumo heno de GTN. Se postula que esto es debido a sus características físico-químicas, por ejemplo la estructura de la pared celular (FDN) y bajo contenido de N-total (Van soest, 1994). Estas propiedades de los forrajes tropicales limitan su consumo, debido a que ocasionan un proceso de rumia más extenso y un mayor tiempo de retención de la ingesta en el retículo-rumen con mayor distensión ruminal (Church, 1993). Según Ruíz y Vázquez,

(1983) los principales factores que limitan el consumo voluntario de dietas basadas en heno de GTN son su bajo contenido de PB y su componente de FDN (fibroso). Un bajo contenido de PB limita la actividad microbiana debido a la escasez de nitrógeno, mientras que el componente de FDN (fibroso) con un alto contenido de ligno-celulosa, alarga el tiempo de retención de la ingesta en el complejo retículo-rumen, causa que al animal se sienta lleno y limita su consumo voluntario.

El mayor consumo de heno de GTN versus ES observado en este experimento no se asoció a diferencias en la digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN. Solamente se observó una digestibilidad aparente numéricamente mayor de la PB del heno de GTN que del ES. De representar un efecto real, esta podría deberse a una mayor disponibilidad de nitrógeno a nivel ruminal en los ovejos alimentados con heno de GTN, ocasionado por un mayor consumo del mismo nutriente (24 versus 14 g/d, respectivamente).

Los valores de digestibilidad aparente obtenidos (cuadro 2) en este estudio coinciden con los de trabajos previos para evaluar GTN henificadas en ovejos adultos y GTN ensilado en novillas en crecimiento (Rodríguez, 1998b; González, 2002).

Suplementación con residuos fermentados de la producción de filete de tilapia.

Los RFPT utilizados en este experimento como suplemento proteico (cuadro 3) presentaron valores de pH, productos de fermentación y composición química similares a los observados previamente (Díaz et al., 2002).

Cuadro 3. Composición química y productos de fermentación del ensilaje de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia.

Componente	RFPT
<u>Composición Química (%)¹</u>	
Humedad	50.62
Materia seca	49.38
Materia orgánica ²	82.33
Materia inorgánica ²	17.67
Proteína bruta ²	26.12
Grasa ²	15.16
Carbohidratos solubles en agua ³	3.48
pH	4.49
<u>Productos de fermentación(%)</u>	
Ácido láctico ²	2.20
Ácido acético ²	0.27
Ácido propiónico ²	0.02
NH ₃ ²	0.02
N-NH ₃ / N-total ² ,	0.48

¹Medias de 4 repeticiones

²Base seca

³Base húmeda

El ensilaje de RFPT tuvo una acidez (pH=4.49) y un contenido de humedad adecuados (50.62%) para este tipo de alimento fermentado. También mostró altos contenidos de materia inorgánica, pero un contenido sólo moderado de PB y grasa en comparación con la mayoría de las harinas de pescados. El ácido láctico fue el principal producto asociado con esta fermentación, siendo el valor de 2.20% indicativo de un ensilaje de buena calidad. Otras características favorables de los RFPT son el contenido

moderado de ácido acético (0.27%), la baja relación N-NH₃/N- total (0.48%) y la ausencia de cantidades detectables de ácido butírico.

Cuadro 4. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales naturalizadas suplementados con residuos fermentados de la producción de filete de tilapia.

Componente	Tratamiento (70:30)		EE ²
	Ensilaje sorgo/RFPT	Heno gramíneas/RFPT	
Consumo voluntario, (g/d) ¹			
Alimento ofrecido			
Materia seca	928 ^b	1,163 ^a	12.32
Proteína bruta	99	106	3.27
Fibra detergente neutro	319 ^b	382 ^a	15.46
Alimento rechazado			
Materia seca	217	261	22.45
Proteína bruta	27	34	1.11
Fibra detergente neutro	141 ^b	190 ^a	5.03
Alimento consumido			
Materia seca	711 ^b	902 ^a	25.13
Proteína bruta	72	72	3.44
Fibra detergente neutro	178	192	14.97
Materia seca/Peso vivo (%)	2.37 ^b	2.73 ^a	0.08
Digestibilidad aparente, (%) ¹			
Materia seca	55.70	54.67	1.76
Proteína bruta	71.45 ^a	67.33 ^b	1.36
Fibra detergente neutro	54.08	48.85	2.20

¹ Datos en base seca

²EE= error estándar

Medias con diferente letra en la misma fila difieren (p<0.05)

Al utilizarse RFPT como suplemento proteico, ofrecido aparte del forraje se observó un consumo practicamente completo del residuo fermentado en ambos ensayos, lo que es indicativo de características organolépticas adecuadas y excelente palatabilidad.

Al suplementar los ovejos con RFPT se observó un mayor ($P < 0.05$) consumo voluntario de MS de la tratamiento forraje/RFPT en animales alimentados con heno de GTN que en aquellos alimentados con ES (cuadro 4). Dado que el consumo de RFPT fue similar para ambos grupos de animales al no haber ningún rechazo de importancia del suplemento, las diferencias en consumo voluntario de los tratamientos ensilaje/RFPT y heno/RFPT son atribuidas a diferencias en el consumo de forraje. Preferencias por este segundo material vegetativo por parte de los animales se observaron en el primer ensayo metabólico. El consumo voluntario diario de los tratamientos fue de 2.37 y 2.73 % del PV del animal al consumir ES y heno de GTN como dieta basal, respectivamente. Estos valores de consumo voluntario, aunque menores que los esperados por un pequeño rumiante (3% PV), representan consumos más razonables y claramente mayores que los observado en ovejos sin suplementar en el ensayo anterior.

La digestibilidad aparente de la MS y FDN fue similar ($P > 0.05$) para ambos tratamientos evaluados (cuadro 4). Sin embargo, la digestibilidad aparente de la PB fue mayor ($P < 0.05$) en ovejos alimentados con ensilaje de sorgo y RFPT que con heno de GTN y residuo fermentado. En estudios relacionados Samuels y colaboradores (1991) reportaron una mayor digestibilidad de la MS y materia orgánica en ovinos alimentados con una dieta basal de 50% heno y 50% concentrado (mezcla maíz y soya) que en dietas de ensilaje de pescado y heno (70:30), ó ensilaje de camarón y heno (60:40). En cambio la digestibilidad aparente de la PB fue mayor en dietas suplementados con ensilaje de pescado.

En este estudio el consumo de la PB fue igual para ambos tratamientos dietéticos evaluados (cuadro 4), por lo que se puede inferir que las diferencias en digestibilidad aparente de dicha fracción son atribuibles al metabolismo de nitrógeno a nivel ruminal o

la digestión proteica post-ruminal. En otros estudios se ha observado que la degradabilidad de N a nivel ruminal aumentó significativamente al suplementar rumiantes con harina de pescado. Sin embargo, en los datos presentes en ambos casos, la digestibilidad de la PB fue mayor a 65%, nivel mínimo señalado como características de dietas de buena calidad (NRC, 1981). Es bien conocido que bajos niveles de nitrógeno a nivel ruminal, pueden afectar la digestibilidad de los carbohidratos estructurales, reduciendo así la razón de pasaje de ingesta y el consumo voluntario (Van Soest, 1994; Crowder y Cheder, 1982; Milford y Minson, 1983 citados por Rodríguez et al., 1998a). Combillas y colaboradores (1993) señalaron que la calidad digestiva de los forrajes a nivel ruminal mejora con el uso de suplementos basados en carbohidratos y fuentes de nitrógeno no proteico (NNP); además, por su degradabilidad completa el NNP puede ser más eficiente que otras fuentes de proteína en situaciones de deficiencia de nitrógeno en el rumen. Estos estudios siguieron que el uso estratégico de suplementos nitrogenados en rumiantes alimentados con GTN de baja calidad puede aumentar el consumo voluntario del forraje. Los resultados presentes también indican que el suplementar con RFPT al 0.9% representa una alternativa para promover el consumo voluntario y aumentar la digestibilidad de dietas basadas en forrajes tropicales conservados como heno o ensilaje.

Suplementación con lodos fermentados de la industria atunera.

Los LFIA utilizados en este estudio presentaron altos contenidos de humedad y materia inorgánica, y moderados contenidos de grasa y PB (Cuadro 5). Entre las características fermentativas del LFIA se observó una acidez (pH=3.97) adecuada para evitar la proliferación posterior de microorganismos no deseables causantes de una fermentación secundaria. El contenido de ácido láctico, principal producto de fermentación de los LFIA, fue de 3.82% en base seca, valor indicativo de una buena fermentación.

Cuadro 5. Composición química y productos de fermentación de lodos fermentados de la industria atunera.

Componente	LFIA
Composición Química (%)¹	
Humedad	72.46
Materia seca	27.54
Materia orgánica ²	83.64
Materia inorgánica ²	16.36
Proteína cruda ²	11.61
Grasa ²	10.13
Carbohidratos solubles en agua ³	2.85
pH	3.97
Productos de fermentación (%)	
Ácido láctico ²	3.82
Ácido acético ²	0.78
Ácido propiónico ²	0.37
Ácido iso-butírico ²	0.02
Ácido butírico ²	0.13
NH ₃ ²	0.02
N-NH ₃ / N-total ²	0.01

¹Medias de 4 repeticiones

²Base seca

³Base Húmeda

Además, se observó contenidos moderados de los ácidos acético y propiónico con valores de 0.78% y 0.37%, respectivamente; un bajo contenido de ácido butírico (0.13%)

y muy baja proporción de N- NH_3/N total (0.01%), lo que es característico de residuos fermentados en buen estado de preservación.

La composición química y características fermentativas de los LFIA utilizados en este ensayo discrepa con valores reportados previamente que caracterizaron a los LFIA como más ricos en PB y grasa (27.34% y 38.26%, respectivamente; Sanjuan, 2001; Alvelo, 2001; Sánchez, 2003). Estos resultados variables en la composición química de LFIA pueden deberse al proceso de filtración a que se sometieron los residuos fermentados en este experimento para facilitar su mezcla con el forraje. Cabe destacar que se recurrió a este proceso debido al rechazo del lodo fermentado por los ovejos experimentales al alimentarlo solo y se optó por su aplicación en forma de aderezo.

El consumo voluntario de MS y PB fue mayor ($P < 0.05$) por los animales alimentados con heno de GTN y LFIA que con la de ES y el residuo orgánico fermentado, pero el consumo de FDN (paredes celulares) fue menor ($P < 0.05$) (cuadro 6). Dado a que los LFIA se ofrecieron como aderezo, no se cuantificó, separadamente el consumo de los mismos pero se obtuvo la cantidad rechazada del tratamiento. En todo caso, se puede inferir que las diferencias en consumo voluntario entre los dos tratamientos se debieron a características de los forrajes, tal como se observó en los ensayos anteriores, existiendo una preferencia por el heno de GTN sobre el ES.

Se observó un consumo voluntario diario de 2.72 y 3.06% del PV animal para las tratamientos de LFIA con ES y con heno de GTN, respectivamente. Ambos consumos voluntarios de MS superaron por amplio margen lo observado en animales consumiendo los forrajes conservados sin suplementación (cuadro 1).

Cuadro 6. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo y heno de gramíneas tropicales naturalizadas suplementados con lodos fermentados de la industria atunera.

Componente	Tratamiento (70:30)		
	Ensilaje sorgo/LFIA	Heno gramíneas/LFIA	EE ²
Consumo voluntario, (g/d) ¹			
Alimento ofrecido			
Materia seca	1,218 ^b	1,373 ^a	18.84
Proteína bruta	67 ^b	99 ^a	2.23
Fibra detergente neutro	368 ^b	418 ^a	10.80
Alimento rechazado			
Materia seca	375 ^a	298 ^b	24.15
Proteína bruta	27	31	1.49
Fibra detergente neutro	164 ^b	254 ^a	7.50
Alimento consumido			
Materia seca	843 ^b	1,075 ^a	26.06
Proteína bruta	40 ^b	68 ^a	2.13
Fibra detergente neutro	204 ^a	164 ^b	12.56
Materia seca/peso vivo (%)	2.72 ^b	3.06 ^a	0.07
Digestibilidad de nutrientes, (%) ¹			
Materia seca	65.14 ^a	60.64 ^b	1.47
Proteína bruta	58.70 ^b	68.73 ^a	1.71
Fibra detergente neutro	54.53 ^a	38.53 ^b	2.26

¹ Datos en base seca

² EE= Error estándar

Medias con diferente letra en la misma fila difieren (p<0.05)

La digestibilidad aparente de la MS y FDN fue mayor (P<0.05) en los ovejos alimentados con la tratamiento de ensilaje/LFIA que en los alimentados con el de heno/LFIA, pero la digestibilidad aparente de la PB fue menor (cuadro 6). Las respuestas en digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN fueron variables, observándose un patrón de respuesta menos definida que en los ovejos suplementados con RFPT. El proceder de ofrecer como aderezo el LFIA puede haber ocasionado una mayor selectividad durante el consumo como respuesta al cambio en las características organolépticas del forraje, favoreciendo así la digestibilidad aparente de la MS y las fracciones fibrosas, además de

un mayor consumo de MS. No se tiene conocimiento de ningún otro estudio metabólico sobre el uso de LFIA como suplemento para rumiantes. En este experimento no se observó ningún efecto adverso en la salud de los animales que consumieron LFIA como suplemento, detectándose una disminución en la digestibilidad aparente de FDN del heno de GTN como único resultado negativo. Es de amplio conocimiento que el uso de dietas con niveles de 3 a 8% de grasa es tóxico para las bacterias celulolíticas del rumen. El uso de LFIA pudo haber afectado negativamente la digestibilidad aparente de FDN. Sin embargo, Alvelo (2001) incorporó LFIA a un sistema ruminal *in vitro* y observó que no afectó la degradabilidad de la MS de heno de GTN. Sin embargo, más estudios deben realizarse para determinar su efecto sobre la actividad y función de los microorganismos y su uso potencial como fuente de proteína y energía en la alimentación de rumiantes.

Comparación dentro de cada forraje del efecto de la suplementación de residuos fermentados de pescadería sobre el consumo y digestibilidad de nutrientes.

La suplementación del heno con ambos residuos fermentados de pescadería aumentó ($P < 0.05$) el consumo de MS sobre él de los ovejoes alimentados solo con el heno de GTN de la dieta basal, pero se observó un mayor consumo ($P < 0.05$) en animales suplementados con LFIA que con RFPT (cuadro 7). El consumo de PB fue similar en ovejoes suplementados con ambos residuos de pescadería y menor ($P < 0.05$) que en los animales ofrecidos heno de GTN como dieta basal sin suplementación. Sin embargo, las diferencias observadas en el consumo de FDN entre los tres tratamientos evaluados, no resultaron significativos. Sin embargo, se observó un mayor consumo de FDN (fibra) con la dieta basal.

El mayor consumo voluntario fue observado en ovejoes alimentados con heno de GTN como dieta basal y suplementados con LFIA; dicho consumo expresado en relación al PV (3.06%) llenó las expectativas. El tratamiento de heno de GTN y RFPT resultó en un consumo de MS (2.73%) algo inferior a lo esperado, mientras la alimentación con solo heno de GTN resultó en un consumo (2.08%) inadecuado para pequeños rumiantes ya que el esperado es un valor más cercano a 3.0% ($P < 0.05$; cuadro 7). El mayor consumo voluntario observado con el tratamiento heno/LFIA no se asoció a ningún aumento significativo en la digestibilidad aparente de la MS, en cambio se asoció a una menor digestibilidad de FDN relativo a la tratamiento heno/RFPT y a cuando solamente se alimento con heno de GTN.

Similar a lo observado con heno de GTN, la suplementación del ES con residuos fermentados de pescadería aumentó ($P < 0.05$) el consumo de MS. Otra vez, se observó un mayor consumo ($P < 0.05$) de MS y FDN en los ovejoes suplementados con LFIA que con RFPT (cuadro 8). Por el contrario, el consumo de PB fue mayor ($P < 0.05$) con el

tratamiento ensilaje/LFIA que con el de ensilaje/RFPT. La dieta de ES solo fue la de menor ($P<0.05$) consumo de MS, PB y también de FDN aunque la diferencia no fue significativa en la comparación con ensilaje/RFPT (cuadro 8).

Cuadro 7. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de heno de gramíneas tropicales naturalizadas suplementado con residuos fermentados de pescadería.

Componente	Tratamiento (70:30)			EE ²
	heno	heno/RFPT	heno/LFIA	
Consumo voluntario, (g/d) ¹				
Alimento ofrecido				
Materia seca	963 ^c	1,163 ^b	1,373 ^a	33.34
Proteína bruta	38 ^b	106 ^a	99 ^a	3.10
Fibra detergente neutro	456 ^a	382 ^b	418 ^{ab}	20.18
Alimento rechazado				
Materia seca	294 ^a	261 ^a	298 ^a	33.22
Proteína bruta	14 ^b	34 ^a	31 ^a	1.80
Fibra detergente neutro	213 ^{ab}	190 ^b	254 ^a	13.52
Alimento consumido				
Materia seca	669 ^c	902 ^b	1,075 ^a	53.64
Proteína bruta	24 ^b	72 ^a	68 ^a	3.17
Fibra detergente neutro	243 ^a	192 ^a	164 ^a	26.70
Materia seca/peso vivo (%)	2.08 ^c	2.73 ^b	3.06 ^a	0.11
Digestibilidad de nutrientes, (%) ¹				
Materia seca	54.71 ^a	54.67 ^a	60.64 ^a	3.29
Proteína bruta	60.82 ^a	67.33 ^a	68.73 ^a	2.79
Fibra detergente neutro	48.83 ^a	48.85 ^a	38.53 ^b	4.10

¹ Datos en base seca

² EE= error estándar

Medias con diferente letra en la misma fila difieren ($p<0.05$)

La relación consumo MS por PV (%) siguió el mismo patrón que el consumo absoluto de MS (cuadro 8), siendo los valores más bajos que los obtenidos con el uso de heno de GTN como dieta basal (cuadro 7). Dicho consumo en relación al peso vivo fue mayor (2.72%, $P<0.05$) para ovejos suplementados con LFIA, seguido por los

suplementados con RFPT (2.37%). El consumo así expresado fue menor al esperado para el ES.

Cuadro 8. Consumo voluntario y digestibilidad aparente de ensilaje de sorgo suplementado con residuos fermentados de pescadería.

Componente	Tratamiento (70:30)			EE ²
	ensilaje	ensilaje/RFPT	ensilaje/LFIA	
Consumo voluntario, (g/d) ¹				
Alimento ofrecido				
Materia seca	769 ^c	928 ^b	1,218 ^a	14.23
Proteína bruta	26 ^c	99 ^a	67 ^b	4.32
Fibra detergente neutro	246 ^b	319 ^a	368 ^a	22.43
Alimento rechazado				
Materia seca	386 ^a	217 ^b	375 ^a	33.02
Proteína bruta	12 ^b	27 ^a	27 ^a	1.89
Fibra detergente neutro	121 ^b	141 ^a	164	12.31
Alimento consumido				
Materia seca	383 ^c	711 ^b	843 ^a	35.72
Proteína bruta	14 ^c	72 ^a	40 ^b	3.93
Fibra detergente neutro	125 ^b	178 ^{ab}	204 ^a	21.26
Materia seca/Peso vivo (%)	1.49 ^c	2.37 ^b	2.72 ^a	0.12
Digestibilidad aparente, (%) ¹				
Materia seca	52.54 ^b	55.70 ^b	65.14 ^a	3.70
Proteína bruta	50.63 ^b	71.45 ^a	58.70 ^b	3.68
Fibra detergente neutro	47.57 ^a	54.08 ^a	54.53 ^a	4.43

¹ Datos en base seca

² EE= error estándar

Medias con diferente letra en la misma fila difieren (p<0.05)

La digestibilidad aparente de la MS de las dietas basadas en ES también se vio influenciada por la suplementación con los residuos de pescadería (cuadro 8). Al suplementar con LFIA se obtuvo una mayor (P<0.05) digestibilidad de la MS que la de los animales suplementados con RFPT o sin suplementar. El efecto de los tratamientos en la digestibilidad aparente de la PB presenta un patrón de respuesta diferente, donde la

suplementación con RFPT resultó en una mayor digestibilidad ($P < 0.05$). No se observó ningún efecto significativo de la suplementación sobre la digestibilidad aparente de FDN, aunque numéricamente se favoreció con el uso de los dos productos fermentados (cuadro 8). Contrario a la disminución en la digestibilidad aparente de FDN observada en los ovejoes alimentados con heno de GTN al suplementar la dieta basal de ES con LFIA, la digestibilidad aparente de esta fracción aumentó. El hecho es que los ovejoes alimentados con heno de GTN hayan acusado este efecto negativo al suplementar con LFIA fue sorprendente. Para esta disminución en la digestibilidad de FDN no se pudo precisar alguna razón evidente y posiblemente sea sólo un efecto azaroso.

Estabilidad aeróbica de residuos fermentado de la producción de filete de tilapia y lodos fermentados de la industria atunera.

Una de las limitaciones del uso de los alimentos conservados mediante fermentación anaeróbica en la nutrición animal es la poca estabilidad aeróbica o el deterioro que sufren durante la fase de alimentación. La inestabilidad aeróbica puede detectarse por incrementos en pH y temperatura que resultan del metabolismo de carbohidratos residuales y productos de fermentación (ej. ácido láctico) por parte de bacterias aeróbicas, hongos y levaduras (McDonald et al., 1991). Esta inestabilidad o deterioro aeróbico ha sido bien documentado en forrajes ensilados y es una de las mayores desventajas en sistemas de alimentación animal basadas en estos forrajes (McDonald et al., 1991; Woolford, 1984). Sin embargo, existe poca o ninguna información sobre la estabilidad aeróbica de residuos fermentados de pescadería (ej. pescados, crustáceos y lodos).

En este experimento la exposición de los RFPT a condiciones aeróbica durante 5 días no afectó su composición química (cuadro 9) ni los productos de fermentación (cuadro 10). Sin embargo, se observó un incremento no significativo en la concentración de CSA inesperado en este tipo de residuo y explicable sólo por un posible error muestral. De igual forma y a través de todo el periodo de exposición aeróbica no se observó incrementos ($P>0.05$) en la temperatura (figura 6, en página 55). El pH de los RFPT expuestos al aire se mantuvo constante durante los primeros 3 días ($P>0.05$), pero luego aumentó algo numéricamente (cuadro 11). En todo caso, la acidez ($\text{pH}=4.51$) observada después de 5 días de exposición al aire se considera todavía adecuada para alimentos fermentados expuestos al aire.

La población de bacterias totales de los RFPT tampoco se vio afectada ($P>0.05$) durante el periodo de exposición aeróbica, aunque se observó un aumento en la población el día 5; pero este no fue significativo y puede estar relacionado a un error muestral. (cuadro 11). Sin embargo, se observó cambios en la población de hongos y levaduras, disminuyendo numéricamente a través de los días de la supuesta fase de alimentación (cuadro 11), seguido por una reducción marcada al día 3 ($P<0.05$) y finalmente un mediano aumento hasta el día 5. Estos cambios en la población de microorganismos indican que las bacterias podrían estar más asociadas al deterioro aeróbico de los RFPT que los hongos y levaduras.

Aunque no se haya detectado diferencias en pH y temperatura a través del periodo experimental; sí se observó un efecto sobre la proporción de RFPT recuperados a través del periodo de exposición aeróbica (figura 4). El porcentaje de la materia original recuperado en forma fermentada disminuyó ($P<0.05$) a medida que aumento la duración de la exposición aeróbica. Sin embargo, esta decreciente recuperación no representa grandes pérdidas (96% recuperado a los 5 días). Dada la consistencia semi-liquida (50% agua) del residuo fermentado esta disminución podría estar más asociada a pérdidas de humedad a través del proceso de evaporación, que a la actividad de microorganismos asociados al deterioro aeróbico. Esto sugiere que los RFPT permanecen estables después de 5 días de exposición aeróbica.

Cuadro 9. Composición química de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente (%)	Día	LSMEANS	EE ²
Materia seca ¹	0	42.30 ^a	1.77
	1	47.26 ^a	
	3	49.97 ^a	
	5	52.61 ^b	
Humedad	0	57.70 ^a	1.78
	1	52.74 ^a	
	3	50.04 ^a	
	5	47.39 ^b	
Materia inorganica ¹	0	16.58	1.38
	1	16.55	
	3	17.32	
	5	16.93	
Materia orgánica ¹	0	83.42	1.38
	1	83.45	
	3	82.68	
	5	83.07	
Nitrógeno ¹	0	4.38	0.62
	1	3.91	
	3	4.01	
	5	3.27	
Proteína bruta ¹	0	27.39	3.89
	1	24.42	
	3	25.07	
	5	20.41	
Carbohidratos solubles en agua	0	1.94	0.82
	1	2.45	
	3	4.91	
	5	2.88	

¹ Base seca

² EE= Error estándar

Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 10. Productos de fermentación de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente (%)	Día	LSMEANS	EE ²
Ácido Láctico ¹	0	2.20	0.42
	1	2.51	
	3	2.14	
	5	3.27	
Ácido Acético ¹	0	0.27	0.05
	1	0.29	
	3	0.27	
	5	0.21	
Ácido Propionico ¹	0	0.02	0.02
	1	0.03	
	3	0.03	
	5	0.02	
Ácido Butirico ¹	0	ND ³	ND
	1	ND	
	3	ND	
	5	ND	
NH ₃ ¹	0	0.08	0.01
	1	0.08	
	3	0.08	
	5	0.08	

¹ Base seca

² EE=Error estándar

³ ND= no detectable

Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 11. pH y poblaciones microbianas de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente	Día	LSMEANS	EE ¹
pH	0	4.34	0.02
	1	4.35	
	3	4.39	
	5	4.51	
<u>Poblaciones microbianas</u>			
Bacterias totales ²	0	4.14	1.20
	1	3.60	
	3	3.70	
	5	4.22	
Hongos y Levaduras ²	0	5.18 ^a	0.78
	1	4.12 ^a	
	3	1.06 ^b	
	5	1.96 ^a	

¹ EE=Error estándar

² log ufc/ g material fermentado

Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente (P<0.05)

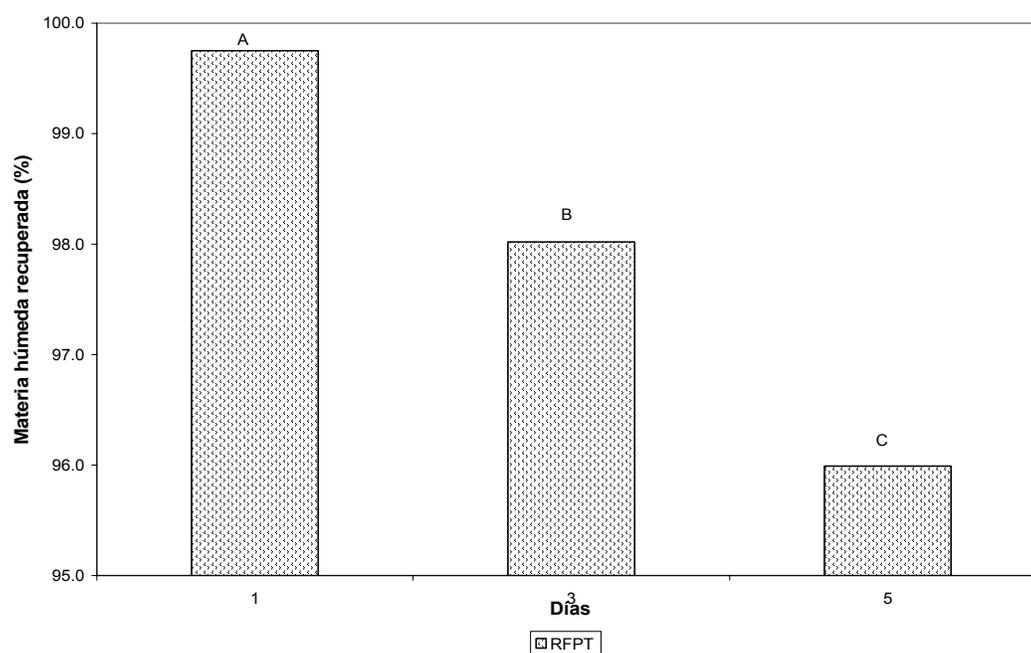


Figura 4. Materia húmeda recuperada de residuos fermentados de la producción de filete de tilapia expuestos al aire durante 5 días.

La exposición de los LFIA a condiciones aeróbicas no afectó ($P < 0.05$) su composición química ni los productos de fermentación a excepción de la concentración de CSA (cuadro 12 y 13, respectivamente, página 52 y 53). Igual que con la exposición de RFPT se observó un incremento ($P > 0.05$) en la concentración de CSA que puede estar relacionado al un error muestral. Asimismo, el pH de los LFIA se mantuvo constante ($P > 0.05$) a través de todo el periodo de exposición aeróbica (cuadro 14).

De igual forma no se observaron cambios ($P > 0.05$) en las poblaciones microbianas de los LFIA (cuadro 14, página 54). Sin embargo, las fluctuaciones numéricas en la población de bacterias totales pueden estar relacionadas al pequeño número de repeticiones utilizadas o a un error muestral. Por otro lado, se observó fluctuaciones en temperatura no bien definidas en los LFIA expuestos al aire durante 5 días (figura 6, página 55), mientras que el porcentaje de materia húmeda recuperada fue casi igual ($P > 0.05$) a los días 1 y 3 y levemente menor al día 5 cuando alcanzó un 91% (figura 5). Dada la ausencia de cambios de importancia en pH y temperatura y en vista de que la consistencia de LFIA, que es también semi-líquida (27.54% MS), estas pérdidas podrían estar asociadas en buena medida al proceso de evaporación; tal como se sugirió en el caso de los RFPT pero en grado mayor.

Estos resultados indican que los LFIA al igual que los RFPT son un ingrediente estable aeróbicamente, lo que podría facilitar su uso en la alimentación animal.

Cuadro 12. Composición química de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente(%)	Día	LSMEANS	EE ²
Materia seca ¹	0	30.77	2.30
	1	27.34	
	3	31.84	
	5	32.50	
Humedad	0	69.23	2.30
	1	72.66	
	3	68.16	
	5	67.50	
Materia inorgánica ¹	0	14.86	0.98
	1	14.77	
	3	14.65	
	5	15.51	
Materia orgánica ¹	0	85.14	0.97
	1	85.23	
	3	85.35	
	5	84.49	
Nitrógeno ¹	0	1.51	0.05
	1	1.36	
	3	1.36	
	5	1.36	
Proteína bruta ¹	0	9.42	0.32
	1	8.48	
	3	8.50	
	5	8.50	
Carbohidratos solubles en agua	0	2.26 ^a	0.67
	1	6.25 ^b	
	3	6.30 ^b	
	5	6.41 ^b	

¹ Base seca

² EE= Error estándar

Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 13. Productos de fermentación de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente (%)	Día	LSMEANS	EE ²
Ácido Láctico ¹	0	3.83	0.18
	1	4.05	
	3	4.21	
	5	4.00	
Ácido Acético ¹	0	0.78	0.03
	1	0.78	
	3	0.79	
	5	0.82	
Ácido Propionico ¹	0	0.37	0.02
	1	0.35	
	3	0.37	
	5	0.37	
Ácido Butirico ¹	0	0.13	0.01
	1	0.14	
	3	0.15	
	5	0.13	
NH ₃ ¹	0	0.08	0.01
	1	0.08	
	3	0.08	
	5	0.08	

¹ Base seca

² EE=Error estándar

Letras diferentes en la columna fila difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 14. pH y poblaciones microbianas de lodos fermentados de la industria atunera expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días.

Componente	Día	LSMEANS	EE ¹
pH	0	3.85	0.01
	1	3.82	
	3	3.87	
	5	3.88	
<u>Poblaciones microbianas</u>			
Bacterias totales ²	0	1.93	0.64
	1	0.82	
	3	2.49	
	5	0.00	
Hongos y Levaduras ²	0	1.78	0.45
	1	ND ³	
	3	ND	
	5	ND	

¹ EE=Error estándar

² log ufc/ g material fermentado

³ ND= no detectable

Letras diferentes en la misma columnas difieren significativamente (P<0.05)

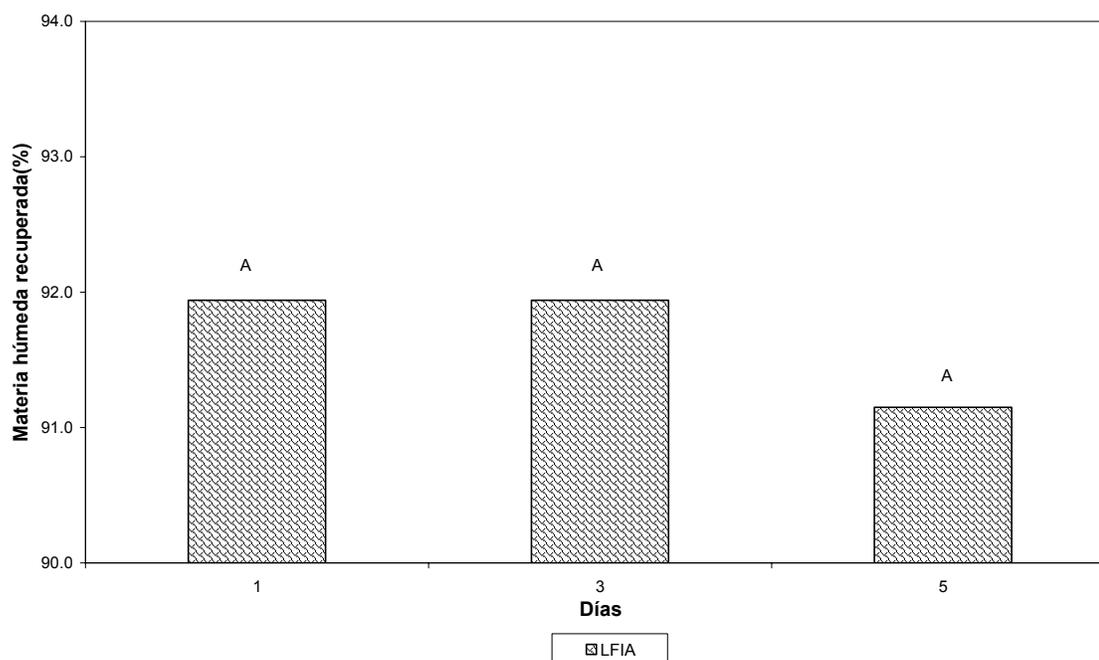


Figura 5. Materia húmeda recuperada de lodos fermentados de la industria atunera expuestos al aire durante 5 días

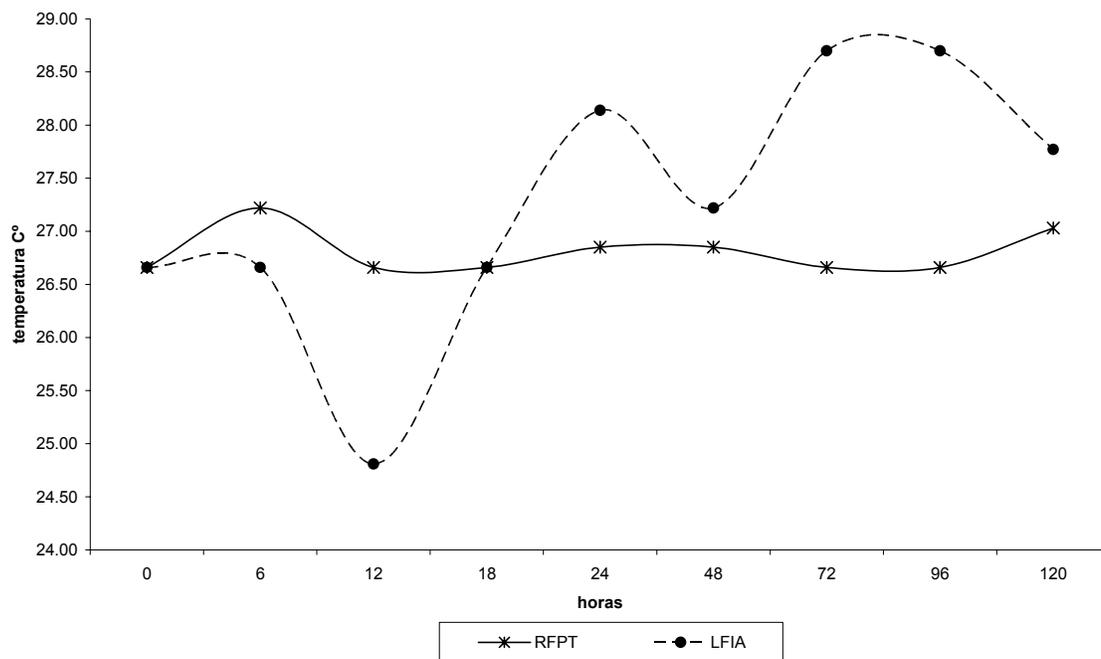


Figura 6. Temperatura de la masa ensilada de residuos de pescadería expuesto al aire durante 5 días

CONCLUSIONES

- 1- Se observó una mayor preferencia en el consumo voluntario por parte de los animales para el heno de GTN y menos aceptación del ensilaje de sorgo. También hubo diferencias en la digestibilidad aparente favorables al heno pero éstas no fueron significativas con el pequeño número de animales usados.
- 2- La suplementación de los ovejoes consumiendo ambos forrajes con RFPT y LFIA incentivó el consumo voluntario de MS y PB, pero se alcanzaron mayores consumos de MS con heno de GTN que con ensilaje de sorgo.
- 3- La suplementación con RFPT no aumentó significativamente la digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN en ovejoes consumiendo heno de GTN y de la MS y FDN de ovejoes alimentados con ensilaje de sorgo. Sin embargo, aumentó considerablemente la digestibilidad aparente de la PB. La suplementación con LFIA mostró efectos positivos sobre la digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN en los ovejoes consumiendo ensilaje como dieta basal y sobre la digestibilidad aparente de la MS y PB en los animales consumiendo heno de GTN, pero con un efecto negativo sobre la digestibilidad aparente de FDN del heno de GTN como dieta basal.
- 4- No se observaron diferencias marcadas en el pH, composición química y características fermentativas de los LFIA y RFPT expuestos al aire por 5 días, lo que sugiere que ambos residuos fermentados de pescadería son aeróbicamente estables, lo que favorecería su posible uso en el clima tropical local.
- 5- Se observó una gradual merma en recuperación de los RFPT y LFIA expuestos a condiciones aeróbicas durante 5 días, pero es probable que esto se debió más a la evaporación de agua que a procesos de deterioro biológico.

IMPLICACIONES

Considerando los resultados de este experimento se recomienda el uso de estos residuos fermentados de pescadería como suplementos para pequeños rumiantes alimentados con gramíneas tropicales conservadas como heno o ensilaje. Deben realizarse estudios adicionales sobre el efecto de la suplementación con estos novedosos productos sobre la razón de crecimiento animal evaluando diferentes niveles de inclusión dietética. Además, es necesario considerar estrategias de manejo durante la posible fase de alimentación. Se precisa también un análisis económico de la utilización de estos residuos de pescadería.

LITERATURA CITADA

- Alvelo Rodríguez, S.L. 2001. Estrategias para mejorar las características fermentativas de los residuos de la industria atunera para uso potencial en dietas para rumiantes. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 63 pp.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- Bello, R.A. 1997. Experiencias con ensilado de pescado en Venezuela Cap. 1. En: Tratamientos y Utilización de Residuos de Origen Animal, Pesquero y Alimenticio en la Alimentación Animal. F. Vilda, Y M. Sánchez (eds).FAO,Cuba. Pp. 1-14
- Bello, R.A. and Y. Fernández. 1995. Evaluation of biological fish silage in broiler chicken. Arch. Latinoam. Nutr. 45(2):134-9. (abstract)
- Church D.C. 1993. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Waveland Press Inc. Chicago, Illinois.
- Church D.C., W.G. Pond y K.R. Pond. 2002. Alimentos para animales. Cap 16. En: Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales.2^{ed}. Editorial Limusa, México.Pp. 323-370.
- Combillas, J., F. Priore, J. Peralta, and O. Zavarce. 1993. Influence of the addition of fish meal to diets of roughage or roughage and concentrate on the consumption and live-weight gain of growing cattle. Animal Feed Sci. Tech. 42:319-331.
- Díaz H.L., A.A. Rodríguez, T. Ruíz, y R. Fuentes. 2002. Efecto de la suplementación con ensilaje de pescado sobre el consume voluntario y la digestibilidad de heno de gramíneas tropicales. Reunión Científica Anual SOPCA 2002. Isabela, P.R.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J. K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350.
- FAO. 1997. Tratamiento y Utilización de Residuos de Origen Animal, Pesquero y Alimenticio en la Alimentación Animal. Memorias de un Taller Regional en la Habana Cuba. FAO. Roma, Italia. Pp 225.
- Fagbenro, O.,and K. Jauncey. 1998. Physical and nutritional properties of moist fermented fish silage pellets as protein supplement for tilapia (*Oreochromis niloticus*). Animal Feed Sci. Tech. 71:11-18.
- Fenlon, D.R; A.R., Henderson and J.A., Rooke. 1995. The fermentative preservation of grasses and forage crops. J. Applied Bacteriology, symposium supplement. 79:118s-131s.

- Fontenot J.P.. 1996. Feeding Poultry Wastes to Cattle. Environment Canada. <http://www.rem.sfu.ca/FRAP/9809.pdf>
- González G. 2002. Efecto del método de almacenamiento sobre las características fermentativas, estabilidad aeróbica y valor nutritivo de gramíneas tropicales naturalizadas ensiladas en pacas cilíndricas. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 68 pp.
- Hassan, T.E. and J.L Heath. 1986. Biological fermentation of fish waste for potential use in animal and poultry feeds. *Agriculture Wastes*. 15:1-15.
- Kjos, N.P. 2001. The use of fish by-products in animal feeding. Proceeding of Workshop on improved utilization of by-products for animal feeding in Vietnam. NUFU project. http://www.vcn.vnn.vn/sp_pape/spec_5_4_2001_14.htm
- Kjos N.P., O. Herstad, M. Overland, and A. Skrede. 2000. Effects of dietary fish silage and fish fat on growth performance and meat quality of broiler chicks. *Can. J. Anim.Sci.* 80:625-632.
- Kjos N.P., A. Skrede, and M. Overland. 1999. Effects of dietary fish silage and fat on growth performance and sensory quality of growing-finishing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 79:139-147.
- León F.J., A.A. Rodríguez, C. Goitia, G. González, and E. Riquelme. 1999. Características fermentativas y consumo voluntario de pasturas tropicales nativas ensiladas con alto contenido de materia seca en pacas cilíndricas. XLVI Reunión Anual del PCCMCA, San Juan Puerto Rico. P.205.
- Lindgren, S. and M. Pleje. 1983. Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. *J. Sci. Fd. Agric.* 34:1057-1067.
- Martínez, J.L., A. Rodríguez, F. Arias, R. Macchiavelli y E.O. Riquelme. 1999. Características fermentativas y estabilidad aeróbica de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*) ensilado en Puerto Rico bajo varias dosis de inóculo comercial. *J. Agric. Univ. P.R.* 83(3-4):135-151.
- McDonald, P., P. Herderson and S. Heron. 1991. *The Biochemistry of the Silage*. 2 ed. Marlow: Chalcombe Publications, Aberystwyth, U.K. Pp. 226.
- NRC: Nutrient Requirements of Goats. 1981. National Academy Press. Washington, D.C.
- Ohshima M., and P. McDonald. 1978. A review of changes in nitrogenous compounds of herbage during ensilage. *J. Sci. Fd Agric.* 29:497-505.
- Ojeda, F. 1988. Valor nutritivo de forrajes tropicales conservados como ensilajes. *Pastos y Forrajes. EEPF ``Indio hatuey``* 11:199-205.

- Ojeda, F., Esperance M. y L. Luis 1987. Ensilajes de pastos tropicales. Pastos y Forrajes EEPF "Indio Hatuey". 10;189-198
- Okkerman, H.W. and C.L. Hansen. 2000a. Introduction and history of processing animal by-products. Cap 1. In: Animal By-product and Utilization. CRC Press, London. Pp.1-21
- Okkerman H.W. and C.L Hansen. 2000b. Seafood by-products. Cap 11. In: Animal By-Product and Utilization. CRC Press, London. Pp.393-438
- Oyedapo F., and K. Jauncey. 1993. Chemical and nutritional quality of stored fermented fish (tilapia) silage. Bioresource Technology.0960-8524:207-210.
- Raa J. and A. Gildberg. 1982. Fish Silage: A review En: CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 61: 383-419.
- Rodríguez A.A. 1996. Studies on the efficiency of a homofermentative lactic-acid producing bacterial inoculant and commercial cell wall degrading enzyme mixtures to enhance the fermentation characteristics and aerobic stability of forages ensiled in temperate and tropical environments. Ph.D. Dissertation. Michagan State University, East Lansing, MI.
- Rodríguez, A.A., E.Riquelme y P.F. Randel. 1998a. Inclusión de leguminosas forrajeras en dietas basadas en gramíneas tropicales. I Composición química y degradación in vitro. J. Agric. Univ. P.R. 82(1-2):25-38.
- Rodríguez, A.A., E.Riquelme y P.F. Randel. 1998b. Inclusión de leguminosas forrajeras en dietas basadas en gramíneas tropicales. II Consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos. J. Agric. Univ. P.R. 82:39-49.
- Ruíz, R. y C.M. Vázquez. 1983. Consumo voluntario de pastos y forrajes tropicales. En: Los pastos en Cuba. Tomo 2. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.
- Ruz F. y F. Ojeda. 1995. Deteriorización aeróbica de los ensilajes tropicales. Pastos y Forrajes EEPF "Indio Hatuey" 18:271-279.
- Samuels, W.A., J.P. Fontenot, V.G Allen and M.D.A. Adazinge. 1991. Seafood processing wastes ensiled with straw: Utilization and intake by sheep. J. Anim. Sci 69:4983-4992.
- Sánchez R. 2003. Utilización de lodo fermentado de la industria atunera como parte integral en dietas para cerdos en crecimiento y engorde. MS tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM.
- Sánchez R., C. Santana, A. Rodríguez and A.E. Sanjuán. 2001. Fermented tuna sludge in diets for growing pigs. J. Agric. Univ. P.R. 85(1-2):101-104.

- Sanjuan, A.E. 2001. Fermentación biológica del lodos de la industria atunera como fuente potencial de proteína para la nutrición de tilapia (Oreochromis niloticus). Ph.D. Disertación. Universidad de Puerto Rico. RUM. 113 pp.
- SAS Inst. 1990. SAS/STAT[®] User's Guide (Release 6.12). SAS inst. Inc., Cary, N.C.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2 ed. Comstock Publ. Assoc., Ithaca, N.Y. p112.
- Van Soest, P.J.; J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583.
- Vicente-Chandler, J., R. Caro-Costas, F. Abruña y S. Silva. 1983. Producción y utilización intensiva de las forrajeras en Puerto Rico. Estación Experimental Agrícola, UPR-RUM, Boletín 271.
- Watson, R. and D Pauly. 2001. Systematic distortions in world fisheries catch trends. Nature v.414. <http://www.mindfully.org/Water/Fish-catch-Distortions.htm>
- Ward, W.J., G.A. Parrott, and D.G. Iredale. 1985. Fish waste as silage for use as an animal feed supplement. Manitoba. Canadian Industry Report of Fisheries and Aquatic Sciences No. 158: iv + 10 p.
- Woolford, M. 1984. The Silage Fermentation. Marcel Dekker Inc. New York.
- Zuberi R., R. Fatima, S. Shamshad Isma, and R. B. Qadri. 1993. Preparation of fish silage by microbial fermentation. Trop. Sci. 33:171-182.

Apéndices

Cuadro 1. Peso vivo de ovejoes alimentados con heno de gramíneas tropicales naturalizadas y ensilaje de sorgo durante el primer ensayo metabólico.

Animal	Tratamiento	Peso (Kg)
1	Ensilaje	26.76
2	Heno	37.65
3	Ensilaje	24.49
4	Heno	26.67

Cuadro 2. Peso vivo de ovejoes alimentados con heno de gramíneas tropicales naturalizadas y ensilaje de sorgo como dieta basal y suplementados con residuos fermentados de la producción de filetes de tilapia durante el segundo ensayo metabólico.

Animal	Tratamiento	Peso (Kg)
1	Ensilaje + RFPT	27.67
2	Heno + RFPT	37.19
3	Ensilaje + RFPT	30.39
4	Heno + RFPT	26.76
5	Ensilaje + RFPT	30.84
6	Heno + RFPT	34.47
7	Ensilaje + RFPT	35.38
8	Heno + RFPT	30.84

Cuadro 3. Peso vivo de ovejos alimentados con heno de gramíneas tropicales naturalizadas y ensilaje de sorgo como dieta basal y suplementados con lodos fermentados de la industria atunera durante el tercer ensayo metabólico.

Animal	Tratamiento	Peso (Kg)
1	Ensilaje + LFIA	31.30
2	Heno + LFIA	38.78
3	Ensilaje + LFIA	31.75
4	Heno + LFIA	30.39
5	Ensilaje + LFIA	29.94
6	Heno + LFIA	34.47
7	Ensilaje + LFIA	31.30
8	Heno + LFIA	37.19