

Nutritive quality of foxtail millet (*Setaria italica*) grass, hay and silage, and seed fatty acid profile

Calidad nutritiva del mijo de cola de zorra (*Setaria italica*), heno y ensilaje, y perfil de ácidos grasos de las semillas

P.G. Peiretti¹ and S. Tassone²

¹*Institute of Sciences of Food Production, National Research Council, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO), Italy.*

²*Department of Agriculture, Forestry, and Food Sciences, University of Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO), Italy.*

Email: piergiorgio.peiretti@ispa.cnr.it

Foxtail millet (*Setaria italica*) is grown for green grass, hay and silage and is good forage for livestock. The aim of this study was to determine the nutritive quality of foxtail millet grass, hay and silage harvested in the Po valley (northern Italy) at cut or at wilted level. The forage samples used for the trial were cut at budding stage on 8 subplots of 1 m², randomly located in 2 x 4 m plots. Two replicates were collected for each wilting levels: at cut (299 g/kg FM) and after 24 h of wilting (487 g/kg FM). Finally, two replicates of hay samples were collected after 36 h of wilting (918 g/kg FM) on the same two subplots, in order to determine chemical composition, gross energy, *in vitro* true digestibility (IVTD), indigestible neutral detergent fibre (INDF) of hay and grass samples. Moreover, herbage samples for ensiling were taken at cut and after 24 h of wilting, respectively. Foxtail millet forage was ensiled in sterile 2-litre laboratory glass silos. Two replications were performed at each dry matter level, in order to determine chemical composition, gross energy, IVTD, INDF, and fermentation characteristics of silages. The variability in herbage quality characteristics after different wilting periods and the variability in silage characteristics were analyzed for their statistical significance via analysis of variance (ANOVA) to test the effect of wilting level. Herbage wilting had no effects on nutritional parameters, reflecting excellent drying conditions. The results of ensiling indicate that the fermentation of foxtail millet is characterized by the presence of some alcohols and volatile fatty acids. No significant differences were found in crude protein, fibre, gross energy, pH or fermentation characteristics, with the exception of ethanol and butyric acid. The values of IVTD and INDF were improved in wilting silage. The good results obtained in lab-scale silos, with silage characterized by restricted fermentation at high wilting level, would seem to suggest that foxtail millet has the potential for large-scale ensiling, if it is harvested at budding stage and wilted to a DM level of more than 470 g/kg FM. Moreover, because few data are available in literature, the fat content and fatty acid (FA) profile of the seeds used in the agronomic trial were also determined. The lipid content of the foxtail millet seeds was 31.9 g/kg FM, while the predominant FAs were linoleic, oleic, and palmitic acid. The contents of stearic and linolenic acids were 32 and 27 g/kg total FA, respectively. The contents of palmitoleic, arachidic, gadoleic and behenic acid were lower than 7 g/kg total FA.

Key words: *Setaria italica*, chemical composition, fatty acid, ensilage, forage

El mijo de cola de zorra (*Setaria italica*) se cultiva para pasto verde, heno y ensilaje, y es bueno como forraje para el ganado. El objetivo de este estudio fue determinar la calidad nutritiva del pasto, heno y ensilaje de mijo de cola de zorra, cultivado en el valle del Po (norte de Italia), a nivel de corte o marchitos. Las muestras de forraje utilizadas se cortaron en etapa de yema, en ocho subparcelas de 1 m², ubicadas al azar en parcelas de 2 x 4 m. Se recolectaron dos réplicas para cada nivel de marchitez: en el momento del corte (299 g/kg MV) y después de 24 horas de marchitez (487 g/kg MV). Por último, se recolectaron réplicas de las muestras de heno después de 36 h de marchitez (918 g/kg MV) en las mismas subparcelas para determinar la composición química, energía bruta, digestibilidad verdadera *in vitro* (DVIV), fibra detergente neutra no digerible (FDNND) de las muestras de pasto y heno. Además, las muestras de plantas para ensilaje se tomaron en el momento del corte y después de 24 h de marchitez, respectivamente. El forraje de mijo de cola de zorra se almacenó en silos de cristal de laboratorio de 2 litros esterilizados. Se realizaron dos réplicas en cada nivel de la materia seca para determinar la composición química, energía bruta, DVIV, FDNND y las características de la fermentación de los silos. La variabilidad en las características de la calidad de las plantas, después de diferentes períodos de marchitez y la variabilidad en las características del ensilaje se analizaron para establecer su significación estadística con el uso de el análisis de varianza (ANOVA) para probar el efecto del nivel de marchitez. La marchitez de las plantas no influyó en los indicadores nutricionales, lo cual reflejó unas condiciones excelentes para el secado. Los resultados del ensilado indican que la fermentación del mijo de cola de zorra se caracteriza por la presencia de algunos alcoholes y ácidos grasos volátiles. No se encontraron diferencias significativas en la proteína cruda, fibra, energía bruta, características de fermentación o pH, con excepción del etanol y el ácido butírico. Los valores de DVIV y FDNND se mejoraron en el ensilaje de plantas marchitas. Los buenos resultados obtenidos en silos a escala de laboratorio, con ensilaje caracterizado por la fermentación restringida a alto nivel de marchitez, parecieran sugerir que el mijo de cola de zorra tiene el potencial para su ensilaje a gran escala, solo si se cosecha en la etapa de yema y se marchitó a un nivel de MS superior a 470 g/kg MV. Además, debido a que existen pocos datos disponibles en la literatura, se determinaron también el contenido de grasas y el perfil de ácidos grasos (AG) de las semillas utilizadas en la prueba agronómica. El contenido de lípidos de las semillas de mijo de cola de zorra fue 31.9 g/kg MV, mientras que los AG predominantes fueron el linoléico, oleico y palmítico. Los contenidos de los ácidos esteárico y linoléico fueron 32 y 27 g/kg AG totales, respectivamente. Los contenidos de los ácidos palmitoleico, araquídico, gadoleico y behénico fueron menores que 7 g/kg de AG totales.

Palabras claves: *Setaria italica*, composición química, ácido graso, ensilaje, forraje

Introduction

Foxtail millet (*Setaria italica*) is a summer annual plant belonging to the Labiatae family and is one of the earth's oldest cultivated crops. It is an important small millet crop, which grows rapidly during warm weather and is one of the most efficient water-use crops, and is therefore widely cultivated in semi-arid regions of the subtropics. This crop germinates comparatively well in drought-prone areas and in very poor soils, where other crops fail to grow (Torbatinejad *et al.* 2009).

The principal use of foxtail millet, including its forage and silage, is to feed cows and sheep. It is an important grain crop and is grown for silage and hay in North and South America, Australia and North Africa (Anderson 1999). As a short-season forage crop may have the potential to be grown for forage in dry-land cropping systems in the central Great Plains region of North America (Nielsen *et al.* 2006). Foxtail millet produced dense growth and excellent quality pasture for mid-late summer or hay, which can either be stored or left in windrows (Koch 202). In Italy, the importance of these crops has been diminishing, since production is intended for feeding birds, and it can also be used as a fast-growing meadow grass in summer, to be used from milk to waxy ripeness. Baltensperger (2002) indicates the opportunities for foxtail millet as crops, but also points out the lack of publications in this area. Svirskis (2009), found that threshed straw of foxtail millet according to chemical composition was nearly identical to conventional hay, since their stems with leaves remain green until seed harvesting and concluded that this crop can be used as forage for many animal species as green mass, hay or silage. Fresh forage crops, such as foxtail millet, can be preserved by ensiling, because the major advantages are the retention of the biological properties of green plants and an increase in the nutrient value of the finished silage (Bergero & Peiretti 2011).

The aim of this study was to determine the nutritive quality of foxtail millet grass, hay and silage harvested at cut or at wilted level. Moreover, because few data are available, the fatty acid profile of the seed used in the agronomic trial was also determined.

Materials and Methods

Plant material and environmental conditions. The foxtail millet seed was obtained from the Ornitalia Product Service s.a.s. (Colleredo di Monte Albano, Italy). The trials were carried out in the western Po Valley (Italy). No irrigation or fertilisers were applied after spring sowing. The herbage samples (whole plant) were cut at budding stage to a 1–2 cm stubble height with edging shears (0.1 m cutting width) on 8 subplots of 1 m², randomly located in 2 x 4 m plots. Sampling for chemical analysis

Introducción

El mijo de cola de zorra (*Setaria italica*) es una planta de verano, perteneciente a la familia Labiatae y es uno de los cultivos más antiguos de la tierra. Es un importante cultivo pequeño que crece rápido en el clima cálido y es uno de los que utiliza más eficientemente el agua. Por lo tanto, se cultiva mucho en las regiones semiáridas de las zonas subtropicales. Este cultivo germina bien tanto en áreas propensas a sequías como en suelos pobres, donde otros cultivos no crecen (Torbatinejad *et al.* 2009).

El mijo de cola de zorra se utiliza principalmente, incluyendo su forraje y ensilado, para la alimentación bovina y ovina. Es un importante cultivo de granos y se cultiva para heno y ensilaje en el norte y sur de América, Australia y en el norte de África (Anderson 1999). Como es un cultivo de forraje estacional tiene potencial para cultivarse para forraje en sistemas de cultivo de tierra árida en la región de las grandes llanuras de América del Norte (Nielsen *et al.* 2006). El millo de cola de zorra es un cultivo denso y es un excelente pasto para los finales del verano o para heno, pero también se puede almacenar o dejar en hileras (Koch 2002). En Italia, la importancia de estos cultivos ha disminuido debido a que la producción está destinada a la alimentación de aves, y puede utilizarse como pasto de pradera de rápido crecimiento en el verano, para ser empleado desde el grano pastoso hasta la madurez. Baltensperger (2002) indicó la oportunidad del cultivo del millo de cola de zorra, pero señaló la falta de publicaciones sobre el tema. Svirskis (2009) encontró que la composición química de la paja trillada del millo de cola de zorra era semejante a la del heno convencional y a que sus hojas y tallos permanecen verdes hasta la cosecha de la semilla y concluyó que este cultivo se puede emplear como forraje, heno o ensilaje en varias especies animales. Los forrajes como el millo de cola de zorra puede conservarse como ensilaje porque su mejor ventaja es la conservación de sus características biológicas como planta verde y el incremento del valor nutritivo del ensilaje (Berguero y Pieretti 2011).

El objetivo de este estudio fue determinar la calidad nutritiva del pasto, heno y ensilaje de mijo de cola de zorra, cosechado en el momento del corte o a nivel de marchitez. Además, debido a la poca información disponible, solo se determinó el perfil de ácidos grasos de las semillas utilizadas en la prueba agronómica.

Materiales y Métodos

Material vegetal y condiciones ambientales. La semilla de mijo de cola de zorra se obtuvo de Ornitalia Product Service s.a.s. (Colleredo di Monte Albano, Italia). Las pruebas se realizaron en la zona oeste del valle de Po (Italia). No se aplicaron

occurred only in favourable weather conditions and in the morning after the disappearance of dew. Due to the limited dimension of plots only two replicates were collected on two subplots for each wilting level: at cut (299 g/kg FM) and after 24 h of wilting (487 g/kg FM), respectively. Finally, two replicates of hay samples were collected after 36 h of wilting (918 g/kg FM) on the same subplots, in order to determine chemical composition, gross energy, *in vitro* true digestibility (IVTD), indigestible neutral detergent fibre (INDF) of hay and grass samples. Moreover, herbage samples (whole plant) for ensiling were taken on the other four subplots: two subplots harvested at cut and two subplots harvested after 24 h of wilting, respectively. Foxtail millet sample was chopped with a paper slicer to a 1–2 cm length and then ensiled in sterile 2-litre laboratory glass silos each, equipped with a lid that enables gas release only. All the silages were preserved by spontaneous fermentation and stored at 20±2 °C in a dark room for 190 days. Silage samples were then immediately frozen and kept at -30 °C until analysis was carried out. Two replications were performed at each dry matter level for a total of 4 laboratory glass silos, in order to determine chemical composition, gross energy, IVTD, INDF, and fermentation characteristics of silages.

Chemical analysis. The herbage and silage samples were immediately dried in a forced draft air oven to a constant weight at 65 °C. Samples were then brought to air temperature, weighed, ground in a Cyclotec mill (Tecator, Herndon, VA, USA) to pass through a 1 mm screen and stored for qualitative analyses. They were analyzed by AOAC (1995) for dry matter (DM), crude protein (CP), and ash by ignition to 550 °C. Neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) were determined with the Ankom 200 Fiber Analyser, following the method of Van Soest *et al.* (1991). The NDF of herbage samples was analyzed without sodium sulfite or α -amylase. Gross energy (GE) was determined using an adiabatic calorimeter bomb (IKA C7000, Staufen, Germany) according to Meineri and Peiretti (2005). All analyses were performed in duplicate. Hemicellulose was calculated as NDF-ADF and cellulose as ADF-ADL.

***In vitro* digestibility.** The herbage, silage and hay samples were also analyzed to determine their *in vitro* true digestibility (IVTD) and indigestible neutral detergent fibre (INDF) using the DaisyII Incubator (Ankom Technology Corp. Fairport, NY, USA) as described by ANKOM Technology (2005).

IVTD was calculated using the following equation:

$$IVTD = 1000 - (W_3 - (W_1 * C_1)) * 1000 / (W_2 * DM),$$

where W_1 was the filter bag weight, W_2 was the sample weight, W_3 was the final weight (filter bag+residue) after *in vitro* and sequential treatment with NDF solution, C_1

fertilizantes ni riego después de la siembra de primavera. Las muestras de pasto (planta íntegra) se cortaron durante la etapa de yema, a una altura de rastrojo de 1–2 cm, con tijeras de césped (0.1 m de amplitud de corte), en subparcelas de 1 m², colocadas al azar en parcelas de 2x4 m. El muestreo para el análisis químico sólo se produjo en condiciones meteorológicas favorables y por la mañana, después de la desaparición de rocío.

Debido a las limitadas dimensiones de la parcela se recolectaron dos réplicas en las dos subparcelas para cada nivel de marchitez: en el momento del corte (299g/kg MF) y después de 24 h de marchitez (487g/kg MV). Por último, se realizaron dos réplicas de las muestras de heno después de 36 h de marchitez (918g/kg MV) en las mismas dos subparcelas, para determinar composición química, energía bruta, digestibilidad verdadera *in vitro* (DVIV), fibra detergente neutro no digerible (FDNND) de las muestras de heno y pasto. Por otra parte, muestras de forraje para ensilar se tomaron En las otras cuatro subparcelas: dos subparcelas al momento del corte y otras dos subparcelas cosechadas después de 28h de marchitez, respectivamente.

La muestra de mijo de cola de zorra se cortó con unas tijeras a una longitud de 1-2 cm y se almacenó en silos de cristal de laboratorio estériles de 2 litros, equipados con una cubierta que permite solamente la liberación de gas. Todos los ensilajes se conservaron por fermentación espontánea y se almacenaron a 20 ± 2 °C en una habitación oscura durante 190 días. Las muestras del ensilado se congelaron inmediatamente y se mantuvieron a -30 °C hasta que el análisis se llevó a cabo. Se realizaron dos repeticiones en cada nivel de materia seca para un total de 4 silos de cristal de laboratorio, con el fin de determinar la composición química, energía bruta, DVIV, FDNND, y características de la fermentación de ensilados.

Análisis químico. Las muestras de pastos y ensilajes se secaron inmediatamente en una estufa de aire forzado hasta peso constante a 65 °C. Las muestras se llevaron a temperatura ambiente, se pesaron, se molieron en un molino Cyclotec (Tecator, Herndon, VA, EE.UU.), se pasaron por un tamiz de 1 mm y se almacenaron para análisis cualitativos. Ellas se analizaron con los métodos de la AOAC (1995) para determinar materia seca (MS), proteína cruda (PC), y cenizas por ignición a 550 °C. La fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA) se determinaron con Ankom 200 Fiber Analyser, utilizando el método de Van Soest *et al.* (1991). La FDN de las muestras de pastos se analizó sin sulfito de sodio o α -amilasa. La energía bruta (EB) se determinó utilizando un calorímetro de bomba adiabático (IKA C7000, Staufen, Alemania) de acuerdo con Meineri y Peiretti (2005). Todos los análisis se realizaron por duplicado. La hemicelulosa se calculó como FDN-FDA

was a comparison of the blank filter bag weight after and before digestion treatment and DM was the dry matter content of the samples.

INDF was calculated using the following equation:

$$\text{INDF} = \text{NDF} - \text{dNDF}$$

where NDF was neutral detergent fibre content of the sample and dNDF was digestible neutral detergent fibre (NDF*NDFD/1000).

NDFD was calculated using the following equation:

$$\text{NDFD} = 1000 - (W_3 - (W_1 * C_1)) * 1000 / (W_2 * \text{NDF})$$

where W_1 is the filter bag weight, W_2 is the sample weight, W_3 is the final weight (filter bag+residue) after *in vitro* and sequential treatment with NDF solution, C_1 is a comparison of the blank filter bag weight after and before digestion treatment and NDF is neutral detergent fibre content of the sample.

Silage conservation quality analysis. Ammonia, alcohol, volatile fatty acids, and lactic acid concentrations were determined on acid silage extracts: samples of chopped frozen silage were weighed (50 g) in a 400 mL poly-ethylene bag and extracted with 200 mL of 0.1 N H_2SO_4 at 20 °C for 4 min in a Lab Blender Stomacher 400. The mixture was centrifuged for 5 min at 3000 x g and then filtered through a Schleicher and Schull membrane filter (BA-83, 0.2 μm).

pH was determined on the water extracts of chopped frozen silage using a Crison portable pH meter (Crison Instruments, S.A., Alella, Spain). Ammonia was measured using an ammonia gas-sensing combination electrode (Orion, Model 95-12, Boston, MA) connected to an ion analyzer (Orion, Model 920A, Boston, MA).

A 1 μL aliquot of the extract was injected, using an on-column technique with an auto-sampler (Dani Instruments SpA, ALS 1000, Cologno Monzese, Italy), into a wide-bore capillary column (SGE BP21 25m x 0.53 mm internal diameter and 0.5 μm film thickness; P/N 054474, SGE International, Ringwood, Victoria, Australia) installed in a gas chromatograph (Dani GC 1000 DPC), running in a temperature-programmed mode and equipped with a flame ionization detector and a PTV injection port, used in split mode, with a split vent flow of 100 mL/min. The detector port was set to 240 °C, hydrogen was used as the carrier gas and the oven temperature was programmed to 50 °C for 2 min and from 50 °C to 190 °C at 5 °C per min giving a run time of 30 min. The peak area was measured using a Dani Data Station DDS 1000. Each peak was identified and quantified according to pure standards (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA).

Seed fatty acid analysis. Seeds obtained from the Ornitalia Product Service s.a.s. were ground to pass through a 1 mm screen. Lipid extraction, transesterification and fatty acid methyl esters gas-chromatography determination was performed according to Peiretti *et al.* (2013).

y la celulosa como LDA-ADL.

Digestibilidad in vitro. Las muestras de pastos, ensilaje y heno también se analizaron para determinar su digestibilidad verdadera *in vitro* (DVIV) y fibra detergente neutra no digerible (FDNND), con el uso de DaisyII Incubator (Ankom Technology Corp., Fairport, NY, E.E.U.U.), descrito por ANKOM Technology (2005).

La DVIV se calculó a través de la siguiente ecuación:

$$\text{DVIV} = 1000 - (W_3 - (W_1 * C_1)) * 1000 / (W_2 * \text{MS})$$

donde W_1 representó el peso de la bolsa de filtro, W_2 fue el peso muestra, W_3 era el peso final (bolsa de filtro+residuo) después del tratamiento *in vitro* y secuencial con solución de FDN, C_1 es la comparación del peso de la bolsa de filtro vacía antes y después del tratamiento de digestión y MS es el contenido de materia seca de las muestras.

La FDNND se calculó con la siguiente fórmula

$$\text{FDNND} = \text{FDN} - \text{FDNd}$$

donde FDN fue el contenido de fibra detergente neutra (g/kg MS) de la muestra y FDNd representó la fibra detergente neutra digerible (FDN*FDND/1000).

La FDND se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{FDND} = 1000 - (W_3 - (W_1 * C_1)) * 1000 / (W_2 * \text{FDN})$$

donde W_1 representó el peso de la bolsa de filtro, W_2 es el peso muestra, W_3 es el peso final (bolsa de filtro+residuo) después del tratamiento *in vitro* y secuencial con solución de FDN, C_1 es la comparación del peso de la bolsa de filtro en blanco antes y después del tratamiento de digestión y FDN es el contenido de fibra detergente neutra de la muestra.

Análisis de la calidad de conservación de ensilaje. Se determinaron las concentraciones de amoníaco, alcohol, ácidos grasos volátiles y ácidos lácticos en los extractos de ensilajes ácidos. Se pesaron las muestras del ensilaje cortado y congelado (50 g) en una bolsa de polietileno de 400 mL y se extrajeron con 200 mL de 0.1 N H_2SO_4 a 20 °C por 4 min en un agitador Lab Blender Stomacher 400. La mezcla se centrifugó por 5 min a 3000 x g y se filtró con un filtro de membrana Schleicher and Schull (BA-83, 0.2 μm).

El pH se determinó en los extractos acuosos de ensilaje cortado y congelado utilizando el medidor portátil de pH Crison (Crison Instruments, S.A., Alella, España). El amoníaco se midió con un electrodo combinado sensor de gas (Orion, Model 95-12, Boston, MA), conectado a un analizador de iones (Orion, Model 920A, Boston, MA).

Se inyectó una alícuota de 1 μL utilizando la técnica de una columna con un cargador de muestras automático (Dani Instruments SpA, ALS 1000, Cologno Monzese, Italia) en una columna capilar de alta porosidad (SGE BP21 25m x 0.53 mm de diámetro interno y 0.5 μm d grosor de la película; P/N 054474, SGE International, Ringwood, Victoria, Australia), instalados en un cromatógrafo de gas (Dani GC 1000 DPC), que funciona en modo programado de temperatura y equipado con

Statistical analysis. The data shown are mean values of the duplicate analyses performed for each replication sample. The variability in foxtail millet (direct cut, wilted and hay) quality characteristics and the variability in the silage (direct cut and wilted) characteristics were analyzed with analysis of variance (ANOVA) using the Statistical Package for Social Science, v. 11.5 (SPSS 2002) to test the effect of wilting level and using Duncan's New Multiple Range Test for post-hoc analysis. The significance was established at $P < 0.05$.

Results and Discussion

Results on different wilting treatments (0, 24, and 36 hours) on foxtail millet herbage are reported in table 1. No significant differences were found in any parameters, with the exception of DM and ash content. Foxtail millet harvested at budding stage is relatively poor in protein, that ranged from 52 to 61 g/kg DM, and rich in fibre (NDF: 674–678 g/kg DM, ADF: 394–421 g/kg DM, ADL: 49–58 g/kg DM). In agreement with Feedipedia (2012) IVTD varied from 637 to 678 g/kg DM, while INDF ranged from 322 to 363 g/kg of DM. The gross energy ranged from 16.9 to 17.1 MJ/kg DM.

Wilting the plant had little effect on its chemical composition and nutritive quality, as demonstrated for other forages (Rymer 2008). Extending the duration of wilting increased the DM concentration of foxtail millet, but had no impact on protein content, fibre fractions, gross energy and digestibility. Wilting for 36 hours resulted in a higher ash concentration than wilting for 24 hours and fresh herbage ($P < 0.05$), in agreement with Keles *et al.* (2009). The slight rise in ash concentration with wilting may reflect the respiration of organic matter and/or some level of soil contamination.

In order to avoid border effects, 20 cm of uncutted

un detector de ionización de llama y un puerto inyector PTV, utilizado en modo "split", con flujo de ventilación de 100 mL/min. El detector se estableció a los 240 °C, se utilizó hidrogeno como gas portador y la temperatura de la estufa se programó para 50 °C por 2 min y de 50 °C a 190 °C, a 5 °C por minuto, con un tiempo de CORRIDA de 30 min. El area de pico se midió con un Dani Data Station DDS 1000. Cada pico se identificó y cuantificó según los estándares puros (Sigma Chemical, St. Louis, MO, E.E.U.U.).

Análisis de ácidos grasos de las semillas. Las semillas se obtuvieron de Ornitalia Product Service s.a.s, se molieron y se pasaron por un tamiz de 1 mm. La extracción de lípidos, transesterificación, y los ésteres metilados de los ácidos grasos se determinaron por cromatográfica según Peiretti *et al.* (2013).

Análisis estadísticos. La información que se muestra son los valores medios de los análisis por duplicado realizados para cada muestra. La variabilidad en las características de calidad del mijo de cola de zorra (cortado y marchitado y heno) y las características del ensilaje (cortado y marchitado) se determinó con el análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó el paquete estadístico SPSS, v. 11.5 (SPSS 2002) para probar el efecto del nivel de marchitez y la dócima de Duncan para el análisis post-hoc. La significación se estableció a $P < 0.05$.

Resultados y Discusión

Los resultados de los diferentes tratamientos de marchitez (0, 24, and 36 horas) en mijo de cola de zorra se informan en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas en ningún indicador, excepto en el contenido de MS y cenizas. El mijo de cola de zorra cosechado en la etapa de yema es relativamente pobre en proteínas, las cuales variaron de 52 a 61 g/kg MS, y rico en fibra (FDN: 674–678 g/kg MS, FDA: 394–421 g/kg MS, and LDA: 49–58 g/kg MS), de acuerdo con Feedipedia (2012). La

Table 1. Foxtail millet herbage after different wilting periods: chemical composition, gross energy, *in vitro* true digestibility (IVTD), and indigestible neutral detergent fibre (INDF)

Wilting period, h	Direct cut 0	Wilted 24	Hay 36	SEM	Prob.
DM, g/kg fresh matter	299 ^a	487 ^b	918 ^c	116	<0.001
Ash, g/kg DM	110 ^a	111 ^a	119 ^b	1.90	0.005
CP, g/kg DM	55.3	61.0	51.7	2.10	0.223
NDF, g/kg DM	674	675	680	6.30	0.641
ADF, g/kg DM	421	394	403	21.8	0.524
ADL, g/kg DM	49.0	58.0	58.5	4.80	0.239
Hemicellulose g/kg DM	253	281	277	27.1	0.588
Cellulose g/kg DM	372	336	344	26.4	0.459
Gross energy, MJ/kg DM	17.1	16.9	16.9	0.10	0.215
IVTD, g/kg DM	662	678	637	10.5	0.068
INDF, g/kg DM	338	322	363	10.5	0.068

^{abc} Within a row, values with different letters differ ($P < 0.05$)

herbage was left between the neighbouring plots; therefore the fresh matter mass was sufficient only for two replicates for each collected sample. In a similar work, Peiretti *et al.* (2010), sampled two replicates of white lupin (*Lupinus albus* L.) for each herbage sample with the aim to determine the effect of harvest date on the chemical composition, gross energy, organic matter digestibility, nutritive value and amino acid content of this plant.

The chemical composition, gross energy, *in vitro* digestibility and fermentation characteristics of the foxtail millet silages at the two DM levels are reported in table 2.

As far as the chemical composition of foxtail millet silages is concerned, ash and crude protein did not show any significant differences between the two types of silage. Also the fibre fractions were not affected by wilting level and this is in disagreement with other authors (Repetto *et al.* 2005 and McEniry *et al.* 2007). The hemicellulose content, which is the most digestible component of NDF and represents a fermentable substrate for lactic acid bacteria during ensiling (McDonald *et al.* 1991), showed similar values of about 240 g/kg DM. Aerobic exposure resulted in an increase in IVTD (P=0.053) and decrease in INDF (P=0.053).

Forage preservation (wilting, drying and ensiling) of the crop may initiate or accelerate biological processes such as plant respiration, enzymatic and

digestibilidad verdadera *in vitro* varió de 637 a 678 g/kg MS, mientras la FDNND osciló entre 322 y 363 g/kg de MS. La energía bruta varió de 16.9 a 17.1 MJ/kg MS.

La marchitez de las plantas tuvo poco efecto en su composición química y su calidad nutritiva, como se demostró en otras plantas (Rymer 2008). Al extender la duración de la marchitez, la concentración de MS del mijo de cola de zorra aumentó pero no tuvo ningún efecto en el contenido de proteínas, fracciones fibrosas, energía bruta y la digestibilidad. La marchitez durante 36 horas propició mayor concentración de cenizas que la marchitez durante 24 horas y plantas frescas (P<0.05), según Keles *et al.* (2009). El ligero aumento de la concentración de cenizas con la marchitez podría reflejar la respiración de materia orgánica y/o algún nivel de contaminación del suelo

Para evitar los efectos de borde, 20 cm de plantas sin cortar se dejaron entre las parcelas vecinas. Por lo tanto, la masa de materia seca fue suficiente solo para dos réplicas por cada muestra colectadas. En un estudio similar, Peiretti *et al.* (2010) muestrearon dos réplicas de lupino blanco (*Lupinus albus* L.) para cada muestra de plantas con el objetivo de determinar el efecto de la fecha de cosecha en la composición química, energía bruta, digestibilidad de materia orgánica, valor nutritivo y el contenido de aminoácidos de esta planta.

La composición química, energía bruta, digestibilidad *in vitro* y las características de la fermentación de ensilajes de mijo de cola de zorra en los dos niveles de MS se informan en la tabla 2.

Table 2. Foxtail millet silages after different wilting periods: chemical composition, gross energy, *in vitro* true digestibility (IVTD), indigestible neutral detergent fibre (INDF) and fermentation characteristics

Wilting period, h	Direct cut	Wilted	SEM	Prob.
	0	24		
DM, g/kg fresh matter	257 ^a	470 ^b	62.0	0.006
Ash, g/kg DM	128	119	3.60	0.213
CP, g/kg DM	49.1	52.6	1.90	0.455
NDF, g/kg DM	682	644	15.0	0.127
ADF, g/kg DM	433	407	13.6	0.199
ADL, g/kg DM	62.8	60.6	5.90	0.750
Hemicellulose, g/kg DM	249	236	3.90	0.088
Cellulose, g/kg DM	370	347	14.4	0.244
Gross energy, MJ/kg DM	19.7	16.9	0.90	0.100
IVTD, g/kg DM	553 ^a	620 ^b	16.1	0.053
INDF, g/kg DM	447 ^a	380 ^b	16.1	0.053
pH	5.03	4.76	0.14	0.439
Ammonia, g/kg DM	14.2 ^a	5.6 ^b	2.6	0.025
Ethanol, g/kg DM	8.09 ^a	2.20 ^b	1.73	0.021
Propanol, g/kg DM	0.28	0.49	0.15	0.612
Lactic acid, g/kg DM	ND [#]	ND [#]	–	–
Acetic acid, g/kg DM	6.75	3.08	1.26	0.156
Propionic acid, g/kg DM	2.68	0.58	0.73	0.164
Butyric acid, g/kg DM	8.92 ^a	0.36 ^b	2.48	0.003

^{ab} Within a row, values with different letters differ (P<0.05). [#] Not detected

microorganism activities, that are responsible for carbohydrate oxidation, protein degradation and amino acid deamination. A consequence of these processes may be a reduction in the nutritive value of forage preserved compared with standing fresh forage (Repetto *et al.* 2005 and Bakken *et al.* 2011). However, foxtail millet preservation had no significant effect on its chemical composition, probably due to the rapid drying to hay under dry sunny weather conditions.

In particular NDF, the main chemical constituent of foxtail millet forage (Torbatinejad *et al.* 2009), was stable among preservation methods, and wilting had little effect on NDF concentration, in accordance with McEniry *et al.* (2007). Keady *et al.* (2000) demonstrated that NDF was more labile in crops harvested at early developmental stages than in more mature crops. Moreover, the study by Torbatinejad *et al.* (2009), on foxtail millet indicated that a delay in the sowing date and reducing the period of growth cause a reduction in fibre content and an increase in its nutritional value. Indeed, the stage of growth, sowing date and plant density are the most important factors that influence the composition and nutritive value of forages (Howell 1990 and Fulkerson *et al.* 2008). Unlike other grasses (Bakken *et al.* 2011), foxtail millet showed no changes in fibre concentrations, although some soluble compounds were respired during wilting. On the contrary, it improved IVTD and reduced INDF, the latter being a major factor limiting the value of forages for animals. ADL is generally the best single predictor of INDF content and hemicellulose the worst (Jančík *et al.* 2008).

The results obtained in lab-scale silos indicate that the fermentation of foxtail millet is characterized by the presence of alcohols, volatile fatty acids and a lack of lactic acid. No significant differences were found in the fermentation characteristics, with the exception of ammonia, ethanol and butyric acid ($P < 0.05$), which decreased with increasing DM content. Silage quality was characterized by restricted fermentation and low content of butyric acid at the high wilting level and this would seem to suggest that foxtail millet has the potential for large-scale ensiling, if it is harvested at the budding stage and wilted to a DM level of more than 470 g/kg fresh matter.

Further research is required to define the conservation quality in farm-scale silos or in lab silos with additives, that improve silage fermentation when foxtail millet is ensiled at cut or at low wilting levels. Arbabi and Ghoorchi (2008), found that without additives, foxtail millet can be turned into acceptable silage, but the quality, nutrition value, DM digestibility and aerobic stability of silage were improved with the addition of 7.5% molasses. The poor nutritive value of the silage is attributed to the

En lo que se refiere a la composición química de ensilajes de mijo de cola de zorra, la ceniza y proteína cruda no mostraron diferencias significativas entre los dos tipos de ensilaje. También las fracciones fibrosas no se afectaron con el nivel de marchitez y esto está en desacuerdo con otros autores (Repetto *et al.* 2005 y McEniry *et al.* 2007). El contenido de hemicelulosa, la cual es el componente más digestible de la FDN y representa un substrato fermentable para bacterias ácido láctico durante el ensilaje (McDonald *et al.* 1991), mostró valores similares de aproximadamente 240 g/kg de MS. La exposición aeróbica resultó en un aumento de la DVIV ($P=0.053$) y en una disminución de la FDNND ($P=0.053$).

La conservación de forraje (marchitez, secado y ensilaje) de la cosecha puede iniciar o acelerar procesos biológicos, tales como la respiración de la planta, y actividades enzimáticas y de microorganismos, los cuales son responsables de la oxidación de los carbohidratos, la degradación de proteínas y deaminación de aminoácidos. Una consecuencia de estos procesos puede ser una reducción en el valor nutritivo del forraje preservado en comparación con el forraje fresco en pie (Repetto *et al.* 2005 y Bakken *et al.* 2011). Sin embargo, la conservación del mijo de cola de zorra no tuvo ningún efecto significativo en su composición química, probablemente debido a la rapidez de secado para heno en condiciones meteorológicas secas y soleadas.

Especialmente la FDN, principal componente químico del forraje de mijo de cola de zorra (Torbatinejad *et al.* 2009), se mantuvo estable entre los métodos de conservación, y la marchitez tuvo poco efecto en la concentración de FDN, de acuerdo con McEniry *et al.* (2007). Keady *et al.* (2000) demostraron que la FDN fue más lábil en los cultivos cosechados en etapas tempranas del desarrollo que en cultivos más maduros. Por otra parte, el estudio de Torbatinejad *et al.* (2009) en mijo de cola de zorra indicó que un retraso en la fecha de siembra y la reducción del período de crecimiento causa una reducción en el contenido de fibra y un aumento de su valor nutricional. De hecho, la etapa de crecimiento, la fecha de siembra y la densidad de plantas son los factores más importantes que influyen en la composición y el valor nutritivo de los forrajes (Howell 1990 y Fulkerson *et al.* 2006). A diferencia de otras plantas (Bakken *et al.*, 2011), el mijo de cola de zorra no mostró cambios en las concentraciones de fibra, aunque algunos compuestos solubles podrían respirar durante la marchitez. Por el contrario, mejoró la DVIV y redujo la FDNND, siendo este último el principal factor que limita el valor de los forrajes para animales. La LDA es generalmente el mejor predictor del contenido de FDNND y la hemicelulosa es el peor (Jančík *et al.* 2008).

Los resultados obtenidos en silos a escala de laboratorio indican que la fermentación de mijo de cola de zorra se caracteriza por la presencia de alcoholes, ácidos grasos volátiles y la falta de ácido láctico. No se encontraron diferencias significativas en las características de la fermentación, con excepción de amoníaco, etanol y ácido

nature and composition of the material ensiled rather than to any defect in the ensilage process itself, and may be a feature of most silage made from tropical grasses (Nussio 2005).

The lipid content of the foxtail millet seeds was 31.9 g/kg fresh matter. The present results are in agreement with the observation of Léder (2009).

The predominant fatty acids in seed were linoleic, oleic, and palmitic acid. The contents of stearic and linolenic acids were 32 and 27 g/kg total fatty acid, respectively. The contents of palmitoleic, arachidic, gadoleic and behenic acid were lower than 7 g/kg total fatty acid (Table 3). Liang *et al.* (2009), studied the fatty acid content of foxtail millet bran oil and found that it was rich in linoleic acid (665 g/kg total fatty acid) and oleic acid (130 g/kg total fatty acid) and poor in saturated fatty acids such as palmitic acid (64 g/kg total fatty acid) and stearic acid (63 g/kg total fatty acid).

Although foxtail millet is not a high-quality forage, results have shown that it could be considered as an alternative or complement to traditional forage resources. Herbage wilting did not affect nutritional parameters, reflecting excellent drying conditions. The good conservation quality of wilted silage showed that foxtail millet is suitable for conservation through ensiling, provided that silage is well preserved with moderate ensiling losses. Further research is required to define the most appropriate agronomic techniques to follow and the conservation quality in farm-scale silos.

Table 3. Foxtail millet seed: fat content and fatty acid (FA) profile (mean \pm standard deviation)

Lipid, g/kg fresh matter	31.93 \pm 2.15
Palmitic acid, g/kg total FA	85.22 \pm 1.79
Palmitoleic acid, g/kg total FA	0.54 \pm 0.38
Stearic acid, g/kg total FA	32.42 \pm 3.78
Oleic acid, g/kg total FA	156.08 \pm 1.34
Linoleic acid, g/kg total FA	669.46 \pm 5.87
Linolenic acid, g/kg total FA	27.37 \pm 0.35
Arachidic acid, g/kg total FA	6.84 \pm 0.06
Gadoleic acid, g/kg total FA	3.13 \pm 0.01
Behenic acid, g/kg total FA	4.66 \pm 0.10
Unknown, g/kg total FA	8.24 \pm 1.62

butírico ($P < 0.05$), que disminuyó con el aumento de contenido de MS. La calidad del ensilaje se caracterizó por fermentación restringida y bajo contenido de ácido butírico en el mayor nivel de marchitez y esto parece sugerir que el mijo de cola de zorra tiene el potencial para ensilaje a gran escala, si se cosecha en la etapa de yema y se marchita a un nivel de materia seca de más de 470 g/kg de materia fresca.

Se requieren futuras investigaciones para definir la calidad de conservación en silos a escala agrícola o en silos de laboratorio con aditivos, que mejoran la fermentación del ensilaje cuando el mijo de cola de zorra se ensila en el momento del corte o en niveles bajos de marchitez. Arbabi y Ghoorchi (2008) encontraron que el mijo de cola de zorra, sin aditivos, se puede transformar en ensilaje aceptable pero la calidad, valor nutricional, digestibilidad de la MS y la estabilidad aeróbica del ensilaje se mejoraron con la adición de 7,5% de miel.

El pobre valor nutritivo del ensilaje se atribuye a la naturaleza y composición del material ensilado más que a cualquier defecto en el propio proceso de ensilado, y puede ser una característica de la mayoría de los ensilados de gramíneas tropicales (Nussio 2005).

El contenido de lípidos de las semillas de mijo de cola de zorra fue de 31.9 g/kg de materia fresca. Los resultados de este estudio están de acuerdo con la observación de Léder (2004).

Los ácidos grasos predominantes en las semillas eran linoléico, oleico, y palmítico. El contenido de los ácidos esteárico y linoléico fue 32 y 27 g/kg del total de ácidos grasos, respectivamente. Los contenidos de los ácidos palmitoleico, araquídico, gadoleico y behénico fueron inferiores a 7 g/kg del total de ácidos grasos (tabla 3). Liang *et al.* (2010) estudiaron el contenido de ácidos grasos del aceite de salvado de mijo de cola de zorra y encontraron que era rico en ácido linoléico (665 g/kg del total de ácidos grasos) y el ácido oleico (130 g/kg del total de ácidos grasos) y pobre en ácidos grasos saturados tales como el ácido palmítico (64 g/kg del total de ácidos grasos) y ácido esteárico (63 g / kg del total de ácidos grasos).

Aunque el mijo de cola de zorra no es un forraje de alta calidad, los resultados han demostrado que se podría considerar como una alternativa o complemento a los recursos de forraje tradicionales. La marchitez del forraje no afectó los indicadores nutricionales, lo que refleja excelentes condiciones de secado. La buena calidad de conservación de ensilaje marchito mostró que el mijo de cola de zorra es adecuado para la conservación a través de ensilaje, debido a que el ensilaje está bien conservado con pérdidas moderadas de ensilado. Se requieren más investigaciones para definir las técnicas agronómicas más apropiadas a utilizar y la calidad de conservación en silos a escala agrícola.

References

- Anderson, R. 1999. Foxtail millet for forage. USDA-ARS Colorado State University
 ANKOM Technology. 2005. *In vitro* true digestibility using DAISY II Incubator. ANKOM Technology. Available: http://www.ankom.com/media/documents/IVDMD_0805_D200.pdf

- AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC. 16th ed., vol. 1, Washington, D.C.: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-54-7, Available: <<http://www.cabdirect.org/abstracts/19951414840.html>>, [Consulted: February 16, 2016].
- Arbabi, S. & Ghoorchi, T. 2008. "The Effect of Different Levels of Molasses as Silage Additives on Fermentation Quality of Foxtail Millet (*Setaria italica*) Silage". Asian Journal of Animal Sciences, 2 (2): 43–50, ISSN: 18191878, DOI: 10.3923/ajas.2008.43.50.
- Bakken, A. K., Randby, Å. T. & Udén, P. 2011. "Changes in fibre content and degradability during preservation of grass-clover crops". Animal Feed Science and Technology, 168 (1–2): 122–130, ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.03.016.
- Baltensperger, D. D. 2002. "Progress with proso, pearl and other millets". In: Janick, J. & Whipkey, A. (eds.), Trends in New Crops and New Uses, ASHS Press: 100–103, ISBN: 978-0-09-707565-5.
- Bergero, D. & Peiretti, P. G. 2011. "Intake and Apparent Digestibility of Permanent Meadow Hay and Haylage in Ponies". Journal of Equine Veterinary Science, 31 (2): 67–71, ISSN: 0737-0806, DOI: 10.1016/j.jevs.2010.12.006.
- Feedipedia. 2012. Animal Feed Resources. Information system –INRA CIRAD AFZ and FAO. Available: <http://www.feedipedia.org/> Consulted: 01 February, 2016
- Fulkerson, W. J., Horadagoda, A., Neal, J. S., Barchia, I. & Nandra, K. S. 2008. "Nutritive value of forage species grown in the warm temperate climate of Australia for dairy cows: Herbs and grain crops". Livestock Science, 114 (1): 75–83, ISSN: 1871-1413, DOI: 10.1016/j.livsci.2007.04.013.
- Howell, T. A. 1990. "Grain, Dry Matter Yield Relationships for Winter Wheat and Grain Sorghum-Southern High Plains". Agronomy Journal, 82 (5): 914–918, ISSN: 0002-1962, DOI: 10.2134/agronj1990.00021962008200050014x.
- Jančík, F., Homolka, P., Cermak, B. & Lád, F. 2008. "Determination of indigestible neutral detergent fibre contents of grasses and its prediction from chemical composition". Czech Journal of Animal Science-UZPI (Czech Republic), 53 (3): 128–135, ISSN: 1212-1819, 1805-9309.
- Keady, T. W. J., Mayne, C. S. & Fitzpatrick, D. A. 2000. "Prediction of silage feeding value from the analysis of the herbage at ensiling and effects of nitrogen fertilizer, date of harvest and additive treatment on grass silage composition". The Journal of Agricultural Science, 134 (04): 353–368, ISSN: 1469-5146.
- Keles, G., O’Kiely, P., Lenehan, J. J. & Forristal, P. D. 2009. "Conservation Characteristics of Baled Grass Silages Differing in Duration of Wilting, Bale Density and Number of Layers of Plastic Stretch-Film". Irish Journal of Agricultural and Food Research, 48 (1): 21–34, ISSN: 0791-6833.
- Koch, D.W.2002.Foxtail millet; Management for supplemental and emergency forage. University of Wyoming, Cooperative Extension Service,Bun.B-11 22.3
- Léder, I. 2009. "Cultivated Plants, Primarily as Food Sources". In: Fuleky, G. (ed.), Encyclopedia of Life Support Systems, vol. 1, Oxford ,UK: Eolss Publishers Company Limited, ISBN: 978-1-84826-550-9.
- Liang, S., Yang, G. & Ma, Y. 2009. "Chemical Characteristics and Fatty Acid Profile of Foxtail Millet Bran Oil". Journal of the American Oil Chemists’ Society, 87 (1): 63–67, ISSN: 0003-021X, 1558-9331, DOI: 10.1007/s11746-009-1475-3.
- McDonald, P., Henderson, A. R. & Heron, S. J. E. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed., Kingston: Scholium Intl, 340 p., ISBN: 978-0-948617-22-5.
- McEniry, J., O’Kiely, P., Clipson, N. J. W., Forristal, P. D. & Doyle, E. M. 2007. "The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass". Grass and Forage Science, 62 (4): 470–484, ISSN: 1365-2494, DOI: 10.1111/j.1365-2494.2007.00602.x.
- Meineri, G. & Peiretti, P. G. 2005. "Determination of gross energy of silages". Italian Journal of Animal Science, 4 (2s): 147–149, ISSN: 1828-051X, DOI: 10.4081/ijas.2005.2s.147.
- Nielsen, D. C., Vigil, M. F. & Benjamin, J. G. 2006. "Forage Yield Response to Water Use for Dryland Corn, Millet, and Triticale in the Central Great Plains". Agronomy Journal, 98 (4), p. 992, ISSN: 1435-0645, DOI: 10.2134/agronj2005.0356.
- Nussio, L. G. 2005. "Silage production from tropical forages". In: Park, R. S. & Stronge, M. D. (eds.), Proceedings of the XIV International Silage Conference, a satellite workshop of the XX International Grassland Congress, Belfast, Northern Ireland: Wageningen Academic Publishers: 97–107, ISBN: 978-90-76998-75-6.
- Peiretti, P. G., Daprà, F., Zunino, V. & Meineri, G. 2010. "The effect of harvest date on the chemical composition, gross energy, organic matter digestibility, nutritive value and amino acid content of white lupin (*Lupinus albus* L.)". Cuban Journal of Agricultural Science, 44 (2): 169–173, ISSN: 2079-3480.
- Peiretti, P. G., Gai, F. & Tassone, S. 2013. "Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages". Animal Feed Science and Technology, 183 (1): 56–61, ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2013.04.012.
- Repetto, J. L., Cajarville, C., D’Alessandro, J., Curbelo, A., Soto, C. & Garín, D. 2005. "Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures". Animal Research, 54 (2), p. 8, ISSN: 1627-3583, 1627-3591, DOI: 10.1051/animres:2005007.
- Rymer, C. 2008. "The effect of wilting and soaking *Eupatorium adenophorum* on its digestibility *in vitro* and voluntary intake by goats". Animal Feed Science and Technology, 141 (1–2): 49–60, ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.013.
- SPSS.2002.Statistical Package for Social Science. Version 11.5.1 for windows, SPSS Inc,Chicago,IL, USA. Available: <http://www.ibm.com>
- Svirskis, A. 2009. "Prospects for non-traditional plant species cultivated for forage in Lithuania". Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37 (1), p. 215, ISSN: 0255-965X.
- Torbatinejad, N., Galeshi, S. & Ghoorchi, T. 2009. "Evaluation by Chemical and *in vitro* Gas Production Techniques of

Foxtail Millet Grown in Northern Iran”. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (12): 2662–2667, ISSN: 1680-5593.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. 1991. “Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition”. *Journal of Dairy Science*, 74 (10): 3583–3597, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2, PMID: 1660498.

Received: September 26, 2014