

**Efecto de la inclusión de *Musa* sp. en la conservación de *Morus alba* Linn.****Effect of the inclusion of *Musa* sp. on the conservation of *Morus alba* Linn.**

Daniel Rojas-Cordero<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5295-1487>, Andrés Alpizar-Naranjo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9612-4918>, Miguel Ángel Castillo-Umaña<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8114-744X> y Michael López-Herrera<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4301-9900>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Costa Rica, Escuela de Ciencias Agrarias Heredia. Calle Padre Royo, Heredia, Costa Rica. <sup>2</sup>Universidad de Costa Rica, Escuela de Zootecnia, Centro de Investigación en Nutrición Animal, San José, Costa Rica. Correo electrónico: [michael.lopez@ucr.ac.cr](mailto:michael.lopez@ucr.ac.cr)

**Resumen**

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de *Musa* sp. en la calidad nutricional y fermentativa de ensilajes de *Morus alba* Linn.

**Materiales y Métodos:** Se utilizó un diseño irrestricto completamente, con cuatro tratamientos: T1-100 % *M. alba*; T2-85 % *M. alba*: 25 % *Musa* sp.; T3-70 % *M. alba*: 30 % *Musa* sp. y T4-55 % *M. alba*: 45 % *Musa* sp. Los ensilajes se realizaron en bolsas plásticas de 5 kg durante 40 días. En el momento de la apertura se midieron las características bromatológicas de los ensilajes, así como los indicadores de fermentación. Se utilizó un análisis de varianza y se realizaron correlaciones entre todas las variables bromatológicas y los indicadores fermentativos.

**Resultados:** El contenido de materia seca disminuyó a razón de 2,4 % puntos porcentuales por cada incremento de *Musa* sp. en los diferentes tratamientos. La inclusión de 45 % de *Musa* sp. en la mezcla generó un crecimiento del 47,7 y 58,0 % en el contenido de carbohidratos no fibrosos y pectinas, respectivamente; que representó un 27 % de almidón y 1,1 megacalorías más de energía neta de lactancia por cada kilogramo de materia seca. Mientras, los contenidos de fibra neutro detergente y digestibilidad de la fibra neutro detergente se redujeron 22 y 23 %, respectivamente, al incluir 45 % de *Musa* sp. en la dieta. Además, hubo mejora en los indicadores fermentativos, ya que se incrementó el contenido de ácido láctico y se redujo el pH y el nitrógeno amoniacal en los ensilados.

**Conclusiones:** La inclusión de 0 y 15 % de *Musa* sp. en el ensilaje de *M. alba* presentó los valores más altos de proteína, ceniza y fibra, mientras que en los tratamientos de 30 y 45 % mejoró el proceso de conservación del forraje y se obtuvieron indicadores de fermentación favorables, así como reducción en la cantidad de fibra y aumento de los carbohidratos no fibrosos.

**Palabras clave:** arbustos, ensilaje, nutrición animal

**Abstract**

**Objective:** To evaluate the effect of the inclusion of different levels of *Musa* sp. on the nutritional and fermentative quality of silages of *Morus alba* Linn.

**Materials and Methods:** A completely unrestricted design was used, with four treatments: T1-100 % *M. alba*; T2-85 % *M. alba*: 25 % *Musa* sp.; T3-70 % *M. alba*: 30 % *Musa* sp. and T4-55 % *M. alba*: 45 % *Musa* sp. The silages were made in 5-kg plastic bags during 40 days. At the moment of opening, the bromatological characteristics of the silages were measured, as well as the fermentation indicators. A variance analysis was used and correlations were done between all the bromatological variables and the fermentation indicators.

**Results:** The dry matter content decreased at a rate of 2,4 % per each increase of *Musa* sp. in the different treatments. The inclusion of 45 % of *Musa* sp. in the mixture generated a growth of 47,7 and 58,0 % in the content of non-fibrous carbohydrates and pectins, respectively, 27 % of starch and 1,1 megacalories more of net lactation energy per each kilogram of dry matter. Meanwhile the contents of neutral detergent fiber and digestibility of the neutral detergent fiber were reduced by 22 and 23 %, respectively, when including 45 % of *Musa* sp. in the diet. In addition, there was improvement in the fermentation indicators, because the lactic acid content increased and pH and ammoniacal nitrogen were reduced in the silages.

**Conclusions:** The inclusion of 0 and 15 % of *Musa* sp. in the *M. alba* silage showed the highest values of protein, ash and fiber; while in the treatments of 30 and 45 % improved the forage conservation process and favorable fermentation indicators were obtained, as well as reduction in the quantity of fiber and increase of non-fibrous carbohydrates.

**Keywords:** silage, animal nutrition, shrubs

Recibido: 30 de abril de 2020  
Aceptado: 11 de agosto de 2020

Como citar este artículo: Rojas-Cordero, D.; Alpizar-Naranjo, A.; Castillo-Umaña, M. A. & López-Herrera, M. Efecto de la inclusión de *Musa* sp. en la conservación de *Morus alba* Linn. *Pastos y Forrajes*. 43 (3):210-219, 2020.

Este es un artículo de acceso abierto distribuido en Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> El uso, distribución o reproducción está permitido citando la fuente original y autores.

## Introducción

La alimentación de los rumiantes en los trópicos se basa, principalmente, en la utilización de los pastos y forrajes como la principal fuente de nutrientes (López-Herrera *et al.*, 2019). Sin embargo, la composición nutricional de estos es variable, y en ella influyen algunos factores, como el cultivar, la edad fisiológica (Elizondo-Salazar, 2017) y las condiciones estacionales de las precipitaciones (Ribera *et al.*, 2017).

Esta situación obliga a buscar alternativas tecnológicas para la alimentación de los rumiantes, que permitan un aporte nutricional adecuado, a bajo costo y, conjuntamente, el incremento en los rendimientos productivos.

El uso de árboles y arbustivas forrajeras permite el aporte adecuado de nutrimentos (Cardona-Iglesias *et al.*, 2017), principalmente de proteína (Franzel *et al.*, 2014). Sin embargo, si se hace uso de este tipo de recursos, se debe complementar la dieta con fuentes de energía que optimicen el aprovechamiento de los nutrimentos del forraje (Jiménez-Ferrer *et al.*, 2015).

*Morus alba* Linn. es un recurso forrajero adecuado para la suplementación de los rumiantes, debido a que produce más cantidad de nutrimentos digestibles en comparación con otros forrajes, presenta buena cantidad de biomasa por año y apropiada adaptación a las condiciones ambientales (Torres-Navarrete *et al.*, 2019).

De acuerdo con Mohapatra *et al.* (2010), el guineo cuadrado (*Musa* sp.) pertenece al grupo ABB de los híbridos triploides *Musa acuminata* x *Musa balbisiana*. Estos han demostrado buena capacidad para su conservación por medio del ensilaje, sobre todo cuando se utilizan en estado inmaduro (Happi *et al.*, 2008). Además, constituyen una fuente rica en carbohidratos no fibrosos, con 81,5 % de MS (López-Herrera *et al.*, 2017) y 80,1 % de almidón (López-Herrera *et al.*, 2019).

El ensilaje se logra mediante un proceso de fermentación inducido por bacterias que transforman carbohidratos en ácidos orgánicos, como el ácido láctico, que disminuye el pH del medio (Yitbarek y Tamir, 2014). Este proceso tiene lugar en condiciones anaeróbicas (Sánchez-Ledezma, 2018). Esta técnica ha permitido la conservación de diversos tipos de materiales que se pueden emplear posteriormente en la alimentación de los rumiantes (Arce *et al.*, 2015 y López-Herrera *et al.*, 2016).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de *Musa*

sp. en la calidad nutricional y fermentativa de ensilajes de *M. alba* Linn.

## Materiales y Métodos

**Localización.** La investigación se llevó a cabo en la finca experimental Santa Lucía (FESL), propiedad de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Costa Rica. Esta instalación se ubica entre las coordenadas 10° 1' 20" de latitud norte y 84° 06' 45" de longitud oeste, a una altitud de 1 250 m.s.n.m., en Barva, Costa Rica.

**Clima.** La zona se caracteriza por presentar precipitación anual de 2 403 mm. La humedad relativa es de 80,5 % y la temperatura media anual de 20,3 °C, con mínimas de 15,4 °C y máximas de 25,2 °C (IMN, 2020). Los análisis de laboratorio se realizaron en el Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica, ubicado en Montes de Oca.

**Materiales forrajeros.** El forraje de *M. alba* se cosechó en la plantación de la FESL, en parcelas designadas para este fin. Se estableció con semilla asexual, con una densidad de 25 000 plantas/ha. Durante el período experimental solo hubo control de las arvenses. El forraje se cosechó a los 75 días de edad y 40 cm de altura. Se sometió además, a un proceso de deshidratación durante 48 h en un invernadero, con el propósito de reducir el contenido de humedad antes de elaborar los ensilajes. Los frutos de guineo cuadrado se obtuvieron de la finca agroecológica Vocaré, ubicada en el Cantón de Upala, a 120-180 m.s.n.m., con precipitación promedio de 2 500 mm anuales, temperatura promedio de 26 °C, humedad relativa de 80-90 % y radiación solar de 3-5 h diarias (Barrientos y Chaves, 2008). La composición nutricional de los materiales utilizados se muestra en la tabla 1.

**Tratamientos y diseño experimental.** Se utilizó un diseño irrestricto, completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos: T1-100 % *M. alba*, T2-85 % *M. alba*: 25 % *Musa* sp. (GC), T3-70 % *M. alba*: 30 % de GC y T4-55 % *M. alba*: 45 % GC. Todos se sometieron a conservación por medio de la técnica de ensilaje en microsilos. A cada tratamiento se le agregó 6 % peso/peso de melaza de caña de azúcar, sin diluir, e inóculo bacteriano artesanal. Este se elaboró por fermentación en la propia finca, a partir de suero de leche, leche y melaza + *Lactobacillus* 1,0 x 10<sup>9</sup>, a dosis de 1 L/t en fresco. Cada tratamiento ensilado se repitió cuatro veces, por lo que el experimento contó con 16 unidades experimentales en total.

**Procedimiento experimental.** Los materiales se trocearon por separado mediante una picadora de

Tabla 1. Composición nutricional de los alimentos utilizados para la preparación de los tratamientos ensilados (%).

| Nutrimiento   | <i>Musa</i> sp. (GC) | <i>M. alba</i> |
|---------------|----------------------|----------------|
| PB            | 5,1                  | 16,3           |
| FDN           | 8,7                  | 46,2           |
| FDA           | 5,9                  | 32,8           |
| Lignina       | 5,1                  | 7,28           |
| CNF           | 86,3                 | 24,9           |
| Almidón total | 84,3                 | 1,0            |
| TND           | 89,2                 | 60,3           |

PB: proteína bruta, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, CNF: carbohidratos no fibrosos..

motor eléctrico hasta obtener un tamaño de partícula promedio de 2,5 cm. Se mezclaron manualmente con los frutos de guineo cuadrado inmaduro. Para empacar el ensilado al vacío, se utilizaron bolsas de polietileno, con capacidad para 5 kg y grosor de 0,063 mm. El material se compactó manualmente en las bolsas, extrayéndoles el aire mediante una aspiradora. Luego, estas se sellaron con cinta plástica adhesiva y se colocaron en una saco verde para ensilaje. Como almacén se utilizó un cuarto, donde estuvieron protegidas del ataque de aves y de labores rutinarias que podrían afectar el proceso de ensilaje.

**Muestreo y variables experimentales.** Después de transcurridos 40 días de fermentación, se envió una muestra de cada unidad experimental para realizar los análisis de calidad nutricional. Se determinó: materia seca, proteína bruta (PB = N x 6,25), extracto etéreo y ceniza por los métodos indicados en AOAC (1998), mientras que los carbohidratos no fibrosos se estimaron de acuerdo con Detmann y Filho (2010). Además, se determinó el contenido de almidón mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con un cromatógrafo Agilent 1260 Infinity, con una columna Agilent Hi-Plex H. (Ewen, 2011). Se aplicó la metodología de Van Soest *et al.* (1994) para la concentración de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido y lignina. La fibra detergente neutro digestible (dFDN) y el total de nutrientes digestibles (TND) se estimaron según la técnica de Detmann *et al.* (2008) y las fracciones de energía se calcularon por medio de las ecuaciones descritas en las tablas de requerimientos para el ganado lechero (NRC, 2001). De cada microsililo se tomó una muestra de 0,6 kg para determinar la calidad del ensilaje mediante los indicadores fermentativos pH y

ácido láctico. Para el pH se utilizó un potenciómetro con electrodo de hidrógeno, de acuerdo con la metodología propuesta por la WHO (2003). Para el ácido láctico, se procedió según el método indicado por Ewen (2011) mediante HPLC.

**Análisis estadístico.** Los datos se tabularon, y luego se procesaron por medio de un análisis de varianza, con previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza mediante el programa estadístico INFOSTAT Profesional (Di-Rienzo *et al.*, 2019). Además, se realizó un análisis de regresión lineal y cuadrática para determinar la tasa de cambio en las variables nutricionales, en caso de ser significativo el efecto del tratamiento. También se analizó la correlación entre todas las variables bromatológicas y los indicadores fermentativos por medio de los coeficientes de correlación de Pearson. En todos los análisis de información se declaró significancia cuando  $p < 0,05$ . Para la comparación entre medias se utilizó la prueba de Tukey con nivel de confianza de 95 %.

## Resultados y Discusión

**Materia seca e indicadores fermentativos.** El pH mostró diferencia significativa ( $p < 0,001$ ), debido a la sustitución por fruto de GC. Las medias de pH en los ensilados presentaron disminución lineal, a medida que se incrementó la cantidad de GC. El tratamiento con mayor valor de pH fue el de *M. alba* sin fruto, mientras que los de menor pH fueron los de *M. alba* con 30 y 45 % de inclusión, sin que existieran diferencias entre ellos (tabla 2).

En el ácido láctico, la inclusión de GC generó un efecto inversamente proporcional, de manera que el tratamiento con mayor cantidad de GC fue el que produjo menor cantidad de ácido láctico.

Aunque el GC disminuyó los valores de pH en los ensilados, las medias de los diferentes tratamientos presentaron valores adecuados para los ensilados de plantas tropicales y con alto contenido de nitrógeno, como son las leguminosas (Kung y Shaver, 2001).

La reducción en el valor final del pH, al incrementar la cantidad de GC, se puede explicar por el contenido de carbohidratos solubles presentes en el fruto inmaduro. Según López-Herrera (2017), este es de 6,2 % de MS, que se adiciona al aportado por la melaza y el forraje para favorecer la fermentación y la disminución del pH. En todos los tratamientos, el pH fue similar al referido por López-Herrera *et al.* (2017), y menor al que informaron López-Herrera *et al.* (2019). En ambas investigaciones, se usó GC en las mezclas para ensilaje. Las diferencias referidas se deben a la cantidad de carbohidratos presentes en las mezclas ensiladas, y al tipo de forraje utilizado para su elaboración.

El contenido de humedad se afectó de manera lineal, y fue directamente proporcional a la cantidad de GC que se usó. El tratamiento con menor contenido de materia seca (MS) fue el de 45 % de GC (tabla 2), debido a que el GC posee menor porcentaje de MS en comparación con *M. alba*, que inclusive se deshidrató previo al ensilaje. La reducción en la MS fue de 2,4 puntos por cada incremento de 10 % en la cantidad de GC presente en la mezcla.

Se ha determinado que los incrementos en la humedad pueden influir negativamente en la calidad final del ensilado, ya que promueven los procesos de fermentación secundaria (clostridial), la formación de efluentes y la reducción del lactato (Callejo-Ramos, 2018). Este efecto se pudo observar al registrar el comportamiento de los niveles de lactato (tabla 2). Conforme aumentó el contenido de humedad, disminuyó la concentración final de lactato en el ensilado. Además, se obtuvo una correlación ( $\rho = 0,71$ ;  $P = 0,002$ ) entre la MS y la

concentración de ácido láctico ( $\rho = 0,71$ ;  $P = 0,002$ ). También la hubo entre la concentración de ácido láctico y el pH ( $\rho = -0,64$ ;  $P < 0,007$ ).

Este comportamiento concuerda con los resultados informados en otras investigaciones, en las que se recomienda que los forrajes con alto contenido de humedad se deben exponer a la deshidratación antes del proceso de ensilaje (Han *et al.*, 2006). Aunque hubo disminución en la concentración de ácido láctico, los valores en todos los tratamientos estuvieron entre los aceptables (2-8 % MS) para los ensilados de las especies leguminosas (Kung y Shaver, 2001).

El ácido láctico fue superior a lo informado por Kung *et al.* (2003), quienes hallaron cifras de 3,61 y hasta 4,45 % en ensilajes de alfalfa (*Medicago sativa* L.). En estas diferencias pudo influir el contenido de MS del forraje de *M. alba* y la concentración de los azúcares solubles en la mezcla, los que pueden aumentar o disminuir la producción de ácido láctico en el silo (López-Herrera y Briceño-Arguedas, 2017). Se puede inferir que el marchitado del forraje es una estrategia que permite la adecuada conservación de los forrajes, bajos valores de pH y nitrógeno amoniacal; además de la reducción en las poblaciones de bacterias clostridiales, lo que coincide con informes de Nishino *et al.* (2012).

**Componentes intracelulares.** El contenido de proteína bruta (PB) de los ensilados mostró diferencias significativas, debido a la inclusión de GC (tabla 3). La concentración de PB disminuyó a medida que aumentó la cantidad de GC en la mezcla, y esta disminución sucedió a una tasa de 1,1 puntos porcentuales por cada 10 % de inclusión de GC. Esto se debió al menor contenido de esta fracción en el GC con respecto a la proteína del forraje (tabla 1), comportamiento similar al descrito por López-Herrera *et al.* (2017). Estos autores hallaron reducciones de esta fracción, al incrementar la inclusión de fruto inmaduro de musácea.

Tabla 2. Contenido de materia seca, pH, y lactato.

| Forraje        | GC | Materia seca, %   | pH               | Lactato, %        |
|----------------|----|-------------------|------------------|-------------------|
| <i>M. alba</i> | 0  | 43,5 <sup>c</sup> | 4,4 <sup>c</sup> | 6,8 <sup>b</sup>  |
|                | 15 | 38,9 <sup>b</sup> | 4,2 <sup>b</sup> | 6,9 <sup>b</sup>  |
|                | 30 | 34,6 <sup>a</sup> | 4,1 <sup>a</sup> | 6,2 <sup>ab</sup> |
|                | 45 | 32,8 <sup>a</sup> | 4,0 <sup>a</sup> | 5,4 <sup>a</sup>  |
| EE ±           |    | 0,554             | 0,022            | 0,215             |
| Valor - P      |    | <0,001            | <0,001           | 0,001             |

Letras diferentes en la misma columna son diferentes  $p < 0,05$

Ninguno de los tratamientos presentó concentraciones de PB menores al 7 %, lo que permite considerar que estas mezclas son apropiadas para la suplementación de los rumiantes, como complemento de una dieta balanceada. Se estima que la reducción de 7 % en el contenido de proteína podría generar deficiencias en el metabolismo del nitrógeno en el rumen, ya que se reduce el valor de este nutriente en la dieta, lo que compromete el funcionamiento adecuado del rumen (Calsamiglia *et al.*, 2010).

En esta investigación, los ensilados presentaron contenidos de PB mayores que los referidos por Alpizar *et al.* (2014) en ensilados de *Sorghum bicolor* (L.) Moench y *M. alba*. También fueron superiores a los que informaron Lazo-Salas *et al.* (2018) en ensilados de corona de piña (*Ananas Comosus* L.) y GC. Sin embargo, resultaron similares a los hallados por Montero-Durán (2016) en ensilados de leguminosas con GC, y a los de López-Herrera *et al.* (2019) en ensilados de pasto, urea y GC. Estas diferencias en el contenido de proteína se deben a las características propias de cada especie.

El extracto etéreo no se afectó por la inclusión de GC en los ensilados de *M. alba* (tabla 3). Es posible que los valores de esta fracción fueran similares en ambas especies, de manera que la inclusión no generó diferencias en los ensilados.

El nivel de inclusión de GC mostró diferencias significativas en el contenido de carbohidratos no fibrosos entre los tratamientos (tabla 3), de manera que a mayor cantidad de CG fue superior la concentración de carbohidratos no fibrosos de la mezcla ensilada. Hubo aumento de esta fracción, a medida que se incrementó el nivel de inclusión de GC. Este comportamiento se relaciona con la cantidad de dicha fracción encontrada en el GC (tabla 1).

En los tratamientos establecidos, las concentraciones de esta fracción fueron mayores que las que

obtuvieron Cubero *et al.* (2010) con ensilados de *Zea mays* L. Esto sugiere que las mezclas presentaron un contenido energético favorable para su aprovechamiento por los rumiantes, sobre todo porque esta fracción está compuesta por almidón, que se puede transformar en propionato a nivel del rumen, y aumentar el volumen diario de leche (Owens y Basalan, 2016).

El almidón es el componente principal de los carbohidratos no fibrosos en el fruto de GC, ya que representa 97,7 % de esta fracción (tabla 1). Su concentración en los tratamientos ensilados se afectó por la inclusión de GC, y se incrementó a medida que aumentó la cantidad de GC en la mezcla (tabla 3). El aumento en la concentración de almidón fue de una tasa promedio de 6 % por cada incremento del 10,0 % en la mezcla. De este modo, el tratamiento con 45 % de inclusión de GC obtuvo la mayor concentración (27,4 % MS), similar a la informada por Der Bedrosian *et al.* (2012) en ensilados de *Z. mays* (32,0 % MS).

El almidón fue el principal compuesto de los carbohidratos del fruto de musácea en estado inmaduro, lo que concuerda con los resultados de Barrera *et al.* (2010). No obstante, su contenido puede variar entre las especies de musáceas y las zonas geográficas (Ravi y Mustaffa, 2013), por lo que se deben realizar análisis bromatológicos previos a la utilización de estos materiales en los ensilajes. Además, su uso debe ser balanceado en la dieta para evitar grandes cantidades de almidón en el rumen y sus efectos adversos, como la acidosis ruminal (Humer *et al.*, 2017).

El contenido mineral de las mezclas ensiladas se afectó por el nivel de inclusión de GC (tabla 3). Al incrementar la cantidad de GC en la mezcla, disminuyó la concentración de la fracción mineral.

Según Montero-Durán (2016), el GC posee bajo contenido de ceniza (5 %), lo que contribu-

Tabla 3. Componentes intracelulares de los ensilados de *M. alba* con GC (% MS).

| Forraje        | GC | Proteína<br>bruta  | Extracto<br>etéreo | Carbohidratos<br>no fibrosos | Almidón<br>total  | Ceniza             |
|----------------|----|--------------------|--------------------|------------------------------|-------------------|--------------------|
| <i>M. alba</i> | 0  | 18,0 <sup>c</sup>  | 2,6                | 35,3 <sup>a</sup>            | 0,4 <sup>a</sup>  | 10,5 <sup>c</sup>  |
|                | 15 | 17,1 <sup>bc</sup> | 2,7                | 39,3 <sup>a</sup>            | 8,2 <sup>b</sup>  | 10,4 <sup>bc</sup> |
|                | 30 | 15,6 <sup>ab</sup> | 2,9                | 44,3 <sup>b</sup>            | 17,9 <sup>c</sup> | 9,9 <sup>b</sup>   |
|                | 45 | 13,6 <sup>a</sup>  | 2,7                | 48,6 <sup>c</sup>            | 27,4 <sup>d</sup> | 8,9 <sup>a</sup>   |
| EE ±           |    | 0,482              | 0,177              | 0,967                        | 0,836             | 0,130              |
| Valor - P      |    | <0,001             | 0,872              | <0,001                       | <0,001            | <0,001             |

Letras diferentes en la misma columna difieren  $p < 0,05$

yó a reducir esta variable en los ensilados. Este comportamiento coincide con los resultados de López-Herrera *et al.* (2017) en ensilados de *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone y plátano Pelipita (*Musa ABB*).

Según Hoffman (2005), la disminución en la fracción mineral es favorable, ya que la ceniza carece de aporte energético. Esto aumenta la cantidad de materia orgánica fermentable en el rumen, lo que puede contribuir a la alimentación energética del rumiante. Además, hubo una correlación negativa entre el contenido de ceniza y los nutrientes digestibles ( $\rho = -0,97$ ;  $P < 0,001$ ).

*Componentes de la pared celular y la energía.*

El contenido de fibra en detergente neutro (FDN) de los ensilados se afectó por el nivel de inclusión de GC. La FDN disminuyó a medida que aumentó la cantidad de GC en las mezclas ensiladas (tabla 4). Este comportamiento se puede deber a la baja cantidad de fibra que presentó el GC en comparación con *M. alba* (tabla 1). La reducción sucedió a razón de 17 puntos porcentuales, como promedio, por cada incremento de 10 % en la mezcla.

La disminución de la fibra en las mezclas es favorable, ya que altos contenidos en el forraje pueden afectar el consumo voluntario y la productividad de los animales (Combs, 2014), debido al llenado físico que provoca la distensión de las paredes del rumen (Sousa, 2017).

Menos cantidad de fibra en el rumen podría afectar el consumo de fibra físicamente efectiva, ya que se sustituye la del forraje por un material de menor efectividad para el estímulo de la rumia y contiene más almidón. Esta situación podría disminuir los sólidos lácteos, y suponer riesgo de acidosis ruminal (Izumi *et al.*, 2018).

De acuerdo con los contenidos de fibra encontrados en este estudio, todos los ensilados resultaron

de buena calidad. Sin embargo, ninguno de los tratamientos con GC se debe utilizar como base forrajera, sino como complemento en una dieta balanceada, con adecuado aporte de fibra efectiva.

Hubo disminución en el contenido de lignina, a medida que aumentó el nivel de inclusión del GC en las mezclas (tabla 4). No obstante, esa diferencia no fue significativa, a pesar de que el contenido de lignina del fruto de CG fue diferente al de la *M. alba* (tabla 1).

Según Mohapatra *et al.* (2010), las cáscaras de musáceas pueden contener de 5-8 % de lignina, cuando están en estado inmaduro, lo que permite hacer esta presunción en su comportamiento.

Los valores de lignina en este estudio fueron menores a los encontrados por Montero-Durán (2016) en ensilados de *Cratylia argentea* Desv. y *Erythrina poeppigiana* Walp. con GC, aunque mayores que los informados por Roa y Galeano (2015) en ensilados de nacedero, con 30 y 60 días de conservación (3,3 y 3,5 % de MS, respectivamente). Estas diferencias en el contenido de lignina se pueden deber al tipo de forraje, la estación y edad de cosecha del material (López-Herrera y Briceño-Arguedas, 2016).

Valente *et al.* (2016) plantearon que la lignina es un compuesto de los tejidos estructurales que conforman la fibra y se ha relacionado con la disponibilidad de los otros componentes de la pared celular. Por lo tanto, además de la concentración y efectividad de la fibra, es importante la cantidad que se aprovecha como energía por el rumiante. Combs (2014) indica que la digestibilidad de la fibra puede afectar el consumo de materia seca y la productividad de los animales, ya que tiene mayor impacto en la producción, si se compara con la digestibilidad de cualquier otro nutrimento.

La digestibilidad de la fibra en detergente neutro (dFDN) de los ensilados se afectó por el nivel

Tabla 4. Concentración de los componentes de la pared celular (g/100 g de MS) y energía (Mcal EN<sub>L</sub>/kg de MS) de las mezclas ensiladas.

| Forraje        | GC | FDN               | dFDN              | Lignina | Pectina           | TND               | EN <sub>L</sub>  |
|----------------|----|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|------------------|
|                | 0  | 33,5 <sup>c</sup> | 19,9 <sup>c</sup> | 4,6     | 5,4 <sup>a</sup>  | 65,6 <sup>a</sup> | 1,5 <sup>a</sup> |
| <i>M. alba</i> | 15 | 30,6 <sup>b</sup> | 18,1 <sup>b</sup> | 4,4     | 6,1 <sup>ab</sup> | 66,9 <sup>a</sup> | 1,5 <sup>a</sup> |
|                | 30 | 27,4 <sup>a</sup> | 16,2 <sup>a</sup> | 4,2     | 6,5 <sup>ab</sup> | 68,8 <sup>b</sup> | 1,6 <sup>b</sup> |
|                | 45 | 26,1 <sup>a</sup> | 15,3 <sup>a</sup> | 4,3     | 8,5 <sup>b</sup>  | 70,3 <sup>b</sup> | 1,6 <sup>b</sup> |
| EE ±           |    | 0,620             | 0,365             | 0,175   | 0,699             | 0,408             | 0,010            |
| Valor - P      |    | <0,001            | <0,001            | 0,292   | <0,043            | <0,001            | <0,001           |

FDN: fibra en detergente neutro, dFDN: digestibilidad de la fibra detergente neutro, TND: total de nutrientes digestibles, ENL: energía neta de lactación

Letras diferentes en la misma columna son diferentes ( $p < 0,05$ )

de inclusión de GC (tabla 4). La dFDN se redujo, a medida que aumentó la cantidad de GC en la mezcla ensilada. Esta disminución en la cantidad de dFDN se debe a la reducción directa de la FDN por mayor cantidad de GC en la mezcla; además de que la lignina permanece constante. Esto aumenta su proporción en la fracción fibrosa y por ende, afecta su digestibilidad. La reducción en la concentración de dFDN como porcentaje de la MS sucede, como promedio, a razón de 1,1 % por cada incremento de 10 % en la mezcla. Aunque no hubo diferencias entre los tratamientos, cuando se expresó la dFDN como porcentaje de la FDN, debido a que la ecuación de estimación de la dFDN considera la concentración de fibra total, la concentración de lignina y la relación de ambas en el material (Sampaio *et al.*, 2012).

El contenido de pectinas se afectó por el nivel de inclusión de GC (tabla 4). Esta fracción aumentó a medida que se incrementó la cantidad de GC en los ensilados. Estas diferencias podrían estar relacionadas con la concentración de pectinas en los frutos de GC en comparación con *M. alba*. Según Mohapatra *et al.* (2010), las cáscaras de GC inmaduras pueden contener 10-21 % de pectinas, lo que podría explicar su incremento en los ensilados. Este mismo efecto se observó en las investigaciones de Lazo-Salas *et al.* (2018), quienes trabajaron con ensilados de coronas de piña con GC. También se registró en el trabajo de Álvarez-Brito (2017), quien utilizó ensilados de leguminosas arbustivas con GC. Con respecto a este último, existe mayor similitud en los datos.

El contenido energético de los ensilados aumentó conforme se incrementó la cantidad de GC en la mezcla con diferencias significativas (tabla 4). Los tratamientos con 30 y 45 % fueron los de mayor contenido de energía, sin que existieran diferencias entre ellos. Estos cambios en el contenido de energía se deben al contenido energético del GC (tabla 1).

En esta investigación, el valor de la energía para el tratamiento sin GC fue mayor al informado por Boschini-Figueroa (2006), quien indicó que a los 70 días de rebrote *M. alba* presenta 57,7 % de TND y 1,22 Mcal/kg de MS de energía neta para producción de leche. Esto se debe a que en el proceso de ensilaje se reduce el contenido de fibra, lo que aumenta la cantidad de nutrimentos que son aprovechables por el animal (López-Herrera *et al.*, 2017). La incorporación del GC a la mezcla aumentó de forma significativa el contenido de energía final en los ensilados.

Al utilizar los requerimientos de energía para la producción de un kilogramo de leche, 4 % de grasa según las tablas de requerimientos del NRC (2001) (117 g PB; 0,75 Mcal EN<sub>L</sub>/kg), se determinó que cada kilogramo en fresco de los ensilados investigados tiene el potencial para producir 0,38 – 0,86 kg leche, 4 % de grasa.

Estas diferencias se deben, principalmente, al contenido de MS en cada forraje, ya que el tratamiento sin GC fue el que presentó mayor potencial de producción (0,67-0,86 kg leche/kg MF) de ensilado en comparación con el que incluyó 45 %, que mostró un potencial para producción de leche de 0,38-0,70 kg leche/kg MF de ensilado. Esto quiere decir que aunque el GC aumenta el contenido de energía en el ensilado, la reducción en el contenido de MS origina que el animal tenga que consumir más cantidad de ensilado para alcanzar el mismo potencial de un material más seco. Este efecto se obtuvo con *M. alba* deshidratada, por lo que se debe analizar la influencia del forraje fresco en la calidad y el potencial para la producción de leche. Los ensilados generados en esta investigación son materiales de buena calidad para su utilización en la suplementación de bovinos lecheros.

### Conclusiones

La inclusión de 0 y 15 % de *Musa* sp. en el ensilaje de *M. alba* presentó los valores más altos de proteína, ceniza y fibra. Mientras, en los tratamientos de 30 y 45 %, se mejoró el proceso de conservación del forraje y se obtuvieron indicadores de fermentación favorables, así como reducción de la cantidad de fibra y aumento de los carbohidratos no fibrosos, que propició el incremento del aporte energético de los ensilados.

A medida que se utilizó mayor cantidad de *Musa* sp., hubo reducción del contenido de proteína, y el aporte de materia seca, lo que afectó el potencial productivo de las mezclas ensiladas. Por tanto, cada ensilado se debe balancear en una dieta que permita cubrir las carencias de cada mezcla.

### Agradecimientos

Al proyecto de investigación 739-B4-115 \_Evaluación de ensilajes de pastos y forrajeras con diferentes niveles de guineo cuadrado (*Musa* sp.) para la alimentación de rumiantes bajo normativa orgánica\_, que se halla inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, que aportó el financiamiento para la realización de este estudio.

### Contribución de los autores

- Daniel Rojas-Cordero. Desarrolló los experimentos en campo, su diseño y montaje. Realizó el registro y procesamiento de los datos, la redacción y los arreglos en el manuscrito.
- Andrés Alpízar-Naranjo. Desarrolló los experimentos en campo, su diseño y montaje. Realizó el registro y procesamiento de los datos, la redacción y los arreglos en el manuscrito. Participó en el asesoramiento de la investigación.
- Miguel Ángel Castillo-Umaña. Desarrolló los experimentos en campo, su diseño y montaje. Realizó el registro y procesamiento de los datos, la redacción y los arreglos en el manuscrito. Participó en el asesoramiento de la investigación.
- Michael López-Herrera. Desarrolló los experimentos en campo, su diseño y montaje. Realizó el registro y procesamiento de los datos, la redacción y los arreglos en el manuscrito. Participó en el asesoramiento de la investigación.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos.

### Referencias bibliográficas

- Alpízar, A.; Camacho, María Í.; Sáenz, C.; Campos, M. E.; Arece, J. & Esperance, M. Efecto de la inclusión de diferentes niveles de morera (*Morus alba*) en la calidad nutricional de ensilajes de sorgo (*Sorghum almum*). *Pastos y Forrajes*. 37 (1):55-60, 2014.
- Álvarez-Brito, R. *Emisiones in vitro de metano y parámetros ruminales a partir de mezclas ensiladas de cratylia (Cratylia argentea), poró (Erythrina poeppigiana) y guineo cuadrado (Musa acuminata x balbisiana, Grupo ABB)*. Tesis de Licenciatura. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 2017.
- AOAC. *Official methods of analysis*. 16th ed., 4th rev. Gaithersburg, USA: AOAC International, 1998.
- Arce, J.; Rojas, A. & Poore, M. Efecto de la adición de pollinaza sobre las características nutricionales y fermentativas del ensilado de subproductos agroindustriales de yuca (*Manihot esculenta*). *Agron. Costarric*. 39 (1):131-140, 2015.
- Barrera, J. L.; Arrazola, G. S. & Cayón, D. G. Caracterización fisicoquímica y fisiológica del proceso de maduración de plátano hartón (*Musa AAB Simmonds*) en dos sistemas de producción. *Acta Agron*. 59 (1):20-29, 2010.
- Barrientos, O. & Chaves, Guisella. *Región Huetar Norte: Oferta exportadora actual y oferta potencial de productos agropecuarios alternativos*. San José, Costa Rica: PROCOMER, 2008.
- Boschini-Figueroa, C. Nutrientes digeribles, energía neta y fracciones proteicas de la morera (*Morus alba*) aprovechables en vacas lecheras. *Agron. Mesoam*. 17 (2):141-150, 2006.
- Callejo-Ramos, A. Conservación de forrajes (V): fundamentos del ensilado. *Frisona española*. 38 (223):70-78, 2018.
- Calsamiglia, S.; Ferret, A.; Reynolds, C. K.; Kristensen, N. B. & van Vuuren, A. M. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. *Animal*. 4 (7):1184-1196, 2010 DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731110000911>.
- Cardona-Iglesias, J. L.; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. Efecto sobre la fermentación *in vitro* de mezclas de *Tithonia diversifolia*, *Cenchrus clandestinum* y grasas poliinsaturadas. *Agron. Mesoam*. 28 (2):405-426, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.25697>.
- Combs, D. Using *in vitro* total-tract NDF digestibility in forage evaluation. *Focus on forage*. 15 (2):1-3, 2014.
- Cubero, J. F.; Rojas, A. & WingChing, R. Uso del inóculo microbiano elaborado en finca en ensilaje de maíz (*Zea mays*). Valor nutricional y fermentativo. *Agron. Costarric*. 34 (2):237-250, 2010.
- Der Bedrosian, M. C.; Nestor Jr., K. E. & Kung Jr., L. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J. Dairy Sci*. 95 (9):5115-5126, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4833>.
- Detmann, E. & Filho, S. C. Valadares. Sobre a estimação de carboidratos não fibrosos em alimentos e dietas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 62 (4):980-984, 2010.
- Detmann, E.; Filho, S. C. Valadares; Pina, D. S.; Henriques, L. T.; Paulino, M. F.; Magalhães, K. A. *et al.* Prediction of the energy value of cattle diets based on the chemical composition of the feeds under tropical conditions. *Anim. Feed Sci. Technol*. 143 (1-4):127-147, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.008>.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, Mónica G.; González, Laura A.; Tablada, M. & Robledo, C. W. *InfoStat versión 2019*. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, 2019.
- Elizondo-Salazar, J. A. Producción de biomasa y calidad nutricional de tres forrajes cosechados a dos alturas. *Agron. Mesoam*. 28 (2):329-340, 2017. DOI: <https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.23418>.
- Ewen, A. *Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography. Application note Si-01943: analyzing liquid fractions of biogas processes by HPLC*. USA: Agilent Technologies, Inc, 2011.
- Franzel, S.; Carsan, S.; Lukuyu, B.; Sinja, Judith & Wambugu, C. Fodder trees for improving livestock

- productivity and smallholder livelihoods in Africa. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 6:98-103, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.11.008>.
- Han, K. J.; Collins, M.; Vanzant, E. & Dougherty, C. T. Characteristics of baled silage made from first and second harvests of wilted and severely wilted forages. *Grass Forage Sci.* 61 (1):22-31, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2006.00501.x>.
- Happi, T.; Robert, Christelle; Ronkart, S. N.; Wathlet, B. & Paquot, M. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. *Bioresour. Technol.* 99 (10):4346-4354, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.030>.
- Hoffman, P. C. Ash content of forages. *Focus on forage.* 7 (1):1-2, 2005.
- Humer, E.; Petri, R. M.; Aschembach, J. R.; Bradford, B. J.; Penner, G. B.; Tafaj, M. *et al.* Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 101 (2):872-888, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13191>.
- IMN. *Datos climáticos. Periodo 1991-2018.* Heredia, Costa Rica: Estación Meteorológica Finca Experimental Santa Lucía, Universidad Nacional de Costa Rica. <https://www.imn.ac.cr/estaciones-automaticas>. 2020.
- Izumi, K.; Tamura, T.; Fujii, R.; Nakatsuji, H. & Morita, S. Effects of substituting kraft pulp with corn silage on dry matter intake, ruminal mat formation, rumen fermentation, and rumination activity in non lactating cows. *Anim. Sci. J.* 90 (2):205-213, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/asj.13149>.
- Jiménez-Ferrer, G.; Mendoza-Martínez, G.; Soto-Pinto, L. & Alayón, A. Evaluation of local energy sources in milk production in a tropical silvopastoral system with *Erythrina poeppigiana*. *Trop. Anim. Health Prod.* 47 (5):903-908, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0806-7>.
- Kung, L. & Shaver, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis. *Focus on forage.* 3 (13). <https://fyi.extension.wisc.edu/forage/files/2016/10/Fermentation2.pdf>, 2001.
- Kung, L.; Taylor, C. C.; Lynch, M. P. & Neylon, J. M. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86 (1):336-343, 2003. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73611-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73611-X).
- Lazo-Salas, G. J.; Rojas-Bourrillon, A.; Campos-Granados, C. M.; Zumbado-Ramírez, C. & López-Herrera, M. Caracterización fermentativa y nutricional de mezclas ensiladas de corona de piña con guineo cuadrado Musa (ABB) I. Parámetros fermentativos, análisis bromatológico y digestibilidad *in vitro*. *Nutrición Animal Tropical.* 12 (1):59-79, 2018. DOI: <https://doi.org/10.15517/nat.v12i1.33847>.
- López-Herrera, M. *Efecto del ensilado de cuatro leguminosas en mezcla con diferentes fuentes de carbohidratos sobre la fermentación, calidad nutritiva y producción de metano.* Tesis presentada para optar por el título de Master Scientiae en Agricultura Alternativa con mención en Agricultura Ecológica. Costa Rica: Campus Omar Dengo, Universidad Nacional, 2017.
- López-Herrera, M. & Briceño-Arguedas, E. Efecto de la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos en la calidad física y química de mezclas para ensilaje. *Nutrición Animal Tropical.* 11 (1):52-73, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/nat.v11i1.29605>.
- López-Herrera, M. & Briceño-Arguedas, E. Efecto de la frecuencia de corte y la precipitación en el rendimiento de *Cratylia argentea* orgánica. *Nutrición Animal Tropical.* 10 (1):24-44, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/nat.v10i1.24703>.
- López-Herrera, M.; Rojas-Bourrillon, A. & Zumbado-Ramírez, C. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita. *Agron. Mesoam.* 28 (3):629-642, 2017. DOI: <https://doi.org/10.15517/ma.v28i3.25237>.
- López-Herrera, M. J.; Rojas-Bourrillon, A. & Briceño-Arguedas, E. Sustitución del pasto *Megathyrsus maximus* por guineo cuadrado y urea en mezclas ensiladas. *Agron. Mesoam.* 30 (1):179-194, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32478>.
- Mohapatra, D.; Mishra, S. & Sutar, N. Banana and its by-product utilisation: an overview Debabandya Mohapatra. *J. Sci. Ind. Res., India.* 69:323-329, 2010.
- Montero-Durán, E. *Evaluación de las propiedades fermentativas, nutricionales y el costo de elaboración de ensilajes de poró (Erythrina poeppigiana) y cratylia (Cratylia argentea) con niveles crecientes de inclusión de guineo cuadrado (Musa sp.), para alimentación de rumiantes.* Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 2016.
- Nishino, N.; Li, Y.; Wang, C. & Parvin, S. Effects of wilting and molasses addition on fermentation and bacterial community in guinea grass silage. *Lett. Appl. Microbiol.* 54 (3):175-181, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03191.x>.
- NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle.* 7th rev. USA: National Academy Press, 2001.
- Owens, F. N. & Basalan, M. Ruminal fermentation. In: D. D. Millen, M. D. B. Arrigoni and R. D. L. Pacheco, eds. *Rumenology.* Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
- Ravi, I. & Mustaffa, M. M. Starch and amylose variability in banana cultivars. *Ind. J. Plant Physiol.* 18:83-87, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-013-0014-2>.

- Ribera, J. L.; Zambrano-Burgos, D. A.; Campuzano, Janeth; Verdecia-Acosta, D. M.; Chacón-Marcheco, E.; Arceo-Benitez, Y. *et al.* El clima y su influencia en la producción de los pastos. *RED-VET.* 18 (6):1-12. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63651420007>, 2017.
- Roa, María L. & Galeano, J. R. Calidad nutricional y digestibilidad *in situ* de ensilajes de cuatro leñosas forrajeras. *Pastos y Forrajes.* 38 (4):431-440, 2015.
- Sampaio, Cláudia B.; Detmann, E.; Valadares Filho, S. de C.; Queiroz, A. C. de; Valente, T. N. P.; Silva, R. R. *et al.* Evaluation of models for prediction of the energy value of diets for growing cattle from the chemical composition of feeds. *R. Bras. Zootec.* 41 (9):2110-2123, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000900020>.
- Sánchez-Ledezma, W. Potencial de los forrajes para producir ensilaje de calidad. *Alcances Tecnológicos.* 12 (1):49-58, 2018.
- Sousa, D. O. de *Alteration of fiber digestibility for ruminants: effects on intake, performance, and ruminal ecosystem.* Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal para obtenção do título de Doutor em Ciências.
- Pirassununga, Brasil: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2017.
- Torres-Navarrete, E.; Sánchez-Laiño, A.; Espinoza-Guerra, Í.; Verdecia, D. M.; Ramírez, J. L.; Barrera-Alvarez, A. *et al.* Productivity, chemical composition and *in situ* ruminal degradation kinetics of *Morus alba* at different regrowth ages. *Cuban J. Agric. Sci.* 53 (4):447- 457, 2019.
- Valente, T. N. P.; Lima, E. da S.; Gomes, Daiany I.; Santos, W. B. R. dos; Cesário, Andréia S. & Santos, S. de C. Anatomical differences among forage with respect to nutrient availability for ruminants in the tropics. A review. *Afr. J. Agric. Res.* 11 (18):1585-1592, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10828>.
- Van Soest, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant.* 2nd. Ithaca, London: Cornell University Press, 1994.
- WHO. pH in drink water. In: *Guidelines for drinking-water quality.* Vol. 2. Health criteria and other supporting information. 2nd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2003.
- Yitbarek, M. & Tamir, B. Silage additives: review. *Open J. Appl. Sci.* 4:258-274 2014. DOI: <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.