

Artículo de investigación

# Evaluation of dietary supplements containing castor cake on *in situ* degradation, diets with Kikuyu grass and dairy production in Holstein cows

*Evaluación de suplementos alimenticios conteniendo torta de higuerilla sobre la degradación *in situ* de dietas con pasto kikuyo y la producción lechera en vacas Holstein*

*Avaliação de suplementos dietéticos contendo torta do higuerilla na degradação *in situ* dietas com grama Kikuyu e produção leiteira em vacas Holstein*

Isabel Cristina Ramírez Hernández<sup>1\*</sup> ✉, Zoot, MSc(c), [CvLAC](#); Luis Alfonso Giraldo Valderrama<sup>2</sup> ✉, Zoot, MSc, PhD, [CvLAC](#)

## Fecha correspondencia:

Recibido: 6 de marzo de 2017.

Aceptado: 18 de julio de 2017.

## Forma de citar:

Ramírez Hernández IC, Giraldo Valderrama LA. Evaluación de suplementos alimenticios conteniendo torta de higuerilla sobre la degradación *in situ*, de dietas con pasto kikuyo y la producción lechera en vacas Holstein. Rev. CES Med. Vet. Zoot. Vol 12 (2): 103-122.

## Open access

© Copyright

Creative commons

Ethics of publications

Peer review

Open Journal System

DOI: <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.12.2.3>

ISSN 1900-9607

Comparte



## Abstract

Meat castor cake is a protein byproduct from the mechanical extraction of castor oil, which could replace imported protein sources in dairy supplements. Two experiments were carried out with the purpose of evaluating the effect of the supplementation with castor cake on the *in situ* degradation of DM, CP, NDF and milk yield of Holstein cows.

In experiment 1, three rumen fistulated cows were used, under an experimental design of complete random blocks. Five supplements were evaluated with five levels of inclusion of castor cake (0, 8, 16, 24 and 32 %), which formed part of five diets composed of 70 % of grass kikuyo, *Cenchrus clandestinus* and 30 % of the respective supplement. The inclusion of 8 to 16 % of castor cake in the supplement did not affect ( $P > 0.05$ ) the degradation parameters of the fractions evaluated.

In experiment 2, a feed supplement containing 10 %  $\text{CaOH}_2$ -treated castor cake was evaluated for feed intake, milk yield and quality in Holstein cows in the first third of lactation, comparing it to a concentrate containing 10 % soy cake. Eight cows were used, which were randomly assigned to one of two treatments, in an experimental or Change-Over Simple or 2 x 2 Cross-Over design. Supplementation with concentrate containing 10 % of castor cake treated with  $\text{CaOH}_2$  did not affect DM consumption, milk production and composition.

**Keywords:** Agroindustrial byproduct, *Cenchrus clandestinus*, Dairy cow, Nutritional value, *Ricinus communis*.

## Resumen

La torta de higuerilla es un subproducto protéico proveniente de la extracción mecánica del aceite de ricino, la cual podría remplazar fuentes proteicas importadas en suplementos para ganado lechero. Se realizaron dos

**Filiación:**

1Grupo de Investigación en Biotecnología Ruminal y Silvopastoreo (BIORUM), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Calle 59A N° 63-20, Bq 19 Lab 213, Medellín, Colombia.

2Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

experimentos con el propósito de evaluar el efecto de la suplementación con torta de higuierilla sobre la degradación *in situ* de la MS, PB, FDN y la producción de leche de vacas Holstein. En el experimento 1, se utilizaron tres vacas fistuladas al rumen, bajo un diseño experimental de bloques completos al azar. Se evaluaron cinco suplementos con cinco niveles de inclusión de torta de higuierilla (0, 8, 16, 24 y 32 %), los cuales conformaron parte de cinco dietas compuestas por 70 % de pasto *Cenchrus clandestinus* y 30 % del respectivo suplemento. La inclusión entre 8 y 16 % de torta de higuierilla en el suplemento no afectó ( $P>0,05$ ) los parámetros de degradación de las fracciones evaluadas. En el experimento 2, se evaluó un suplemento alimenticio conteniendo 10 % de torta de higuierilla tratada con  $\text{CaOH}_2$  sobre el consumo de forraje, producción y calidad de la leche en vacas Holstein en el primer tercio de lactancia, comparándolo con un concentrado conteniendo 10 % de torta de soya. Se utilizaron ocho vacas, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a uno de dos tratamientos, en un diseño experimental de Sobre Cambio o Change-Over Simple o Cross-Over 2 x 2. La suplementación con concentrado conteniendo 10 % de torta de higuierilla tratada con  $\text{CaOH}_2$ , no afectó el consumo de MS, la producción y composición de la leche.

**Palabras clave:** *Bioproductos Agroindustriales, Cenchrus clandestinus, Ricinus communis, Vaca lechera, Valor nutricional.*

## Resumo

O torta do Higuierilla é um subproduto de proteína da extração mecânica do óleo de ricino, que pode substituir as fontes de proteína importadas em suplementos de produtos lácteos. Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação com torta de higuierilla sobre a degradação *in situ* de DM, CP, NDF e produção de leite de vacas Holstein. No experimento 1, foram utilizadas três vacas fissuladas no rúmen, sob um delineamento experimental de blocos completos ao acaso. Cinco suplementos foram avaliados com cinco níveis de inclusão de torta de higuierilla (0, 8, 16, 24 e 32 %), que faziam parte de cinco dietas composta por 70 % de grama *Cenchrus clandestinus* e 30 % do respectivo suplemento. A inclusão de 8 a 16 % de bolo no suplemento não afetou ( $P>0,05$ ) os parâmetros de degradação das frações avaliadas. No experimento 2, foi avaliado um suplemento alimentar contendo bolo de manga de 10 % tratado com  $\text{CaOH}_2$  quanto à ingestão de alimentos, rendimento e qualidade do leite em vacas Holstein no primeiro terço da lactação, comparando-o com um concentrado contendo 10 % Bolo de soja. Foram utilizadas oito vacas, que foram distribuídas aleatoriamente para um dos dois tratamentos, em um projeto experimental de Over Change ou Over-Change ou Cross-Over 2 x 2. Suplemento de concentrado contendo 10 % de bolo de manga manchado com  $\text{CaOH}_2$ , não afetaram o consumo de DM, a produção de leite e a composição.

**Palabras-chave:** *Bioproductos agroindustriais, Cenchrus clandestinus, Ricinus communis, Vaca leiteira, Valor nutricional.*

## Introducción

La torta de higuierilla (*Ricinus communis*) es un subproducto proveniente de la extracción mecánica del aceite de ricino. Se estima que por cada 1000 kilos de semilla de higuierilla se obtienen aproximadamente 550 kilos de esta torta, aunque esta cantidad puede variar de acuerdo al contenido de aceite en la semilla y de la eficiencia del proceso de extracción del aceite de ricino <sup>24</sup>.

En Colombia, a pesar de que la oferta de este subproducto es baja, debido al limitado número de áreas cultivadas en higuierilla, existe una fuerte demanda de grano por empresas extractoras de aceite de ricino <sup>59</sup>. Para cubrir esta demanda, se requiere que en el país se implementen programas de fomento de este cultivo y a medida que las áreas plantadas aumenten, la oferta de los subproductos provenientes de la extracción del aceite de ricino también se incrementará.

A nivel mundial, el uso de la torta de higuierilla ha sido utilizada principalmente como fertilizante orgánico <sup>20</sup>, aunque su alto contenido de proteína, entre 29 a 35 % <sup>3</sup>, la convierte en una alternativa para la alimentación animal, pero la presencia de varios principios tóxicos y alergénicos como ricina, ricinina y complejo alergénico CB-1A, han limitado su uso <sup>29</sup>. No obstante, se ha venido trabajando sobre el desarrollo de procedimientos biológicos, físicos y químicos que inactiven estos principios tóxicos y permitan su uso como fuente proteica alternativa en la alimentación de animales rumiantes <sup>1</sup>.

En las zonas ubicadas en clima frío de Colombia, el uso del pasto kikuyo, *Cenchrus clandestinus*, como base forrajera para la alimentación animal en sistemas de producción de lechería especializada, junto con suplementos alimenticios, como los concentrados comerciales de alto costo, utilizan como materias primas para su formulación granos de cereales y fuentes proteicas importadas al país, por la industria que fabrica estos concentrados.

El uso indiscriminado de estos suplementos alimenticios por los productores, trae como consecuencia una baja competitividad y altos costos de producción de leche, por lo que, la torta de higuierilla desintoxicada, sería una alternativa para remplazar estas fuentes proteicas de origen vegetal importadas al país <sup>22</sup>.

En estudios realizados con subproductos de higuierilla en ganado lechero, se ha encontrado que la harina de higuierilla desintoxicada puede reemplazar hasta un 33 % la harina de soya o incluirse máximo en un 15 % en un suplemento sin afectar la producción de leche en vacas Holstein, cuya base forrajera era ensilaje de maíz<sup>14</sup>. Mientras que en vacas cruzadas (Holstein x Cebú), este subproducto puede sustituir el 100 % la torta de soya e incluirse en un 22,3 % en un suplemento sin afectar la producción y calidad de la leche en vacas pastoreando *B. decumbens* <sup>43</sup>.

Se ha encontrado niveles de inclusión de harina de higuierilla desintoxicada en suplementos para el levante de novillas Holstein hasta un 60 % en dietas compuestas de 67,5 % de ensilaje de maíz y 32,5 % de suplemento, sin afectar la ganancia de peso, sin embargo, afecta negativamente la digestibilidad de todos los nutrientes a excepción de la proteína bruta (PB) y el extracto etéreo (EE) <sup>36</sup>.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de incorporación de torta de higuierilla como suplemento proteico, para la alimentación en bovinos productores de leche. Para cumplir con este propósito, se realizaron dos experimentos, el primero tuvo como propósito evaluar cinco suplementos alimenticios experimentales con niveles crecientes de torta de higuierilla (0, 8, 16, 24 y 32 %) sobre la degradación ruminal *in situ* en dietas a base de pasto kikuyo en una proporción 70 % de pasto y 30 % del respectivo concentrado.

Este primer experimento permitió seleccionar el mejor nivel de inclusión, para posteriormente evaluarlo como suplemento alimenticio en vacas Holstein, pastoreando pasturas de pasto kikuyo, con el propósito de estudiar su efecto en la producción y calidad

composicional de la leche, con el fin de generar conocimiento que permita explorar las posibilidades productivas de su uso en sistemas ganaderos de producción de leche en Antioquia, para tal efecto, se evaluó un concentrado con 10 % de torta de higuierilla tratada con hidróxido de calcio y se comparó con otro conteniendo 10 % de torta de soya.

## Materiales y métodos

### *Aval de ética*

Se siguieron los protocolos para el uso de animales experimentales, a través de la reglamentación institucional del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (Acta 03 del 15 de marzo del 2010).

### *Localización*

Los experimentos se realizaron en la Estación Agraria "Paysandú", de la Universidad Nacional, sede Medellín, ubicada a 2600 msnm, con una temperatura media de 14 °C, precipitación media de 2500 mm y una humedad relativa promedio de 80 %, en una formación ecológica bh-MB, según la clasificación de Holdrige <sup>39</sup>.

### *Análisis químicos*

En las muestras de forraje, suplementos y dietas se determinó el contenido de PB, mediante el método Kjeldahl (NTC, 4657) <sup>41</sup>. El contenido de FDN y fibra detergente ácida (FDA), se realizó por el método secuencial Van Soest *et al.* (1991) <sup>67</sup> en un equipo Ankom 200 °. El contenido de lignina fue determinado por medio de digestión en una solución de ácido sulfúrico (72 % v/v) durante tres horas a las muestras provenientes del residuo de la determinación de FDA. El contenido de extracto etéreo (EE) fue determinado por el método Soxhlet automatizado, en un equipo ANKOM XT15 ° (AOCS Am 5-04) <sup>7</sup>. El contenido de materia inorgánica (MI) se determinó mediante incineración directa en mufla (adaptación AOAC 942.05) <sup>6</sup> y la materia orgánica calculada como la diferencia entre los valores de la materia seca (MS) y MI. El contenido de carbohidratos no estructurales (CNE), se calculó aritméticamente: %CNE: 100-(PB+FDN+MI+EE) (NRC, 2001) <sup>49</sup>.

### *Experimento 1: Degradabilidad ruminal in situ*

Se utilizaron tres vacas Holstein canuladas a rumen con un peso promedio de 750 ± 30 kg, las cuales pastaron *Cenchrus clandestinus* de 38 días de rebrote, y suplementadas vía cánula ruminal con 500 g de concentrado comercial y 500 g de torta de higuierilla, durante 21 días con el objeto de adaptar la población microbiana a este suplemento. Posteriormente se dio inicio a las incubaciones intraruminales de las respectivas dietas.

Se evaluaron cinco suplementos alimenticios experimentales con niveles ascendentes de torta de higuierilla (0, 8, 16, 24 y 32 %), los cuales conformaron cinco dietas compuestas por 70 % de pasto y 30 % de concentrados (D0, D8, D16, D24 y D32). En la [tabla 1](#) se muestran los ingredientes utilizados en la formulación de los suplementos y las dietas con su respectiva composición química.

Las muestras del forraje del pasto Kikuyo (*C. clandestinus*), para conformar las dietas, fueron colectadas siguiendo la técnica de "Hand Pluck" <sup>26</sup> o corte con la mano, a una edad de rebrote de 38 días.

Para determinar la cinética de degradación ruminal *in situ*, de las diferentes fracciones químicas del alimento, fue utilizada la técnica descrita por Ørskov y McDonald (1979) <sup>53</sup>. Se usaron como sustratos los tratamientos anteriormente descritos, secos

y molidos a un tamaño de partícula de 2,0 mm. Se pesaron dos gramos de materia seca (MS) de cada dieta y se depositaron en bolsas Ankom<sup>®</sup> de dacrón:poliéster, con un tamaño de poro de 50  $\mu$ m y dimensiones de 12\*5 cm, selladas, obteniendo área efectiva por bolsa de 100 cm<sup>2</sup> y resultando una relación área:muestra de 20 mg/cm<sup>2</sup>, reportada por Giraldo <sup>34</sup>. Los tiempos de incubación usados fueron 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas, utilizando dos bolsas por tratamiento y por tiempo, para un total de 80 bolsas por animal. En el tiempo "0", se hizo corrección por escape de partículas <sup>34</sup>. Una vez cumplidos los tiempos de incubación, las bolsas se retiraron del rumen y fueron lavadas en una máquina lavadora en un ciclo de lavado de cinco minutos y secadas a 60 °C durante 72 horas en una estufa de aire forzado.

**Tabla 1.** Ingredientes utilizados en la formulación de los suplementos evaluados *in situ* y su composición química en dietas compuestas por 70 % de pasto kikuyo y 30 % de concentrado.

| <b>Ingrediente</b> | <b>Niveles de inclusión de torta de higuerrilla (%)</b> |          |           |           |           |
|--------------------|---------------------------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
|                    | <b>0</b>                                                | <b>8</b> | <b>16</b> | <b>24</b> | <b>32</b> |
| Harina de Soya     | 16,00                                                   | 8,00     | -         | -         | -         |
| DDG <sup>1</sup>   | 16,00                                                   | 24,00    | 29,00     | 19,90     | 8,10      |
| Maíz               | 38,50                                                   | 28,00    | 26,00     | 28,00     | 36,50     |
| Yuca               | 12,50                                                   | 15,00    | 15,00     | 11,00     | 6,00      |
| Glicerina          | 15,00                                                   | 15,00    | 12,00     | 15,00     | 15,00     |
| Urea               | -                                                       | -        | -         | 0,10      | 0,40      |
| Calcita mineral    | 0,81                                                    | 0,81     | 0,81      | 0,81      | 0,81      |
| Fosfato            | 1,16                                                    | 1,16     | 1,16      | 1,16      | 1,16      |
| Premezcla          | 0,03                                                    | 0,03     | 0,03      | 0,03      | 0,03      |
| PB (%)             | 17,07                                                   | 17,10    | 16,84     | 16,75     | 16,93     |
| ENL (Mcal/kgMS)    | 1,97                                                    | 1,99     | 2,01      | 2,00      | 1,98      |

  

| <b>Fracción química<sup>2</sup> (%)</b> | <b>Dieta: 70 % de kikuyo + 30 % suplemento</b> |           |            |            |            |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------|-----------|------------|------------|------------|
|                                         | <b>D0</b>                                      | <b>D8</b> | <b>D16</b> | <b>D24</b> | <b>D32</b> |
| PB                                      | 23,3                                           | 23,6      | 23,2       | 23,7       | 23,3       |
| FDN                                     | 47,8                                           | 48,5      | 50,4       | 48,3       | 49,6       |
| FDA                                     | 18,2                                           | 18,8      | 19,2       | 18,8       | 20,4       |
| Lig                                     | 1,7                                            | 3,1       | 2,7        | 3,2        | 4,2        |
| EE                                      | 2,6                                            | 3,0       | 3,5        | 3,6        | 4,0        |
| MI                                      | 10,1                                           | 10,2      | 10,4       | 11,0       | 10,6       |
| MO                                      | 89,9                                           | 89,8      | 89,6       | 89,0       | 89,4       |
| CNE                                     | 16,2                                           | 14,7      | 12,5       | 13,4       | 12,5       |

1: Granos solubles de destilería de maíz. 2: Base seca PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; EE: extracto etéreo; MO: Materia orgánica; MI: Materia inorgánica. CNE: Carbohidratos no estructurales: 100-(PC+FDN+Cen+EE). ENL: Energía neta de lactancia D0: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 0% de torta de higuerrilla (TH). D8: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 8 % de TH. D16: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 16 % de TH. D24: 70 % de kikuyo y 30% de suplemento con 24% de TH. D32: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 32 % de TH.

Todas las bolsas fueron pesadas en una balanza analítica, antes y después de la incubación intraruminal, para determinar la degradabilidad *in situ* de la MS, fibra detergente neutra (FDN-DFDN) y de la proteína bruta (PB-DPB); para esta última fracción, fue corregida previamente por la contaminación con nitrógeno de origen microbiano, utilizando una solución al 0,1 % de metilcelulosa <sup>20</sup>. La degradabilidad *in situ* de cada una de las fracciones, se calculó como la diferencia entre la cantidad de MS incubada y la MS residual, teniendo en cuenta la concentración de PB y de la FDN.

*Experimento 2: Evaluación de un suplemento conteniendo torta de higuierilla sobre la producción de leche de vacas Holstein en pastoreo*

Para este experimento se utilizaron ocho vacas Holstein multíparas, con  $53 \pm 28$  días en lactancia,  $4,8 \pm 1,6$  partos y  $653 \pm 71,2$  kg de peso. Estos animales, pastaron permanentemente pasturas de kikuyo (*C. clandestinus*) con 38 días de rebrote y suministro de sal mineralizada a voluntad. Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día a intervalos de 12 horas.

Se usó un diseño de sobre cambio o Cross-Over simple 2 x 2, con dos periodos de 30 días, cada periodo consistió de 23 días de adaptación y siete de medición; los tratamientos consistieron en la suplementación alimenticia, mediante el suministro de un concentrado comercial (Tratamiento control, con 0 % de torta de higuierilla) y el otro tratamiento, consistió en la suplementación con un concentrado experimental, que contenía 10 % de torta de higuierilla. Estos se ofrecieron a razón de ocho kg/animal/día, durante todo el periodo de evaluación. Los ingredientes utilizados en la formulación de los suplementos y la composición química del pasto kikuyo, de la torta de higuierilla y de los concentrados se muestran en la [tabla 2](#).

**Tabla 2.** Ingredientes utilizados en la formulación de los suplementos evaluados en vacas Holstein y la composición química del pasto kikuyo, torta de higuierilla y suplementos.

| Ingrediente (%)                      |              | Suplemento control                               | Suplemento experimental        |      |
|--------------------------------------|--------------|--------------------------------------------------|--------------------------------|------|
| Maíz                                 |              | 48,00                                            | 34,00                          |      |
| Harina de galleta                    |              | 8,00                                             | 8,00                           |      |
| Trigo salvado                        |              | 17,00                                            | 8,00                           |      |
| Melaza caña                          |              | 4,50                                             | 4,00                           |      |
| Hna. Soja                            |              | 10,00                                            | 0,00                           |      |
| Torta de higuierilla                 |              | 0,00                                             | 10,00                          |      |
| Gluten maíz 20%                      |              | 6,00                                             | 24,00                          |      |
| Harina Palmiste. Ext. Mecánica       |              | 5,00                                             | 11,00                          |      |
| Fosfato mono-bicálcico               |              | 0,30                                             | 0,25                           |      |
| Cloruro sódico (marina)              |              | 0,25                                             | 0,25                           |      |
| Premezcla vitamínica                 |              | 0,25                                             | 0,25                           |      |
| Calcita mineral (CaCO <sub>3</sub> ) |              | 0,62                                             | 0,25                           |      |
| Composición química                  |              |                                                  |                                |      |
| Fracción química (%) <sup>1</sup>    | Pasto Kikuyo | Torta de higuierilla tratada Ca(OH) <sub>2</sub> | Inclusión Torta de higuierilla |      |
|                                      |              |                                                  | 0                              | 10   |
| PB                                   | 24,2         | 27,9                                             | 19,2                           | 19,5 |
| FDN                                  | 58,6         | 48,9                                             | 28,3                           | 34,5 |
| FDA                                  | 23,5         | 32,6                                             | 6,4                            | 11,6 |
| Lignina                              | 1,9          | 26,0                                             | 1,7                            | 4,8  |
| EE                                   | 2,6          | 6,8                                              | 4,6                            | 7,0  |
| MI                                   | 10,1         | 13,2                                             | 5,7                            | 6,6  |
| MO                                   | 89,9         | 86,8                                             | 94,3                           | 93,4 |
| Ca                                   | -            | 3,3                                              | 0,5                            | 0,6  |
| P                                    | -            | 0,69                                             | 0,6                            | 0,7  |
| CNE                                  | 4,5          | 3,2                                              | 42,2                           | 32,4 |
| ENL (Mcal/kgMS)                      | 1,3          | 1,5                                              | 1,82                           | 1,78 |

1: Base seca. PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; EE: extracto etéreo; MO: Materia orgánica; MI: Materia inorgánica. CNE: Carbohidratos no estructurales:  $100 - (\text{PC} + \text{FDN} + \text{Cen} + \text{EE})$ . ENL: Energía neta de lactancia.

La torta de higuierilla utilizada es el subproducto resultante de la extracción mecánica del aceite de ricino por expeller. La cual se trató con 60 gr  $\text{Ca(OH)}_2$ /kg de torta, conforme a lo descrito por Oliveira et al, (2007) <sup>51</sup>, teniendo una eficiencia de desintoxicación del 57 %, quedando con un contenido de ricina de 1,1 gr/kgMS de torta, cuya determinación fue realizada en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de EMBRAPA, Caprinos y Ovinos <sup>22, 52</sup>.

#### *Variables de respuesta*

*Producción y calidad composicional de la leche.* Durante los días de medición se registró la producción individual (Litros leche/vaca/día). Las muestras de leche representativas de cada ordeño fueron colectadas por medio de un medidor de leche Waikato Mkv. Milk Meter® (con previa agitación al interior del colector). Para ello, se tomaron 50 ml de leche de cada ordeño y se mezclaron obteniendo así una muestra compuesta, la cual se conservó con Bronopol® (2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol) y se mantuvo refrigerada hasta sus análisis correspondientes. Los análisis de la calidad composicional de la leche (sólidos totales, grasa, proteína y MUN) fue realizada, mediante el método de Espectroscopia Infrarroja (Milkoscan, Procedimiento/UdeA/P9124012L, método normalizado ISO- 9622).

*Estimación del consumo de materia seca del forraje, en pastoreo.* La estimación del consumo individual del pasto Kikuyo bajo pastoreo, se realizó utilizando marcadores externos e internos. Como marcador externo se usó óxido de cromo peletizado, suministrando 20 g por animal durante todo el periodo de experimentación, divididos en dos ofertas (am y pm), luego durante los siete días de medición se colectaron muestras de heces (am y pm), las que fueron congeladas a -4 °C. Luego fueron secadas en estufa de aire forzado a 60 °C por cinco días y molidas por un molino de cuchillas (Fritsch Idar Oberstein®- Germany) y pasados por una criba de 1 mm. Se obtuvo una muestra compuesta por animal en cada periodo.

La concentración de cromo en las muestras de heces y del forraje fue determinada por el método espectrofotometría UV-Vis a 363 nm, por la metodología propuesta por Fenton & Fenton <sup>28</sup>. Para el caso de la concentración de cromo en las heces, esta se corrigió por el contenido basal de cromo en cada uno de los animales de forma individual, durante el periodo pre-experimental. Con este marcador se estimó la producción de heces con la ecuación descrita por Lippke<sup>44</sup> y una tasa de recuperación "TR" del marcador (Cr) asumida del 79,4 % <sup>16</sup>.

Para determinar el factor de indigestibilidad mediante la producción de heces, se utilizó como marcador interno la fibra detergente ácido indigerible (FDAi) <sup>62</sup>, asumiendo un porcentaje de recuperación del 80 % <sup>63</sup>. Para determinar esta fracción, se realizó la incubación ruminal *in vitro* durante 144 horas <sup>10, 15</sup>, de un gramo de las muestras de forraje, suplemento y heces colectadas en cada periodo, las cuales se incubaron por duplicado en bolsas ANKOM F-57 con tamaño de poro 25 µm, en un incubador DAISYII siguiendo el protocolo descrito por el fabricante del equipo para la determinación de la DIVMS. Pasado este tiempo, se retiraron las bolsas del incubador y se lavaron de manera homogénea en una maquina lavadora, para luego ser secadas en una estufa de ventilación forzada a 60°C durante 48 horas.

El contenido de la FDAi, se determinó mediante la técnica secuencial descrita por Van Soest *et al.* (1991)<sup>67</sup>, usando un analizador de fibras ANKOM 200® (Ankom Technology, 2004)<sup>5</sup>. Para el cálculo del consumo de materia seca del forraje (CMSf), se utilizó la ecuación, propuesta por Carulla, citado por Valencia y García <sup>31, 65</sup>.



*Análisis estadístico*

*Experimento 1.* Para la estimación matemática de los parámetros de la cinética de degradación de la MS, PB y FDN de cada uno de los sustratos, se emplearon dos modelos exponenciales a través del proceso iterativo de algoritmo Marquardt, mediante un modelo de regresión no lineal (PROC NLIN) del programa SAS, versión 9.1.3 (2001) <sup>61</sup>.

Para el cálculo de los parámetros de degradación ruminal *in situ* de la MS y la PB, se utilizó el modelo propuesto por Ørskov y McDonald <sup>53</sup>:  $Y = a + b * (1 - \exp^{(-kd*t)})$  y para la estimación de los parámetros de degradación de la FDN, se utilizó el modelo exponencial propuesto por Espinoza <sup>25</sup>:  $Y = b * (1 - \exp^{(-kd*(t-L)})$ . Donde "Y" representa la desaparición de la MS, PB y FDN de la bolsa de nailon en cada tiempo de incubación "t" (horas) y "a, b, Kd", son las constantes que representan la fracción soluble del sustrato, fracción insoluble y potencialmente degradable y tasa de degradación de la fracción b (%/h), respectivamente, y "L" es el periodo prefermentativo o fase Lag (horas). Para estimar la degradabilidad efectiva (DE) de las diferentes fracciones químicas en cada uno de los sustratos, se empleó el modelo propuesto por Ørskov y McDonald <sup>53</sup>:  $DE = a + [(b*Kd)/(Kd+kp)]$ , considerando una tasa de pasaje (Kp) de 5,04 %/hora <sup>33</sup>.

Los parámetros estimados de la degradación de las fracciones de la MS, PB y FDN de los tratamientos, fueron sometidos a un análisis de varianza utilizando el programa estadístico SAS (SAS Institute, Inc, Cary, NC) <sup>61</sup>, versión 9.1.3, con el procedimiento GLM, bajo un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), que incluyó el efecto de animal como fuente de variación (bloque) y tratamientos como efecto fijo. Las medias de los tratamientos se compararon por medio de la prueba de Tukey, considerando un valor  $P < 0,05$ . El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:  $Y_{ij}$ : Observación del j-ésimo animal y i-ésimo tratamiento,  $\mu$ : Media general de la población,  $\tau_i$ : Efecto del i-ésimo tratamiento,  $\beta_j$ : Efecto del j-ésimo animal y  $\varepsilon_{ij}$ : Error aleatorio.

*Experimento 2.* El análisis estadístico de las variables de respuesta, se llevó a cabo usando el procedimiento PROC MIXED de SAS (2001) <sup>61</sup>. El modelo incluyó los efectos fijos de tratamiento, día de medición y la interacción tratamiento x día, así como los efectos aleatorios de período y vaca, que surgen de una asignación de sobre cambio simple o Cross-Over <sup>8</sup> de los tratamientos sobre las unidades experimentales. La significancia estadística fue declarada cuando  $P < 0,05$ . El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_j + P_k + \tau_i + \varepsilon_{ijk}^r + \delta_l + (\tau\delta)_{il} + \varepsilon_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$ : Lectura del i-ésimo tratamiento, en el j-ésimo animal, en k-ésimo periodo, en el l-ésimo día,  $\mu$ : Media general,  $A_j$ : Efecto aleatorio del j-ésimo animal,  $P_k$ : Efecto aleatorio del k-ésimo periodo,  $\tau_i$ : Efecto del i-ésimo tratamiento,  $\varepsilon_{ijk}^r$ : Error para la



evaluación de tratamientos,  $\delta_l$ : Efecto del *l*-ésimo día,  $(\tau\delta)_{il}$ : Efecto de la *il*-ésima interacción entre tratamiento y día,  $\epsilon_{ijkl}$ : Error residual, para la evaluación de días y de la interacción entre tratamientos y días.

## Resultados

### Experimento 1

Los parámetros de degradación de la MS, PB y FDN, se describen en la [tabla 3](#). Con respecto a la degradación de la MS, la inclusión de torta de higuierilla en los concentrados no tuvo efecto significativo ( $P>0,05$ ) en las fracciones *a* y *b*, fluctuando de 24,4 hasta 26 % y entre 61.2 a 63.5 %, respectivamente. Sin embargo si hubo un efecto altamente significativo ( $P<0,01$ ) sobre la tasa de degradación (*Kd*) y en la degradación efectiva (*DE*). Niveles de inclusión de 24 y 32 % (*D24* y *D32*), disminuye la *DE* con relación a la dieta control (*D0*), mientras que no difiere con *D8* y *D16*. La mayor tasa de degradación se obtuvo en *D8*, es decir en el suplemento conteniendo 8 % de torta de higuierilla, con un valor de 7 %/hora, el cual difiere con los demás tratamientos evaluados.

**Tabla 3.** Efecto de inclusión de torta de higuierilla en suplementos sobre los parámetros de la degradación ruminal *in situ* de la materia seca (MS), de la fibra en detergente neutro (FDN) y de la proteína bruta (PB) en dietas con 70 % de kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) y 30 % de suplemento.

| Parámetro                     | Inclusión Torta de Higuierilla % |                   |         |        |       | EEM  | Valor-P |
|-------------------------------|----------------------------------|-------------------|---------|--------|-------|------|---------|
|                               | D0                               | D8                | D16     | D24    | D32   |      |         |
| Materia seca (MS)             |                                  |                   |         |        |       |      |         |
| a, %                          | 25,9                             | 26,0              | 25,1    | 24,4   | 24,8  | 1,04 | 0,29    |
| b, %                          | 63,5                             | 61,6              | 61,6    | 61,4   | 61,2  | 1,03 | 0,14    |
| Kd, %/hora                    | 6,5b                             | 7,0a              | 6,7b    | 6,7b   | 6,4b  | 0,09 | 0.001   |
| DE, %                         | 61,5ab                           | 61,8 <sup>a</sup> | 60,2bc  | 59,3c  | 59,1c | 0,54 | 0.001   |
| Proteína Bruta (PB)           |                                  |                   |         |        |       |      |         |
| a, %                          | 31,4c                            | 33,8bc            | 35,3abc | 39,0ab | 41,0a | 0,57 | 0,004   |
| b, %                          | 63,0a                            | 59,9ab            | 57,6b   | 53,5c  | 54,0c | 0,30 | <0,001  |
| Kd, %/hora                    | 5,2                              | 5,4               | 5,4     | 5,4    | 4,6   | 0,00 | 0,28    |
| DE, %                         | 62,6b                            | 64,3ab            | 64,7a   | 66,3a  | 66,4a | 0,19 | 0,001   |
| Fibra Detergente Neutro (FDN) |                                  |                   |         |        |       |      |         |
| b, %                          | 88,7a                            | 85,1ab            | 84,9ab  | 80,0bc | 76,6c | 2,43 | 0,006   |
| Kd, %/hora                    | 4,2                              | 4,6               | 4,4     | 4,9    | 5,6   | 0,54 | 0,168   |
| Lag, h                        | 1,9ab                            | 1,7ab             | 2,1a    | 2,1a   | 1,5b  | 0,21 | 0,037   |
| DE, %                         | 36,7                             | 37,4              | 35,7    | 35,4   | 37,4  | 1,41 | 0,350   |

D0: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 0% de torta de higuierilla (TH). D8: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 8 % de TH. D16: 70 % de kikuyo y 30% de suplemento con 16 % de TH. D24: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 24 % de TH. D32: 70 % de kikuyo y 30 % de suplemento con 32 % de TH. a: Fracción soluble. b: Fracción potencialmente degradable. kd: Tasa de degradación de b. DE: Degradabilidad efectiva estimada a tasas de pasaje (kp) de 5.03 %h<sup>-1</sup>. EEM: error estándar de la media. a-cMedias con letras diferentes en la misma fila, difieren según Tukey ( $P<0,05$ )

La inclusión de torta de higuierilla en los suplementos a 24 y 32 % de inclusión, incrementó la fracción soluble (*a*) de la PB, 41 y 39 %, respectivamente, las cuales difieren significativamente ( $P<0,05$ ) con la dieta control (*D0*) con 31,4 % y esta, no difiere respecto a *D8* y *D16*. Con relación a la *DE*, no se encontró diferencias significativas entre las dietas que contenían suplementos con torta de higuierilla, valores que fluctuaron entre 64,3 hasta 66,4 %, siendo superiores y diferentes estadísticamente ( $P<0,01$ ) a

la encontrada en D0 (62,6 %). Mientras que los valores más altos de la fracción *b* fueron para D0 y D8, sin presentar diferencias entre estas dos dietas, con un valor promedio de 61 %, aunque estas difirieron ( $P<0,01$ ) con relación a las demás dietas, las que tenía suplemento con niveles entre 16 a 32 % de torta de higuierilla, encontrando valores entre 53,5 hasta 57,6 %.

La *Kd* y la *DE* de la FDN, no se vieron afectadas por los suplementos con torta de higuierilla. Sin embargo, la fracción *b* fue significativamente ( $P<0,01$ ) menor en D24 (80 %) y D32 (76,6 %) que las presentadas por D0, D8 y D16 (88,7, 85,1 y 84,9 %, respectivamente). El menor tiempo lag o fase pre-fermentativa, fue registrado para D32 con 1,5 horas, el cual difirió con D16 y D24 con un valor de 2,1 horas.

### Experimento 2

En la [tabla 4](#), se muestran los resultados de la prueba de producción de leche usando vacas Holstein. La producción de leche con el suplemento control fue de 33,4 litros, mientras con el concentrado conteniendo 10 % de torta de higuierilla fue de 31,1. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Con respecto a la calidad composicional de la leche, tampoco se detectó un efecto significativo cuando se suplementó con el concentrado experimental, que contenía 10 % de torta de higuierilla. Para sólidos totales y el contenido de proteína en ambos tratamientos, no hubo diferencias al igual que el porcentaje de grasa en la leche, el cual osciló entre 3,16 a 3,20 % y la concentración del nitrógeno ureico en leche (MUN por su sigla del nombre en inglés, Milk Urea Nitrogen) vario entre 18,59 y 18,71 para el concentrado comercial y el experimental respectivamente.

**Tabla 4.** Efecto de la suplementación de vacas en el primer tercio de lactancia con concentrado con torta de higuierilla sobre el consumo de materia seca forrajera, Producción y calidad composicional de la leche

| Parámetros                       | Inclusión torta |       | EEM  | Valor-P |
|----------------------------------|-----------------|-------|------|---------|
|                                  | higuerilla (%)  |       |      |         |
|                                  | 0               | 10    |      |         |
| Consumo de materia seca          |                 |       |      |         |
| CMS forraje (kg/día)             | 12,40           | 11,90 | 0,68 | 0,64    |
| CMS forraje (kg MS/100 kg PV)    | 1,90            | 1,85  | 0,11 | 0,75    |
| CMS concentrado (Kg/día)         | 7,00            | 7,00  | -    | -       |
| CMS total (kg/día) <sup>1</sup>  | 19,40           | 18,90 | 0,68 | 0,62    |
| CMS total (kg MS/100 kg PV)      | 3,00            | 2,90  | 0,10 | 0,68    |
| Relación forraje : concentrado   | 64:36           | 63:37 | 1,30 | 0,64    |
| Producción y calidad de la leche |                 |       |      |         |
| Producción (Litros/vaca/día)     | 33,40           | 31,10 | 1,53 | 0,08    |
| Sólidos Totales (%)              | 11,27           | 11,28 | 0,13 | 0,90    |
| Grasa Láctea (%)                 | 3,16            | 3,20  | 0,07 | 0,64    |
| Proteína Láctea (%)              | 2,75            | 2,75  | 0,06 | 0,86    |
| Relación Grasa: Proteína         | 1,15            | 1,17  | 0,02 | 0,42    |
| MUN en leche (mg/dL)             | 18,59           | 18,71 | 1,88 | 0,78    |

MUN: Nitrógeno ureico en leche. EEM: error estándar de la media.

El suministro de concentrado con 10 % de torta de higuierilla no afectó el consumo de MS del pasto kikuyo y el consumo de MS total con valores de 11,9 y 18,9 kg de MS/día, respectivamente. Con respecto a la relación forraje-concentrado tampoco

tuvo efecto el concentrado que tenía torta de higuierilla ( $P>0,05$ ), encontrándose una relación promedio de 64 % de forraje y 36 % de concentrado con ambos suplementos alimenticios.

## Discusión

### *Experimento 1*

La fracción soluble (fracción *a*) y potencialmente degradable (fracción *b*) de las dietas, en la MS, no se vieron afectados por la inclusión de concentrados conteniendo torta de higuierilla. Estos resultados concuerdan con los reportados en dietas compuestas de 30 % de concentrado y 70 % de pasto kikuyo entre 35 a 45 días de rebrote, oscilando entre 25,8 a 27,8 y 59 a 62,1 %, respectivamente <sup>65</sup>.

Por otro lado, la inclusión de niveles crecientes de torta de higuierilla en los suplementos, disminuyó la DE de la MS, siendo más drástico en la D24 y D32, esto debido al incremento en el contenido de lignina, pasando de 1,7 % en la dieta control (D0) a 3,2 y 4,2 % en D24 y D32, respectivamente, la cual esta correlacionada negativamente con la DMS <sup>56, 66</sup>. Este incremento se debe a que este subproducto presenta altos contenidos de lignina (26 %), valores que coinciden con los niveles reportados por varios investigadores <sup>4, 18</sup>.

Los niveles altos de lignina en este subproducto, son debidos a los altos contenidos de cutinas, fracción no fenólica que hace parte de esta fracción, compuesta por polímeros de esteres de ácidos grasos de cadena larga presente en la epidermis de la planta, confiriéndole protección superficial <sup>64</sup>, no liga los carbohidratos; sin embargo, puede actuar como una barrera física en la colonización del sustrato por parte de los microorganismos ruminales<sup>68</sup>. Para subproductos de higuierilla se han reportado que entre el 54 y el 60 % de la FDN corresponde a cutinas <sup>52</sup>.

Se encontró que la fracción soluble y la degradación efectiva de la PB, se incrementaron a medida que se aumenta el nivel de inclusión de torta de higuierilla en los concentrados. Puesto que al reemplazar la torta de soya, con contenidos proteicos del 44 %, por torta de higuierilla que presenta tenores del 27,9 %, hubo que incrementar la participación de otras fuentes proteicas, e incluso utilizar bajos niveles de urea, para que estas fueran iso-nitrogenadas, además alrededor del 40 % de la PB de los subproductos de higuierilla son solubles <sup>35, 48</sup>. Mientras que la fracción potencialmente degradable de la proteína, disminuía a causa de dos razones: La fracción *b* de la torta de soya es mayor con relación a la reportada por la torta de higuierilla (73,8 Vs 63,6 %) <sup>23, 50</sup> y al incremento en la inclusión de DDGS (granos solubles de destilería de maíz) (Tabla 1), los cuales son sometidos a procesos térmicos, facilitando la reacción Maillard, causando resistencia a la hidrólisis enzimática bacteriana <sup>62</sup>, disminuyendo la fracción *b* e incluso son usados frecuentemente como fuente de proteína no degradable en rumen <sup>54</sup>.

Respecto a los parámetros de degradación de la FDN, la fracción *b* solo disminuyó en las dietas conteniendo concentrados con niveles por encima del 16 % de torta de higuierilla (D24 y D32), sin embargo, no afectó la degradación efectiva, a pesar que la torta de higuierilla tiene altos contenidos de fibra<sup>3</sup> con respecto a otras fuentes proteicas como la torta de soya, gluten de maíz y DDGS ya que el contenido de FDN y FDA de las dietas evaluadas se encuentran dentro del rango reportado para dietas provenientes de diferentes municipios de Antioquia con la misma proporción de pasto kikuyo y concentrado <sup>46</sup>.

Se han reportado para dietas compuestas de 70 % de kikuyo y 30 % concentrado comercial, valores de degradación efectiva de 56,1 a 64 % para la MS, de 61,8 a 68,9 % para PB y de 34,3 a 39,4 % para FDN <sup>65</sup>, las cuales se encuentran dentro del rango a las obtenidas en las cinco dietas evaluadas en este trabajo. Teniendo en cuenta este aspecto, la torta de higuierilla tendría potencial para ser utilizada como materia prima para fabricar concentrados comerciales, siendo el nivel óptimo de uso entre 8 y 16 % de inclusión. Esta hipótesis, coincide con trabajos realizados con subproductos de higuierilla en animales rumiantes, con niveles de inclusión entre 8 y 18 %, no se ve afectada la degradación de la MS y PB en dietas compuestas de forraje y concentrado <sup>23,30,32,50,60</sup>. En contraste otros autores reportan un efecto lineal decreciente sobre la degradación de la MS y PB, con el uso de niveles incrementales de inclusión de subproductos provenientes de la higuierilla <sup>9,19,36</sup>.

### *Experimento 2*

La suplementación de vacas Holstein con un concentrado conteniendo 10 % de torta de higuierilla, no afectó la producción de leche, aunque fue menor con relación al control. Lo que podría deberse a varios aspectos, por un lado, el concentrado control contenía torta de soya, la cual se reporta mayor valor nutricional con respecto a la torta de higuierilla, cuya principal diferencia radica en los contenidos de proteína, carbohidratos no estructurales (CNE) y fibra. Para los contenidos de proteína de la torta de soya se han reportado valores entre el 44 y el 48,5 % <sup>27</sup>, mientras que para la torta de higuierilla evaluada fue de 27,9 %. Para la torta de soya, se reportan tenores de 20,3 % de CNE<sup>2</sup>, mientras que la torta de higuierilla presenta contenidos del 3,2 %.

Con relación a los contenidos de FDN y FDA de la torta de soya, presenta valores de 12,3 y 8,8 %, respectivamente <sup>21</sup>, y la torta de higuierilla presentó contenidos de 48.9 y 32.6 %, con tenores de lignina de 26 %, lo que puede estar limitando la concentración energética de este suplemento alimenticio <sup>12</sup>, debido a los altos contenidos de FDA y de lignina, que están asociados negativamente con la degradación de la MS y de la FDN <sup>56</sup>. La lignina tiene un impacto directo e importante, en el valor de la energía digestible<sup>47</sup> y además podría bloquear el acceso de los microorganismos a los carbohidratos de la pared celular <sup>58</sup>, limitando su utilización por la microbiota ruminal.

A pesar que ambos suplementos son aproximadamente isoenergéticos, otra posible causa de la menor producción de leche registrada en el concentrado al cual se le adicionó torta de higuierilla, es debida al contenido de CNE totales, el cual fue de 32,4 % con respecto al control de 42,2 % (Tabla 2), a causa del incremento de fuentes protéicas (gluten de maíz y palmiste) y en detrimento de fuentes energética como el maíz y salvado de trigo. Dentro de los CNE, se encuentran los azúcares y almidones, los cuales son atacados por bacterias amilolíticas que los desdoblan hasta obtener glucosa, la cual es fermentada para la obtención de energía, produciendo propionato; de este el 95 % es captado por el hígado para transformarlo en glucosa <sup>40</sup> y posteriormente el 70 % de la glucosa, en glándula mamaria se sintetiza en lactosa, la cual se ha asocia directamente con el volumen de leche producido por la vaca, debido al arrastre osmótico de agua <sup>58</sup>.

Respecto a la calidad composición de la leche, (sólidos totales, % de grasa, % de proteína y MUN) no se afectó cuando se suplementaron los animales con el concentrado conteniendo torta de higuierilla. El contenido de sólidos totales en leche de las muestras analizadas fue en promedio 11,27 %, valores similares al encontrado en el mismo sitio de evaluación usando como suplemento glicerina cruda, con 11,13 % <sup>65</sup>, aunque los niveles de grasa y proteína encontrados en este trabajo estuvieron por debajo (3,18 % y 2,75 %, respectivamente).

Estos valores se encuentran dentro del rango reportado para varios municipios de Antioquia en sistemas de lechería especializada, con contenidos de grasa de  $3,5 \pm 0,5$  y de proteína de  $3,01 \pm 0,27$  <sup>37</sup>. Estos bajos niveles de proteína y grasa en leche, son debidos en parte al nivel de producción de leche y al estado de la lactancia, puesto que tanto la grasa como la proteína se afectan negativamente por el volumen de leche producido y durante el pico de la lactancia <sup>57</sup>.

Por otro lado, a través del MUN, es posible monitorear el estado nutricional de las vacas lecheras, puesto que es un indicador del contenido proteico de la dieta, principalmente del nitrógeno disponible a nivel ruminal <sup>38</sup> y de la relación entre energía y proteína de la misma. A mayor consumo de energía neta de lactancia (ENL), menor es el MUN <sup>11</sup>, y de acuerdo a lo recomendado por la NRC (National Research Council), el contenido de MUN con una dieta balanceada debe oscilar entre 10 a 16 mg/dL <sup>42</sup>. Valores que están por debajo a los encontrados en este trabajo, de 18.65 mg/dL, aunque se encuentra dentro de los rangos reportados en 179 fincas del Norte de Antioquia, los cuales fluctuaron entre 17,9 a 19,4 mg/dL <sup>13</sup> y en 13 fincas de la misma zona y tres del oriente antioqueño, las cuales oscilaron de 13,6 a 20,94 mg/dL <sup>37</sup>.

El consumo de materia seca total (forraje + suplemento), como el de forraje en vacas bajo pastoreo, no fueron afectados por el suministro de concentrado con torta de higerilla, resultados semejantes a los encontrados en vacas Holstein en el primer tercio de lactancia en Antioquia con valores de 18 a 19 kg de MS total y de 11 a 13 kg MS de pasto kikuyo <sup>31, 45, 65</sup>.

De acuerdo a trabajos realizados con subproductos de higerilla sobre la producción de leche en bovinos, se ha encontrado que la harina de higerilla puede sustituir una tercera parte la torta de soya o incluirse en un 5 % en la dieta total o un consumo máximo de 860 gramos de MS en vacas con una producción entre 20 y 25 litros <sup>14,17</sup>, aunque se ha reportado que el nivel óptimo económico de sustitución es del 100 % en vacas en el primer tercio de lactancia <sup>55</sup>. Lo cual es consistente con lo encontrado con este trabajo, puesto que la torta de higerilla desintoxicada con  $\text{Ca(OH)}_2$ , puede sustituir completamente la torta de soya, siempre y cuando se incluya en un nivel del 10 % en un suplemento alimenticio comercial, equivalente al 3,2 % de inclusión de MS de la dieta total o un consumo máximo por vaca de 800 gramos.

## Conclusiones

La inclusión de torta de higerilla como materia prima en un concentrado comercial para vacas lecheras entre un 8 y 16 %, no afecta la degradación efectiva de la materia seca (MS), de la FDN, ni de la proteína (PB) en dietas compuestas por 70 % de pasto kikuyo y 30 % de un suplemento alimenticio de tipo concentrado.

La torta de higerilla tratada con  $\text{Ca(OH)}_2$ , puede remplazar completamente la torta de soya en un concentrado comercial, pero a un nivel de inclusión del 10 %, para la suplementación alimenticia en vacas Holstein en el primer tercio de lactancia, con una producción media de 32 litros bajo pastoreo de pasto kikuyo, sin afectar significativamente el consumo de materia seca, la producción y la calidad composicional de la leche.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al sistema General de Regalías por la cofinanciación del proyecto "Investigación técnico-social de las oleaginosas promisorias higerilla y sachá

inchi con miras a su desarrollo agroindustrial". Convenio 4600000480 y a la alianza Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural - Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) - Universidad Eafit - Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín. También se agradece a Embrapa Algodão y Embrapa Caprinos e Ovinos, por sus aportes y determinación de ricina en muestras de torta de higuera.

## Referencias

1. Alessi KC. Biodestoxificação do Farelo de Mamona (*Ricinus communis* L.) Dissertação mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Sinop. Brasil, 2015. 24 p.
2. Alves SV, Silva AMDA, Bezerra LR, Carneiro H, Medeiros FFD, *et al.* In vitro fermentation and gas production of oilseed press cake. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia 2015; 31 (1): 43-51. [https://www.researchgate.net/publication/283801279\\_In\\_vitro\\_fermentation\\_and\\_gas\\_production\\_of\\_oilseed\\_press\\_cake](https://www.researchgate.net/publication/283801279_In_vitro_fermentation_and_gas_production_of_oilseed_press_cake)
3. Anandan S, Kumar GKA, Ramachandra KS. Effect of Physical Processing Methods on Chemical Composition and In vitro Digestibility of Castor Cake (*Ricinus communis*). Anim Nutr Feed Technol 2005; 5 (1): 47-52. [https://www.researchgate.net/publication/305995655\\_Effect\\_of\\_physical\\_processing\\_methods\\_on\\_chemical\\_composition\\_and\\_in\\_vitro\\_digestibility\\_of\\_castor\\_cake\\_Ricinus\\_communis](https://www.researchgate.net/publication/305995655_Effect_of_physical_processing_methods_on_chemical_composition_and_in_vitro_digestibility_of_castor_cake_Ricinus_communis)
4. Anandan S, Kumar GKA, Ghosh J, Ramachandra KS. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. Anim Feed Sci Tech 2005; 120 (1-2): 159-168. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840104002305>
5. Ankom Technology, 2004. "Procedures for fiber and in vitro analysis". URL: <http://www.ankom.com/homepage.html>. (2 p)
6. AOAC. 1942. "Official Methods of Analysis, 16th ed., 5th rev. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD."
7. AOAC. 1990. "Official Methods of Analysis, 16th ed., 5th rev. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD."
8. Arnau J., Viader M. Diseños crossover (alternativos): aspectos metodológicos y analíticos. Currículum 1991; 1(2): 11-16. (acceso: 30 de mayo de 2007) URL: [http://www.quadernsdigitals.net/datos/hemeroteca/r\\_12/nr\\_193/a\\_2723/2723.pdf](http://www.quadernsdigitals.net/datos/hemeroteca/r_12/nr_193/a_2723/2723.pdf)
9. Barros LV, Paulino MF, Detmann E, Valadares Filho SDC, Lopes SA, *et al.* Replacement of soybean meal by treated castor meal in supplements for grazing heifer during the dry-rainy season period. Rev Bras Zootecn 2011; 40(4): 843-851. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982011000400019](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982011000400019)
10. Berchielli TT, Andrade PD, Furlan CL. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. Rev Bras Zootecn 2000; 29(3): 830-833. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v29n3/5830.pdf>
11. Broderick GA & Clayton MK. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. J Dairy Sci 1997; 80(11): 2964-2971. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9406089>



12. Calsamiglia S. Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. XIII Curso de Especialización FEDNA, Madrid. 1997. [http://www.ucv.ve/file-admin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Uso\\_de\\_Fibra\\_en\\_Rumiantes.pdf](http://www.ucv.ve/file-admin/user_upload/facultad_agronomia/Uso_de_Fibra_en_Rumiantes.pdf)
13. Cerón MMF, Gutiérrez ZDM, Bolívar VDM, Bedoya GI, Palacio LG. Toma de decisiones basada en gestión de procesos: impacto en sistemas intensivos de producción de leche. *Livestock Research for Rural Development*. 2015; 27(12); (acceso 3 de Noviembre 2016). URL: <http://www.lrrd.org/lrrd27/12/cero27245.html>
14. Cobianchi JV, Oliveira ASD, Campos JMDS, Guimarães AV, Valadares Filho SDC, et al. Productive performance and efficiency of utilization of the diet components in dairy cows fed castor meal treated with calcium oxide. *Rev Bras Zootecn* 2012; 41(10): 2238-2248. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982012001000015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982012001000015)
15. Cochran RC, Adams D, Wallace JD and Galyean ML. "Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential Markers". *J Anim Sci* 1986; 63: 1476-1483. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/63/5/JAN0630051476?access=0&view=pdf>
16. Correa HJ, Pabón ML, & Carulla JE. Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. *Livestock Research for Rural Development* 2009; 21(4): 1-20. <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/corr21059.htm>
17. Costa JVD. Desempenho produtivo de vacas lactantes alimentadas com farelo de mamona tratado com óxido de cálcio. Dissertação mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais-Brasil, 2010. 29 p. <http://locus.ufv.br/handle/123456789/5633>
18. Cruz FAF. Efecto de la Inclusión de Torta de Higuierilla como Suplemento de Pastos Tropicales para la Alimentación Animal. Tesis Pregrado. Facultad de Ciencias grarias. Universidad nacional de Colombia, Medellín, 2012. 46 p.
19. Da Silva CD. Valor nutritivo de dietas contendo farelo de mamona destoxificado para ovinos em terminação. Dissertação mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil. 2009. 35 p.
20. Da Silva SDD, Presotto RA, Marota HB & Zonta E. Uso de torta de mamona como fertilizante orgânico. *Pesq. Agropec. Trop* 2012; 42(1): 19-27. <http://www.scielo.br/pdf/pat/v42n1/03.pdf>
21. De Tonissi RH, De Goes B, De Souza KA, Patussi RA, Da Cunha Cornelio T, et al. Degradabilidade *in situ* dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus coprodutos em ovinos. *Anim Sci* 2010; 32(3): 271-277. <http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/viewFile/7913/7913>
22. Diniz LL, Valadares Filho SC, Campos JMS, Valadares RFD, Da Silva LD, et al. Effects of castor meal on the growth performance and carcass characteristics of beef cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2010; 23(10): 1308-1318. <https://www.ajas.info/upload/pdf/23-172.pdf>

23. Diniz LL, Valadares Filho SC, De Oliveira AS, Pina DS, Da Silva LD, et al. Castor bean meal for cattle finishing: 1-Nutritional parameters. *Livest Sci* 2011; 135: 153–167. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141310003884>
24. Embrapa. Mamona: O produtor pergunta, a Embrapa responde. 2006 (pp. 209–218). Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/119264/1/500perguntasmamona.pdf>
25. Espinoza JR. Consumo y parámetros de digestión en rastrojos de maíz cultivado solo y en asocio con leguminosas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C. R., UCR/CATIE. 1983. 71 p.
26. Euclides VPB, Macedo MCM, and Oliveira MP. (1992). "Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para se estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo." *Rev Bras Zootec* 1992; 21: 691-702.
27. Fedna [Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal]. 2010. Tablas Fedna de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3ª edición Madrid-España. 502 pp) <http://www.fundacionfedna.org/tablas-fedna-composicion-alimentos-valor-nutritivo>
28. Fenton TW & Fenton M. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Can J Anim Sci* 1979; 59(3): 631–634. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.4141/cjas79-081#.WclwC4yCzIU>
29. Fernandes KV, Deus DON, Godoy MG, Guimarães ZAS, Nascimento VV, De Melo EJT, *et al.* Simultaneous allergen inactivation and detoxification of castor bean cake by treatment with calcium compounds. *Braz J Med Biol Res*, 2012; 45(11): 1002–1010. doi:10.1590/S0100-879X2012007500132
30. Furtado RN, Pereira ES & Sombra WA. Valor nutritivo de dietas contendo torta de mamona submetida a métodos alternativos de destoxificação para ovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec* 2012; 64(1): 155–162. [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352012000100022&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352012000100022&script=sci_abstract&tlng=pt)
31. Garcia AW. Potencial de la suplementación con biomasa obtenida a partir de la producción de bioetanol en ganaderías de clima frío dedicadas a la producción de leche. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, 2013. 121-124 p. <http://www.bdigital.unal.edu.co/11696/>
32. Gionbelli TRS, Veloso CM, Gionbelli MP, Novais MAS, Silva AL, et al. Utilization of castor bean meal treated with calcium hydroxide, fed wet or dry, by lambs. *Livest Sci*, 2014; 168: 76–83. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314004041>
33. Giraldo LA, Carulla JE & Calle MA. Metabolismo digestivo de razas bovinas (bon, holteins, cebú) en pasturas tropicales de calidad contrastante. En: Consideraciones Sobre el Mejoramiento Genético y Factores Asociados en Bovinos Criollos Colombianos y Grupos Multirraciales 2013. p. 105–127. <http://www.programa-harton.org/products/consideraciones-sobre-el-mejoramiento-genetico-y-factores-asociados-en-bovinos-criollos-colombianos-y-grupos-multirraciales/>

34. Giraldo LA. "Estandarización de la técnica de la biodegradación ruminal *in situ*, para evaluar forrajes tropicales". Rev Col Cienc Pec. 1996; 9 Supl: 59-63.
35. Gomes TFH. Composição Químico-Bromatológica e Degradação *In situ* de Nutrientes de Coprodutos Da Mamona e do Pinhão-Manso da Cadeia Produtiva do Biodiesel. Monografia (graduação). Universidade Federal do Ceará. Brasil, 2007. 31p. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000082&pid=S1516-3598201200030003600006&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000082&pid=S1516-3598201200030003600006&lng=en)
36. Guimarães AV. Desempenho de novilhas leiteras alimentadas com farelo de mamona e valor energético do farelo e torta de mamona. Dissertação mestrado. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Brasil, 2010. 29-30p
37. Henao VAF, Múnera BOD, Herrera AC, Agudelo TJH & Cerón MMF. Lactose and milk urea nitrogen: fluctuations during lactation in Holstein cows. Rev Bras Zootecn 2014; 43(9): 479-484. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v43n9/1516-3598-rbz-43-09-00479.pdf>
38. Hof G, Vervoorn MD, Lenaers PJ & Tamminga S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. J Dairy Sci 1997; 80(12): 3333-3340. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9436116>
39. Holdridge LR. 1967. Life Zone Ecology. Tropical Science Center. San José, Costa Rica. Traducción del inglés por Humberto Jiménez Saa: Ecología Basada en Zonas de Vida, 1a. ed. San José, Costa Rica: IICA, 1982. [http://reddcr.go.cr/sites/default/files/centro-de-documentacion/holdridge\\_1966\\_-\\_life\\_zone\\_ecology.pdf](http://reddcr.go.cr/sites/default/files/centro-de-documentacion/holdridge_1966_-_life_zone_ecology.pdf)
40. Huntington GB. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. J. Anim. Sci. 1997; 75: 852-867. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9078506>
41. Icontec (Instituto Colombiano de Normalización y Certificación). 1999. NTC 4657, Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. Icontec. Bogotá D.C. 1999. p11.
42. Jonker JS, Kohn RA & Erdman RA. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. J Dairy Sci 1999; 82(6): 1261-1273. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10386312>
43. Junior AFP. Farelo de mamona detoxicada em dietas de vacas leiteiras em pastejo. Dissertação mestrado. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015. 15-17p. <http://www2.uesb.br/ppg/ppz/wp-content/uploads/2017/07/Dissertacao-ANTONIO-FERRAZ-ORIGINAL-PPZ-2015.pdf>
44. Lippke H. "Estimation of Forage Intake by Ruminants on Pasture". Crop Sci 2002; 42: 869-872. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/42/3/869>
45. Madrid CLV, Correa CHC & Galvis GRD. Efecto de la inclusión de fumarato de L-carnitina sobre el consumo de materias seca, en vacas Holstein durante el periodo de transición a la lactancia. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2015; 10(2), 193-202. <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3652>.

46. Marín G.A. Estimación del inventario de emisiones de metano entérico de ganado lechero en el departamento de Antioquia, Colombia. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 2013. 36-37p. <http://www.bdigital.unal.edu.co/11666/1/43979169.2014.pdf>
47. Moore KJ & Jung HJG. Lignin and fiber digestion. *J Range Manage* 2001; 420-430. <https://journals.uair.arizona.edu/index.php/jrm/article/viewFile/9640/9252>
48. Moreira JF, Rodríguez NM, Fernandes PC, Veloso CM, Saliba EO, Gonçalves LC, *et al.* Concentrados protéicos para bovinos: 1. Digestibilidade in situ da matéria seca e da proteína bruta. *Arq. bras. med. vet. zootec* 2003; 55(3): 315-323. [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352003000300011&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352003000300011&script=sci_abstract&lng=pt)
49. National Research Council (NRC). 2001. The nutrient requirement of dairy cattle. Seventh edition; National Academy Press, Washington D. C. 381 p. <https://www.nap.edu/catalog/9825/nutrient-requirements-of-dairy-cattle-seventh-revised-edition-2001>
50. Oliveira AS, Campos JMS, Oliveira MRC, Brito AF, Filho SCV, *et al.* Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castorseed meal treated with calcium hydroxide. *Anim Feed Sci Tech* 2010; 158(1-2): 15-28. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840110000714>
51. Oliveira AS, Oliveira MRC & Campos JMS. Eficácia de diferentes métodos de destoxificação da ricina do farelo de mamona. In II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, Brasília. Anais. CD-ROM Brasília: MCT/ABIPTI 2007. (pp. 1-6). [https://www.researchgate.net/publication/269689089\\_Eficacia\\_de\\_Diferentes\\_Metodos\\_de\\_Destoxicacao\\_da\\_Ricina\\_no\\_Farelo\\_de\\_Mamona](https://www.researchgate.net/publication/269689089_Eficacia_de_Diferentes_Metodos_de_Destoxicacao_da_Ricina_no_Farelo_de_Mamona)
52. Oliveira AS. Co-produtos da extração de óleo de sementes de mamona e girassol na alimentação de ruminantes. Tesis Doctorado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal Viçosa, Brasil. 2008. 24p. [http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV\\_6becf5dcd903fe700560a70e2bfaf2b5/Details](http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV_6becf5dcd903fe700560a70e2bfaf2b5/Details)
53. Ørskov ER And McDonald I. "The estimation of protein degradation in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage". *J Agricult. Sci*; 1979; 92: 499 -503. [https://www.researchgate.net/publication/231970936\\_The\\_estimation\\_of\\_protein\\_degradability\\_in\\_the\\_rumen\\_from\\_incubation\\_measurements\\_weighted\\_according\\_to\\_rate\\_of\\_passage](https://www.researchgate.net/publication/231970936_The_estimation_of_protein_degradability_in_the_rumen_from_incubation_measurements_weighted_according_to_rate_of_passage)
54. Pamp BP, Kalscheur KF, Hippen AR y Schingoethe DJ. Evaluation of dried distillers grains versus soybean protein as a source of rumen-undegraded protein for lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2006; 89(Suppl. 1): 403. (Abstr.) [https://www.researchgate.net/publication/313630689\\_Evaluation\\_of\\_dried\\_distillers\\_grains\\_versus\\_soybean\\_protein\\_as\\_a\\_source\\_of\\_rumen-undegraded\\_protein\\_for\\_lactating\\_dairy\\_cows](https://www.researchgate.net/publication/313630689_Evaluation_of_dried_distillers_grains_versus_soybean_protein_as_a_source_of_rumen-undegraded_protein_for_lactating_dairy_cows)
55. Perez R, Júnior AGDS, Da Silva LCA, Campos MBN. Aproveitamento Ótimo Da Torta De Mamona. Meta 4: Análise de viabilidade econômica do processo de pequeno porte para extração de óleo de mamona com solvente e da produção de farelo de mamona detoxicado. Universidade Federal de Visoça. Brasil, 2009. 42p.

56. Ramírez RG, Neira MRR, Ledezma TRA & Garibaldi GCA. Ruminant digestion characteristics and effective degradability of cell wall of browse species from northeastern Mexico. *Small Ruminant Res* 2000; 36(1), 49-55. <http://www.science-direct.com/science/article/pii/S0921448899001133>
57. Ramos R, Pabón ML & Carulla JE. Factores nutricionales y no nutricionales que determinan la composición de la leche. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 1998; 46(2): 2-7. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/43331>
58. Relling AE & Mattioli GA. Rumiantes. *Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes*. 2003. (EDULP., pp. 1-72).
59. Rodríguez ADE & Duque NJS. Plan de negocios para el cultivo de higuerilla, estudio de caso municipio de Balboa (Risaralda). Tesis pregrado. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia. 2010. 15-16 p. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/1296/65811R696.pdf?sequence=1>
60. Santos TR. Farelo de mamona tratado com óxido de cálcio, fornecido seco ou úmido para cordeiros. Dissertação mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 2011. 26-27 p. <http://locus.ufv.br/handle/123456789/5738>
61. SAS Institute Inc. (2001-2003). Versión 9. SAS/STAT User's Guide. Cary, NC, USA.
62. Stern MD, Calsamiglia S & Endres MI. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. Nuevos sistemas de valoración de alimentos y programas alimenticios para especies domésticas. Ed. FEDNA, Madrid. 1994. [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/manejo\\_del\\_alimento/36-hidratos\\_de\\_carbono\\_y\\_proteinas.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/36-hidratos_de_carbono_y_proteinas.pdf)
63. Sunvold GD and Cochran RC. Technical note: "Evaluation of acid detergent lignin, alkaline peroxide lignin, acid insoluble ash, and indigestible acid detergent fiber as internal markers for prediction of alfalfa, bromegrass, and a prairie hay digestibility by beef steers". *J. Anim. Sci.*, 1991; 69 (12): 4951 - 4955. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1667011>
64. Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger (2006). "Secondary Metabolites and Plant Defense". En: *Plant Physiology*, Fourth Edition. Sinauer Associates, Capítulo 13.
65. Valencia E.D.M. Efecto de la suplementación de dietas para vacas lecheras con glicerina cruda, sobre algunos parámetros de la fermentación ruminal, producción y calidad composicional de la leche. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. 2013. 58-60, 85-89 p. <http://www.bdigital.unal.edu.co/46450/1/43256640.2015.pdf>
66. Valenciaga, D., Herrera, R. S., Eloisa de Oliveira, S., Chongo, B., & Torres, V. (2009). Composición monomérica de la lignina de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115 y su variación con la edad de rebrote. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 43(3), 315-319. <http://biblat.unam.mx/es/revista/revista-cubana-de-ciencia-agricola/articulo/composicion-monomerica-de-la-lignina-de-pennisetum-purpureum-vc-cuba-ct-115-y-su-variacion-con-la-edad-de-rebrote>

67. Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA. "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition." J. Dairy Sci 1991; 74: 3583-97. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1660498>
68. Van Soest PJ. Nutritional Ecology of The ruminants, 2nd ed. Cornell University, Ithaca, 1994. p. 476. <http://trove.nla.gov.au/work/11699825?selectedversion=NBD10813167>
69. Waller J, Merchen N, Hanson T & Klopfenstein T. (1980). Effect of sampling intervals and digesta markers on abomasal flow determinations. J. Anim. Sci., 1980: 50(6), 1122-1126. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7400055>
70. Whitehouse NL, Olson VM, Schwab CG, Chesbro WR, Cunningham KD y Lykos T. Improved Techniques for Dissociating Particle-Associated Mixed Ruminal Microorganisms from Ruminal Digesta Solids. J. Anim. Sci. 1994; 72: 1335-1343. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8056682>