

Fermentación y cinética ruminal en búfalos alimentados con heno de bermuda cruzada (*Cynodon dactylon* (L.) Pears) y concentrado con soya integral o extrusada

Denia Delgado¹, R. Franzolin² y PH. Mazza³

¹Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Facultad de Zootecnia e Ingeniería de los Alimentos, Universidad de Sao Paulo, Brasil

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Sao Paulo, Campus Pirassununga, Brasil
Correo electrónico: ddelgado@ica.co.cu

Se utilizaron cuatro búfalos (*Bubalus bubalis*) de la raza Mediterráneo, con edades promedio de 13 meses y peso vivo medio inicial de 300 ± 12 kg, para determinar las características fermentativas y la cinética ruminal en búfalos alimentados con heno de bermuda cruzada (*Cynodon dactylon* (L.) Pears) (70 %) y concentrado (30 %), formulado con maíz molido y harina de soya cruda integral (SC) o extrusada (SE). El pH fue inferior ($P < 0.01$) cuando se utilizó soya extrusada (6.55) en relación con la cruda (6.79). No hubo diferencias entre tratamientos, para la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen. Los valores medios fueron de 16.5 y 18.0 mg.dL⁻¹ para los tratamientos con SC y SE, respectivamente. Las tasas de recambio líquido en el rumen se afectaron ($P < 0.05$) por el tipo de dieta, con medias de 6.17 % h⁻¹ para SC y 7.85 % h⁻¹ para SE. El volumen ruminal representó 13.3 -14.6 % del peso vivo de los búfalos, pero no difirió entre tratamientos. El horario de muestreo no influyó en el pH ni en las concentraciones totales de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), ácido acético y butírico, pero el ácido propiónico fue en ascenso ($P < 0.05$) después de la alimentación de la mañana. Los resultados obtenidos indican que, en las condiciones experimentales establecidas, el uso de soya extrusada en el concentrado, con respecto a la soya cruda no afectó de forma significativa la fermentación, ni el volumen ruminal. Sin embargo, incrementó la tasa de recambio líquido. Los valores de pH se mantuvieron altos y estables y la concentración de amonio fue adecuada para los microorganismos del rumen.

Palabras clave: *Bubalus bubalis*, recambio ruminal, pH, volumen, suplementación.

Los procesos fermentativos que ocurren en el rumen son responsables de la síntesis de proteína microbiana, vitaminas y ácidos grasos de cadena corta. La calidad y cantidad de estos productos dependen de la naturaleza del alimento ofrecido, la forma en que se ofertan, así como de los factores fisiológicos relacionados con el ambiente ruminal, como la temperatura, la anaerobiosis y el pH (Barbosa *et al.* 2003 y Kamande 2006). El conocimiento de estos procesos resulta indispensable para optimizar el uso de los alimentos fibrosos, así como para establecer estrategias de alimentación que contribuyan a perfeccionar la utilización de estos alimentos.

El búfalo se torna cada vez más importante como especie de interés productivo en los países tropicales, dada su capacidad para aprovechar eficientemente los forrajes de baja calidad. Sin embargo, existen pocos estudios acerca de los procesos fermentativos, los mecanismos implicados en la acción de la población ruminal y el efecto de la suplementación proteica y energética.

La mezcla de maíz y soya en una dieta tiene efectos beneficiosos por la complementación mutua de los aminoácidos y el incremento del valor proteico de la ración. La soya integral tiene elevada degradabilidad ruminal, por lo que el proceso de extrusión del grano, además de inactivar los factores antinutricionales presentes en el alimento, reduce la digestibilidad de la proteína y mejora el aporte de proteína no degradable al intestino.

El objetivo de este trabajo fue determinar las características fermentativas y la cinética ruminal en bubalinos alimentados con heno de bermuda cruzada

(*Cynodon dactylon* (L.) Pears) y concentrados, formulados con maíz molido y harina de soya cruda integral o extrusada, para lograr diferentes niveles de proteína no degradable en el rumen.

Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Zootecnia de la Facultad de Zootecnia e Ingeniería de Alimentos (FZEA), Campus de Pirassununga, Universidad de Sao Paulo, Brasil. Se utilizaron cuatro bubalinos (*Bubalus bubalis*) de la raza Mediterráneo, con edades promedio de 13 meses y peso vivo medio inicial de 300 kg. Los animales se alojaron en naves de sombra, en cubículos con acceso a los alimentos y al agua. Los alimentos se ofrecieron dos veces por día, a las 8:00 am y 4:00 pm. El heno se molió hasta alcanzar un tamaño de partícula de 10 cm, aproximadamente. Se utilizó un diseño de cambio, de manera que los dos animales que recibieron el tratamiento 1 durante el primer período, rotaron en el segundo para el tratamiento 2 y viceversa.

Los tratamientos consistieron en dos raciones de forraje: concentrados formulados con heno de bermuda cruzada (*Cynodon dactylon* (L.) Pears) (70:30) y concentrados compuestos por 28.7 % de maíz molido y 71.3 % de harina de soya cruda integral (SC) o soya extrusada (SE). La composición química de los alimentos se presenta en la tabla 1.

Los períodos experimentales fueron de 21 d, 19 de adaptación a los alimentos, y dos días para los muestreos de los indicadores de la fermentación y la cinética ruminal.

Tabla 1. Composición de la dieta (% BS) y aportes de nutrientes

Tratamientos	Ingredientes, % MS	
	¹ Heno, SC	² Heno, SE
Bermuda cruzada, heno,	70.0	70.0
Harina de maíz	8.6	8.6
Harina de soya cruda	21.4	-
Harina de soya extrusada	-	21.4
Composición química, % BS		
PB	14.0	14.2
PNDR/PB*	28.0	44.0
PDR**	72.0	56.0
FND	60.9	61.3

¹H SC = heno concentrado con soya cruda

²H SE = heno concentrado con soya extrusada

³PNDR/PB = Proteína no degradable en rumen/proteína bruta, % base seca

⁴PDR = proteína degradable en rumen

Fermentación ruminal. Las muestras de la digesta ruminal se tomaron a las 0, 2, 4, 6 y 8 h postalimentación, con una manguera flexible de 1.5 m de largo y 1.27 cm de diámetro interno, conectada a una bomba de vacío. Se tomaron, aproximadamente, 200 mL de contenido ruminal proveniente de cada animal. Las muestras se homogeneizaron y se efectuó la lectura del pH en un potenciómetro digital portátil.

Para la determinación de los AGCC, se tomaron 50 mL de líquido ruminal y se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 15 min. A 1 mL del sobrenadante se le adicionó 0.2 mL de ácido fórmico y se almacenó a -20 °C. Para el nitrógeno amoniacal (N-NH₃), se tomaron 2 mL del

líquido ruminal y se colocaron en tubos de ensayo, con 1 mL de ácido sulfúrico 1 N. Las muestras se almacenaron en refrigeración hasta su análisis posterior.

Determinación de la cinética ruminal. El polietileno glicol 4000 (PEG) se utilizó como marcador de la tasa de pasaje de la fase líquida de la digesta. A la hora cero (antes de la alimentación) se tomó una muestra, y seguidamente se introdujeron en el rumen 100 g del marcador, disuelto en 200 mL de agua a través de la cánula, con ayuda de una manguera y un embudo. El marcador se distribuyó de forma homogénea dentro del órgano. Una hora después, se colectaron 100 mL de líquido ruminal. Posteriormente, se dio el alimento a los animales y a las 24 h postalimentación se recolectó una nueva muestra, según la metodología descrita por Dehority (1987).

Análisis químico. La materia seca (MS), cenizas y nitrógeno total (Nt) de las raciones experimentales se determinaron según la AOAC (1997). La FND, FAD y lignina, por el método de Goering y van Soest (1970). La determinación de los AGCC se realizó por cromatografía gaseosa. El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) por el método colorimétrico, con reacción de hipoclorito y fenol, según Weatherburn (1967). El PEG se determinó por el método turbidimétrico de Hyden (1955).

Análisis estadístico. Se realizó análisis de varianza, según modelo lineal, con cuatro factores (animal, tratamiento, período y horas), en arreglo factorial horas x tratamiento, con cuatro repeticiones. Se utilizó la dócima de Duncan (1955) en los casos necesarios. Los datos se procesaron con el paquete de análisis estadístico para microcomputadoras SPSS/ WINDOWS 95 (Visauta 1998).

Resultados y Discusión

No se encontró interacción entre el tiempo de muestreo y los tratamientos estudiados para el pH, N-NH₃, ácidos

Tabla 2. Efecto del tratamiento en los indicadores de la fermentación ruminal y el consumo de MS en los búfalos alimentados con heno de bermuda cruzada y concentrado con soya cruda o extrusada

Medidas	Tratamientos		EE (±)
	Heno + SC	Heno + SE	
pH	6.79	6.55	0.05**
amonio, mg/dL	16.55	18.08	1.17
AGCC totales, mM. L ⁻¹	78.01	81.93	1.90
Acético, mM. L ⁻¹	55.79	59.42	1.41
Propiónico mM. L ⁻¹	13.61	14.51	0.36
Butírico, mM. L ⁻¹	8.61	7.99	0.30
Relación acet. prop.	4.14	4.16	0.06
Acético, % molar	71.62	72.41	0.32
Propiónico, % molar	17.43	17.82	0.21
Butírico, % molar	10.95	9.76	0.29**
Volumen ruminal, L	51.3	48.1	0.56
Recambio líquido ruminal, % h ¹	6.17	7.85	0.06*
Consumo total MS, kg	4.27	3.97	0.11
Consumo total MS, % PV	1.28	1.21	0.04

** P < 0.01 * P < 0.05

Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 45, Número 1, 2011.

acético, propiónico y butírico, ni para la concentración total de AGCC. En la tabla 2 se presenta el efecto del tratamiento en los valores medios de los indicadores estudiados.

Los valores de pH, independientemente del tratamiento, fueron superiores a 6.5 (tabla 2). Estos valores están en el rango considerado como apropiado para el buen funcionamiento de las actividades celulolíticas y proteolíticas de los microorganismos en el rumen (van Soest 1994). Según Brito *et al.* (2007), el pH ruminal puede oscilar de 5.5 a 7.5, de acuerdo con la dieta, y se considera 6.46 como valor óptimo para la síntesis microbiana (Fox *et al.* 1992). En general, los valores de pH tuvieron un comportamiento similar a los obtenidos por otros autores en búfalos suplementados con concentrados (Franzolin *et al.* 2000 y Kanra *et al.* 2003).

El pH fue más elevado ($P < 0.01$) en el tratamiento con soya cruda, en relación con el de soya extrusada (6.79 y 6.55, respectivamente). El mantenimiento del pH dentro de los límites fisiológicos se relaciona con la capacidad de producción de agentes tamponantes y con la remoción constante de ácidos grasos volátiles por absorción desde el rumen (van Soest 1994). Según Paliwal y Sagar (1990), existe una relación inversa entre el pH y la concentración de AGCC ruminal, en búfalos y en otras especies de rumiantes. En este experimento, la producción de AGCC en el rumen fue mayor numéricamente (aunque sin significación estadística) para el tratamiento SE. Esto se pudiera relacionar con el resultado alcanzado. Sin embargo, el nivel de consumo, el tiempo postalimentación y la naturaleza de la dieta tienen un efecto directo en el pH ruminal. La interacción de todos estos factores pudieron influir en las diferencias observadas entre tratamientos.

Cuando se analizó el efecto de la dieta en los indicadores fermentativos (tabla 2), no se encontraron diferencias entre tratamientos para la concentración de $N-NH_3$ en el rumen. Los valores medios fueron de 16.5 y 18.0 $mg.dL^{-1}$, para los tratamientos con soya cruda o extrusada, respectivamente. Investigaciones realizadas por diferentes autores mostraron que la inclusión de concentrados en las dietas de bovinos no tuvo efecto en las concentraciones de $N-NH_3$ ruminal (Cardoso *et al.* 2000 y Maeda *et al.* 2007).

Se ha demostrado que el proceso de extrusión de granos proteicos reduce la degradabilidad y la solubilidad de la proteína en el rumen (Rebollar y Blas 2005). En estos casos, la concentración de amonio proveniente de la proteína de la dieta se reduce. En este experimento, los valores de $N-NH_3$ no estuvieron afectados por el tratamiento de la soya. El ambiente ruminal es un sistema complejo que depende no solo de la dieta, sino de factores como el consumo, la tasa de pasaje y la población microbiana, entre otros. Las interacciones entre todos los factores determinan finalmente las concentraciones de los indicadores

fermentativos del rumen. Este hecho pudiera explicar los resultados obtenidos.

Las tasas de recambio líquido ruminal variaron entre tratamientos ($P < 0.05$), con valores superiores cuando la soya extrusada se incluyó en la dieta ($7.85 \% h^{-1}$) en relación con la soya cruda ($6.17 \% h^{-1}$). Estos valores son similares a los obtenidos por Burguer *et al.* (2000) y Mendes *et al.* (2006) en vacunos alimentados con heno de bermuda cruzada y 30 % de concentrado, y superiores a los de Nogueira Filho *et al.* (2004) en bubalinos y cebuínos, alimentados con dietas de voluminosos y concentrados.

El volumen ruminal (tabla 2) fue similar en ambos tratamientos y representó 13.3-14.6 % del peso vivo de los búfalos. Estos valores son relativamente bajos, si se consideran los criterios de Owens y Goesch (1988), quienes señalaron que el volumen ideal para un rumiante adulto debiera estar entre 15 y 21 % del peso vivo de los animales.

La causa probable de la obtención de volúmenes ruminales inferiores al 15 % del peso vivo de los búfalos pudiera estar justificada por la calidad del forraje utilizado, el cual tenía alto contenido de fibra y baja PB, lo que limita su digestión y provoca mayor tiempo de retención en el rumen. Ello se correspondió con los bajos consumos de MS (aproximadamente 1.2 % PV) que realizaron los animales (tabla 2).

La producción total de AGCC y la concentración de los ácidos grasos individuales no se afectaron por el tratamiento dietario, excepto para el butírico (% molar), que resultó inferior ($P < 0.01$) para el tratamiento SE. Este hecho es aceptable, si se considera que el butírico disminuyó a expensas de pequeños aumentos en las proporciones molares del acético y el propiónico.

La tabla 3 presenta el efecto del horario de muestreo en los indicadores fermentativos en los bubalinos.

Los valores de pH y la concentración de AGCC y de los ácidos acético y butírico ($mm.L^{-1}$) no se afectaron por los horarios de muestreo. Sin embargo, el ácido propiónico fue en ascenso ($P < 0.05$) después de la alimentación de la mañana. La relación acético: propiónico fue alta (4.64) antes de la alimentación, pero disminuyó ($P < 0.001$) hasta 3.83, posteriormente (tabla 3).

Las concentraciones de los AGCC individuales, expresadas en porcentaje molar, mostraron que la mayor proporción de acético y la menor de propiónico ($P < 0.001$) se encontraron antes de la alimentación. Después, los indicadores siguieron un comportamiento inverso. En la medida que el acético disminuyó con el horario de muestreo, el propiónico se elevó, lo que explica la reducción de la relación acético: propiónico con el tiempo.

El patrón de fermentación ruminal obtenido en este trabajo fue 72:17:10, similar al informado por

Tabla 3. Efecto del horario de muestreo en los indicadores de la fermentación ruminal en búfalos alimentados con heno de bermuda cruzada y concentrado con soya integral o extrusada

Indicadores	Horario de muestreo, h				EE (\pm)
	0	2	4	8	
pH	6.77	6.69	6.63	6.59	0.08
N-NH ₃ , mg.dL ⁻¹	13.75 ^b	20.49 ^a	15.74 ^{ab}	19.29 ^a	1.65*
AGCC totales, mM. L ⁻¹	75.94	79.45	80.17	84.31	2.68
Acético, mM. L ⁻¹	56.41	56.99	57.07	59.96	2.00
Propiónico, mM. L ⁻¹	12.17 ^b	14.14 ^a	14.20 ^a	15.72 ^a	0.51*
Butírico, mM. L ⁻¹	7.36	8.32	8.9	8.63	0.43
Relac. acet:prop	4.64 ^a	4.04 ^b	4.08 ^b	3.83 ^b	0.08***
Acético, % molar	74.17 ^a	71.66 ^b	71.19 ^b	71.04 ^b	0.45***
Propiónico, % molar	16.14 ^c	17.92 ^{ab}	17.72 ^b	18.72 ^a	0.29***
Butírico, % molar	9.69	10.41	11.09	10.25	0.41

^{a,b,c} Medias con letras distintas en una misma fila difieren $P < 0.01$ (Duncan 1955)

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$

Rodríguez *et al.* (2003) en búfalos alimentados con forraje de *Pennisetum purpureum* y diferentes niveles de suplementación energética. Según Nussio *et al.* (2006), las dietas basadas en forrajes voluminosos presentan proporciones generalmente próximas a 65:25:10 de acetato: propionato: butirato. En este experimento, la mayor proporción de acético y la menor de butírico pudieron estar dadas por la mala calidad del heno utilizado.

Hubo efecto del horario de muestreo en el contenido de N-NH₃ (tabla 3). La concentración de este indicador en el rumen fue más elevada ($P < 0.05$) a las dos y ocho horas postalimentación, con medias de 20 y 19 mg/dL, respectivamente. Otros autores también coinciden en que a las dos horas postalimentación ocurre el pico de producción de amoníaco en el rumen (Vasconcelos *et al.* 2010). El valor más bajo se obtuvo antes de la oferta de los alimentos (13.75 mg.dL⁻¹). Según Preston y Leng (1989), la concentración ideal de amoníaco en el rumen varía para los microorganismos, de 5 a

25 mg.dL⁻¹. Por tanto, los valores encontrados se pueden considerar adecuados para cubrir los requerimientos de la microflora ruminal.

La figura 1 muestra la evolución de las curvas del pH ruminal con el tiempo de muestreo, para los dos tratamientos. No se encontraron diferencias, excepto para el pH a las cuatro horas postalimentación, el cual difirió ($P < 0.05$) y fue mayor para el tratamiento con SC, en comparación con el SE (6.87 vs 6.64, respectivamente). El rango de variación observado para el pH, independientemente del tratamiento, fue pequeño. Esto indica que el ambiente ruminal se mantiene bastante estable durante el día. En el caso de los búfalos, se ha comprobado que tienen buena capacidad buferante en el rumen, lo que les permite mantener niveles altos de pH en el órgano y una flora microbiana capaz de adaptarse a diferentes condiciones de energía y proteína en la dieta (Franzolin y Alves 2010).

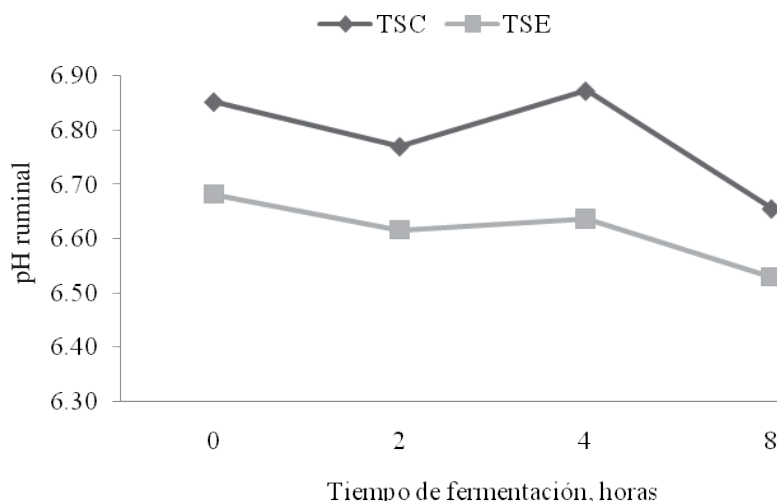


Figura 1. Variación del pH ruminal con el tiempo de fermentación en búfalos alimentados con heno de bermuda cruzada y concentrado con soya integral (TSC) o extrusada (TSE)

Los resultados obtenidos indican que en las condiciones experimentales establecidas, el uso de soya extrusada en el concentrado, con respecto a la soya cruda, no afectó los indicadores fermentativos ni el volumen ruminal, pero incrementó la tasa de recambio líquido. Independientemente del tipo de dieta, el pH se mantuvo alto y estable y la concentración de amonio fue adecuada para los microorganismos del rumen.

Agradecimientos

Este experimento se realizó durante una estancia de estudios Posdoctorales en la Universidad de Sao Paulo (USP), en el ámbito del acuerdo CAPES/MES/CUBA en el año 2007. Los autores agradecen a CAPES/MCT/Brasil por el financiamiento, así como a FZEA y CENA, USP/Brasil, por las facilidades y el apoyo brindado para el desarrollo de las investigaciones.

Referencias

- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis. 16 th Ed. Ass. Off. Anal. Chem. Vol. 1. Washington, D.C., USA
- Barbosa, J.D., Ávila, S.C., Dias, R.V.C., Pfeifer, I.B. & Oliveira, C.M. 2003. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e bubalinos. *Pesq. Vet. Bras.* 23:33
- Brito, R.M., Sampaio, A.R., Enrique, W., Cattelan, J.W. & Routman, K. 2007. Degradabilidade *in situ* e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas balanceadas para diferentes ganhos de peso e potenciais de fermentação microbiana. *R. Bras. Zootec.* 36:1639
- Bürguer, P.J., Pereira, J.C., Coelho Da Silva, J.F., Campos, S., Valadares Filho, S.C., Cecon, P.R., Pereira J.C. & Pereira, B.S. 2000. Passagem e Cinética da Degradação Ruminal em Bezerros Holandeses Alimentados com Dietas Contendo Diferentes Níveis de Concentrado. *Rev. Bras. Zootec.* 29:225
- Cardoso, R.C., Valadares Filho, S.C. & Coelho da Silva, J.F. 2000. Síntese microbiana, pH e concentração de amônia ruminal e balanço de compostos nitrogenados, em novilhos F1 Limosin x Nelore. *Rev. Bras. Zootec.* 29:1844
- Dehority, B.A. 1987. Use of PEG as rumen marker. *Animal Sci.* 830.07. OARDC/OSU. Wooster. 4 p.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1
- Fox, D.G., Sniffen, C.J. & O'Connor, J.D. 1992. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets. III Cattle requirements and diet adequacy. *J. Animal Sci.* 70:3578
- Franzolin, R. & Alves, T.C. 2010. The Ruminant Physiology in Buffalo Compared with Cattle. 9th World Buffalo Congress. Buenos Aires, Argentina
- Franzolin, R., Franzolin, M.H.T. & Gomide, C.A. 2000. Efeitos de dietas com polpa cítrica em substituição ao milho em grãos no concentrado sobre a degradabilidade e a fauna ruminal em bubalinos. *Rev. Bras. Zootec.* 29: 2109
- Goering, H. K & van Soest, P.J. 1970. Forage fiber Analysis. *Agricultural Handbook*, US. Department of Agriculture. No 379. Washington, USA
- Hyden, S.A. 1955. A turbidimetric method for determination of higher polyethylene glycol in biological materials. *Kungl. Lantbrukshogskolans Annaler.* 22:139
- Jones, A.L., Goestch, A.L. & Stokes, S.R. 1988. Intake and digestion in cattle fed warm-or cool-season grass hay with or without supplemental grain. *J. Anim. Sci.* 66:194
- Kamande, G. M. 2006. Digestión ruminal y nutrición. Congreso de Forrajes. Producir XXI, Bs. As. 15:52. Diamond V. Mills, Cedar Rapids. Iowa. USA.
- Kamra, D.N., Saha, S. & Bhatt, N. 2003. Effect of diet on enzyme profile, biochemical changes and *in sacco* degradability of feeds in the rumen of buffalo. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 16:374
- Maeda, E.M., Zeoula, L.M., Geron, L.J.V., De Best, J., do Prado, I.N., Martins, E.N. & Kazama, R. 2007. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. *R. Bras. Zootec.* 36:716
- Nogueira Filho, J.C.M., De Oliveira, M.E.M., Cunha, J. A. & Toledo, E. L. R. 2004. Volume líquido e taxa de turnover no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados e sua relação com protozoários ciliados. *Ciência Animal Brasileira* 5:1
- Nussio, L.G., Campos, F.P. & Lima, M.L.M. 2006. Metabolismo de carboidratos estruturais. Ed. T.T. Berchielli, A.V. Pires, S.G. Oliveira. En: *Nutrição de ruminantes*. Primera Edición. Jaboticabal. p.183
- Owens, F.N. & Goetsch, A.L. 1988. Ruminal fermentation. En: Church, D.C. (Ed.). *The ruminant animal digestive physiology and metabolism*. New Jersey: Prentice Hall. p.145
- Paliwal, V.K. & Sagar, V. 1990. Effect of dietary fibre protein on rumen microbial fermentation in cattle and buffalo. *J. Anim. Sci. New Delhi.* 60:66
- Preston, R. T. & Leng, R. R. 1989. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados al nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Primera Edición. CIPAV. Cali, Colombia. 290 pp.
- Rebollar, P.G. & De Blas, C. 2005. Digestión de la soja integral en rumiantes. Disponible: http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf. [Consultado: 14/11/2008]
- Rodríguez, R., Chongo, B., González, N., Aldama A.I. & Galindo, J. 2003. Efecto de tres suplementos energéticos en la fermentación ruminal del Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureum*) en búfalos de río. Nota técnica. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 37:283
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Second Edition. Comstock Publishing associates, Cornell Univ. Press, Ithaca and London. 476 pp.
- Vasconcelos, A.M., Leão, M. I., Valadares Filho, S.C., Valadares, R.F.D., Dias, M. & Morais, D.A. 2010. Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos. *R. Bras. Zootec.* 39:425
- Visauta, B. 1998. Análisis estadístico con SPSS para Windows®. Estadística multivariada. Vol. II. McGraw-Hill/ Interamericana de España, S. A.V. 358 pp.
- Weatherburn, M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry.* 39:971