

## Digestibilidad de los Componentes de la Pared Celular del Forraje de *Canavalia ensiformis* (L) DC. en Diferentes Edades de Corte

K. Estupiñán<sup>1</sup>, D. Vasco<sup>1</sup>, N. Duchi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Investigación Científica y Tecnológica, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Km 1 ½ vía Quevedo – Sto. Domingo. Casilla 73, Quevedo – Ecuador.

<sup>2</sup> Docente-Investigador, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Riobamba, Ecuador.

<sup>1</sup> klestu2004audy@yahoo.com, dianav350@yahoo.com, <sup>2</sup> nelduchi@yahoo.com

### Resumen

Utilizando ovinos tropicales se evaluó la digestibilidad de los componentes de la pared celular: fibra detergente neutra (DFDN), fibra detergente ácida (DFDA), lignina detergente ácida (DLDA), celulosa (DCEL) y hemicelulosa (DHEM); nutrientes digestibles totales (NDT) y el aporte de energía digestible (ED); energía metabolizable (EM) y energía neta de lactancia ( $EN_L$ ) del forraje de *C. ensiformis* (L) DC. en diferente estado fenológico (60, 75, 90 y 105 días). El mayor valor de DFDN fue 55.9% a los 105 días. En lo relacionado a la DFDA, se reportaron valores de 47.2 y 49.5% a los 90 y 105 días. La DLDA fue mayor a los 60 días de corte con 31.7%. El porcentaje de DCEL se incrementó a los 90 y 105 días, con 58.6 y 59.8% y la DHEM fue mayor a los 75 días con 75.2% ( $p < 0.01$ ). Los contenidos de NDT, ED, EM y  $EN_L$ , por kg de forraje en MS, a los 105 días se incrementaron significativamente ( $p < 0.05$ ).

**Palabras claves:** Fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, lignina detergente ácida, nutrientes digestibles totales

### Abstract

Using tropical Goat, the wall cellular components digestibility of: neutral detergent fiber (NDFD), acid detergent fiber (ADFD), acid detergent lignin (ADLD), cellulose (CELD), hemi cellulose (HEMD); total digestible nutrients (TDN), and digestible energy (DE), metabolizable energy (ME) and net energy for lactation ( $NE_L$ ) contribution of *C. ensiformis* (L) DC. forage in different phenological state (60<sup>th</sup>, 75<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup> and 105<sup>th</sup> day) was evaluated. The biggest value in NDFD was 55.9% on the 105<sup>th</sup> day. Values of 47.2 and 49.5% were reported on the 90<sup>th</sup> and 105<sup>th</sup> day for ADFD. The ADLD was bigger on the 60<sup>th</sup> day of harvest with 31.7%. The percentage of CELD at the 90<sup>th</sup> and 105<sup>th</sup> day was increases, with 58.6 and 59.8% and the HEMD was bigger on the 75<sup>th</sup> day with 75.2% ( $p < 0.01$ ). The contents of TDN, DE, ME and  $NE_L$ , for kg of forage in MS on the 105<sup>th</sup> day were significantly increased ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** neutral detergent fiber, acid detergent fiber, acid detergent lignin, total digestible nutrients

### 1. Introducción

La zona central del Litoral ecuatoriano carece de fuentes de proteína para la producción animal; la escasez de forraje en el período seco se convierte en un problema para la mayoría de los pequeños y medianos ganaderos, lo que reduce la producción de leche y carne en la época seca. Existen fuentes forrajeras de origen proteico como la caraca (*Erythrina poeppigiana*), leucaena (*Leucaena leucocephala*), matarratón (*Gliricidia sepium*), etc, sin embargo, su producción forrajera es muy escasa y requiere de un buen contenido de humedad. De allí que la búsqueda de recursos de mayor rendimiento constituye una alternativa válida como recurso alimenticio en el Trópico húmedo y seco.

Diversos autores coinciden en que la *C. ensiformis* (L) DC. podría ser un cultivo del futuro como

alternativa en la alimentación animal; esta planta se destaca por su adaptación a un amplio rango de condiciones climáticas y agronómicas, con capacidad de producir en suelos con bajos contenidos de nutrientes y regiones con pocas precipitaciones [1, 2]

La canavalia es una leguminosa de alta producción de forraje (7 hasta 12.4 t ha<sup>-1</sup>) y elevado contenido de proteína bruta en sus hojas, más de 18% [3, 4, 5]. Por tanto, esta especie tiene alta capacidad de uso, pues puede utilizarse como suplemento nutritivo en la alimentación de cerdos, aves y rumiantes, así como en la alimentación humana en zonas áridas, en donde reemplaza la deficiencia de cereales, ya que posee un alto potencial de aminoácidos esenciales, con excepción del triptófano [6].

Se puede sembrar como bancos de proteína, sirve para la recuperación de suelos degradados, como abono verde, sus semillas presentan una alta

germinación, produce gran cantidad de follaje que genera una alta cobertura, puede aprovecharse para el control de plagas y malezas [7].

La fibra es una entidad heterogénea formada por varios componentes químicos de composición conocida, pero cuya estructura tridimensional es variable y poco conocida. Desde el punto de vista químico, la fibra se compone de un entramado de celulosa, hemicelulosa y lignina. A efectos prácticos, se utiliza para la predicción de la calidad de los forrajes, la ingestión de la materia seca, la digestibilidad y el valor energético de los alimentos [8]. Entre los alimentos que más varía la digestibilidad están los forrajes y el principal causante es el estado de madurez; a medida que aumenta la madurez de la planta, disminuye su contenido de proteína y de azúcares, y se eleva el de fibra, principalmente celulosa y lignina [9, 10].

Por otra parte, el método de colección total de heces es el más confiable para medir digestibilidad, ya que involucra directamente factores tanto del alimento como del animal [11]. Este método incluye la medición de la ingestión de una determinada ración de composición conocida y la colecta total de la excreción fecal correspondiente al alimento consumido [12].

Es de importancia para la nutrición el evaluar las diferentes edades de corte (60, 75, 90 y 105 días) del forraje de canavalia para conocer las fracciones de fibra por el método de Van Soest *et al.* [13], que idearon una técnica para dividir los carbohidratos de los alimentos en fracciones relacionadas con su disponibilidad nutricional. Primeramente se rompen las paredes celulares por medio de un tratamiento con una solución neutra de detergente, para quedar como remanente la llamada fibra detergente neutra (FDN); el contenido celular, que se presume, tiene una alta digestibilidad. Después la hemicelulosa se digiere en una solución ácido detergente, al residuo se le llama fibra detergente ácida (FDA); a continuación esta se somete a un tratamiento con una solución fuertemente oxidante de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ), que disuelve a la lignina y se obtiene entonces la celulosa como remanente, la cual se estima por incineración [9, 10, 14].

Trabajos realizados en forraje de canavalia, reportan porcentajes de FDN, 42.85%; FDA, 32.31%; lignina, 6.28%; celulosa, 26.03% y hemicelulosa, 10.54% [15]. Por otra parte, Mora *et al.*, [16] reporta contenidos de 40.70 y 34.31% de FDN y FDA, mientras que Viera y Ramis [2] registraron valores de FDN de 41.00%.

En lo relacionado a contenido de NDT, se reportan valores en bovinos de 63.7% y en ovinos de 59.00%. En cuanto a ED, se registran valores de 2.81 y 2.60 para bovinos y ovinos, respectivamente [17].

## 2. Materiales y Métodos

La investigación se ejecutó en la Finca Experimental “La María”, la misma que está localizada en el kilómetro siete de la vía Quevedo – El Empalme; en el cantón Quevedo; provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es de  $01^\circ 6'$  de latitud sur y de  $79^\circ 29'$  longitud oeste, a 120 msnm. El trabajo se realizó entre mayo y octubre del 2006.

Se evaluaron cuatro edades de corte del forraje de *C. ensiformis* (L) DC., 60, 75, 90 y 105 días. Para la investigación propuesta se utilizaron ocho animales ovinos tropicales Pelibuey, machos de 18 meses de edad y peso promedio de 27.40 kg, que se les ubicó en sus respectivas jaulas metabólicas de exclusión destinadas a pruebas de digestibilidad. El periodo de adaptación previo al ensayo de cada tratamiento fue de siete días. Se dispuso de un diseño completamente al azar (DCA) [18]. Para la separación de medias bajo los niveles de probabilidad de  $p \leq 0.05$  y  $p \leq 0.01$  se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan.

### VARIABLES EN ESTUDIO Y MANEJO EXPERIMENTAL

Las variables evaluadas fueron las digestibilidades de la fibra detergente neutra (DFDN), fibra detergente ácida (DFDA), lignina detergente ácida (DLDA), celulosa (DCEL) y hemicelulosa (DHEM), así como el contenido de nutrientes digestibles totales (NDT) y el aporte de la energía digestible (ED), energía metabolizable (EM) y energía neta de lactancia ( $\text{EN}_L$ ).

En la fase de adaptación (7 días) el alimento suministrado fue el forraje de canavalia. El consumo de alimento estuvo relacionado con el peso y el requerimiento de mantenimiento de los ovinos tropicales [19]. Se suministró el alimento forraje de canavalia henificado a los 60, 75, 90 y 105 días en dos raciones diarias, el 50% en la mañana a las 8H00 y en la tarde a las 14H00 la diferencia. En el desarrollo de la etapa experimental se recolectaron las heces y remanentes de alimento por un tiempo de nueve días. Además de la ración diaria se suministró agua suficiente a cada animal y fue proporcionada permanentemente.

El análisis bromatológico del forraje de canavalia y de las heces se realizó en el laboratorio, mediante el método de Weende, donde se determinaron los principios inmediatos: proteína cruda (PC), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE), cenizas y extracto libre de nitrógeno (ELN). Esta fase consistió en determinar el análisis proximal para evaluar los parámetros de digestibilidad. En el análisis de la pared celular se utilizó el método de Van Soest *et al.*, [13]. Se determinaron los siguientes componentes: fibra detergente neutra (FDN) fibra detergente ácida (FDA), lignina detergente ácida (LDA), celulosa (diferencia entre la FDA – LDA) y hemicelulosa (diferencia entre FDN – FDA).

La colección total de heces incluye la medición de la ingestión de una determinada ración de composición conocida y la colecta total de la excreción fecal correspondiente al alimento consumido, las muestras del material ofrecido, al igual que las del rechazado, cuando se proporciona alimento *ad libitum*. Esta es normalmente representada por un coeficiente de digestibilidad, expresado en forma porcentual que se calcula mediante la siguiente fórmula [14, 20]:  $\text{Coef. Dig. (\%)} = \frac{\text{Nutrientes ingeridos} - \text{Nutrientes excretados}}{\text{Nutrientes ingeridos}} \times 100$ .

La determinación de NDT es el cálculo aproximado de la energía liberada por un ingrediente dado. El método consiste en tomar los valores de los componentes orgánicos del análisis proximal: proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y el extracto libre de nitrógeno y multiplicarlo por su digestibilidad ( $\text{NDT} = \text{Proteína dig.} + \text{ELN dig.} + \text{Fibra cruda dig.} + \text{extracto etéreo dig.}$ ).

La ED se determina a partir de NDT [21] obtenidos por digestibilidad y aplicados en la ecuación:  $\text{ED}$

(Mcal/kg) =  $\text{NDT (\%)} \times 0.04409$ . La EM responde a la eficiencia de la energía digestible y se la obtiene mediante la ecuación:  $\text{EM} = 1.01 \times \text{ED (Mcal/kg)} - 0.45$ . Para el cálculo de la  $\text{EN}_L$  se parte de NDT con la siguiente fórmula:  $\text{EN}_L = 0.0245 \times \text{NDT (\%)} - 0.12$ .

### 3. Resultados y Discusión

La Tabla 1 contiene la composición química de la pared celular del forraje de canavalia a diferentes edades de corte, la misma reportó valores promedio de FDN de 52.30%, variando desde 49.16 hasta 54.74%, siendo superiores a los reportados por Jiménez *et al.* [15] con 42.85% y Mora *et al.* [16] con 40.70%. El contenido promedio de FDA fue 37.61%, variando desde 36.23 hasta 39.99%; estos valores fueron superiores a los reportados por Jiménez *et al.* [15]; Viera y Ramis [2] y Mora *et al.* [16], e inferiores a los registrados por Savon *et al.* [22], con 46.17%.

**Tabla 1.** Composición química de de la pared celular del forraje de *C. ensiformis* (L) DC. en diferentes edades de corte. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.

| Nutrientes (%)                 | Edad de corte (días) |       |       |       | Promedio (%) |
|--------------------------------|----------------------|-------|-------|-------|--------------|
|                                | 60                   | 75    | 90    | 105   |              |
| Materia seca (MS)              | 87.00                | 87.30 | 87.80 | 88.20 | 87.58        |
| Materia orgánica (MO)          | 83.69                | 85.63 | 81.76 | 89.49 | 85.14        |
| Fibra detergente neutra (FDN)  | 49.16                | 52.10 | 52.66 | 54.74 | 52.30        |
| Fibra detergente ácida (FDA)   | 37.44                | 36.23 | 39.99 | 36.76 | 37.61        |
| Lignina detergente ácida (LDA) | 9.62                 | 9.38  | 9.07  | 9.36  | 9.36         |
| Celulosa (CEL)                 | 27.82                | 26.85 | 30.92 | 27.40 | 28.24        |
| Hemicelulosa (HEM)             | 11.72                | 15.87 | 12.67 | 17.98 | 14.56        |

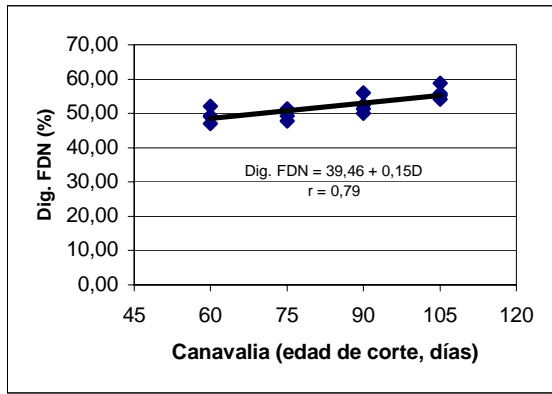
La DFDN, DFDA, DLDA, DCEL y DHEM presentaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) entre tratamientos (Tabla 2), reportando el mayor coeficiente DFDN con 55.95% a los 105 días, y una correlación lineal positiva de  $r = 0.79$  con la edad de corte (Figura 1). Por su parte, DFDA logró sus mejores coeficientes a los 60, 90 y 105 días, existiendo un efecto cúbico altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ) con una correlación negativa de  $r = -0.90$  (Figura 2). La disminución de DFDA está en función de cantidad y calidad de la FDA y de la concentración de biomasa foliar. La FDA en las leguminosas está en un rango de 20 – 52%, con una media de 34.4% [23].

La DLDA fue superior a los 60 días de corte, observándose una disminución significativa a los 90 días, este efecto negativo está relacionado con el estado vegetativo y mayor madurez de la planta, luego de este momento los fotosintatos se invierten en la generación de flores y frutos, perdiendo así calidad en el material foliar. La DCEL fue altamente significativa con mayores coeficientes a los 90 y 105 días, 58.59 y 59.88%, respectivamente. La DHEM presentó un mayor coeficiente a los 75 días de corte con 75.26%, altamente significativo, registrando una disminución a los 60 días e incremento a los 75 días y, disminuyendo a los 90 y 105 días de corte.

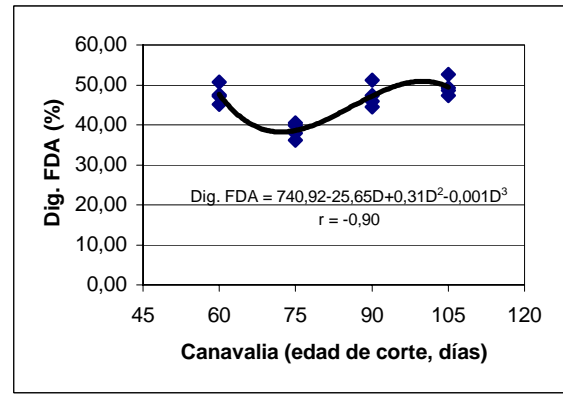
**Tabla 2.** Digestibilidad de los componentes de la pared celular del forraje de *C. ensiformis* (L) DC. en diferentes edades de corte. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.

| Parámetro (%) | Edad de corte (días) |         |         |         |
|---------------|----------------------|---------|---------|---------|
|               | 60                   | 75      | 90      | 105     |
| DFDN          | 49.33 b*             | 49.76 b | 52.45 b | 55.95 a |
| DFDA          | 47.56 a              | 38.59 b | 47.22 a | 49.50 a |
| DLDA          | 31.74 a              | 17.70 b | 8.44 c  | 19.11 b |
| DCEL          | 53.03 b              | 45.89 c | 58.59 a | 59.88 a |
| DHEM          | 54.98 c              | 75.26 a | 68.94 b | 69.15 b |

\*Promedios con letras iguales en la misma fila no presentan diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) según Duncan.



**Figura 1.** Regresión lineal entre la edad de corte y la DFDN (%) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.



**Figura 2.** Regresión cúbica entre la edad de corte y la DFDA (%) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.

Los resultados de los contenidos de NDT (%), ED, EM y EN<sub>L</sub> en (Mcal kg<sup>-1</sup>) presentaron diferencias

estadísticas altamente significativas entre las edades de corte de la canavalia, (Tabla 3).

**Tabla 3.** Nutrientes digeribles totales, energía digestible, energía metabolizable y energía neta de lactancia del forraje de *C. ensiformis* (L) DC. en diferentes edades de corte. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.

| Parámetro                                  | Edad de corte (días) |         |         |         |
|--|----------------------|---------|---------|---------|
|  | 60                   | 75      | 90      | 105     |
| NDT, %                                     | 48.52 b*             | 47.29 b | 49.06 b | 59.39 a |
| ED, Mcal kg <sup>-1</sup> MS               | 2.14 b               | 2.09 b  | 2.16 b  | 2.62 a  |
| EM, Mcal Kg <sup>-1</sup> MS               | 1.71 b               | 1.66 b  | 1.73 b  | 2.20 a  |
| EN <sub>L</sub> , Mcal kg <sup>-1</sup> MS | 1.07 b               | 1.04 b  | 1.08 b  | 1.34 a  |

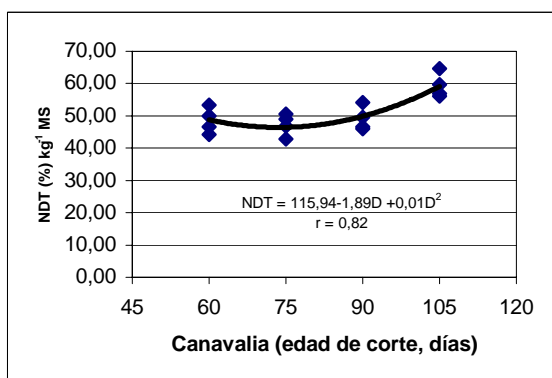
\*Promedios con letras iguales en la misma fila no presentan diferencias estadísticas (p>0.05) según Duncan.

El mayor contenido de NDT se reportó a los 105 días (p≤0.01) con 59.39%, el mismo que es similar al registrado por Salamanca [17]. Se observó un efecto cuadrático altamente significativo con una correlación positiva de r = 0.82 (Figura 3).

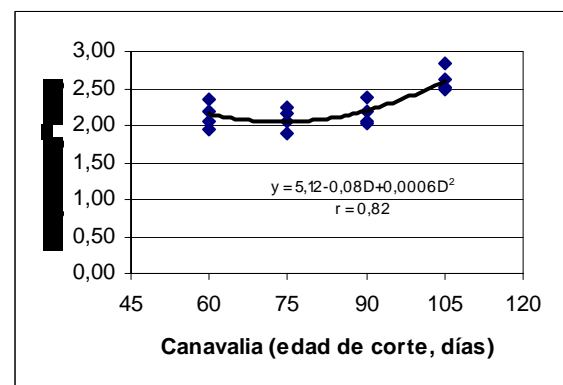
La ED del forraje aumentó con la edad de corte reportando 2.62 Mcal kg<sup>-1</sup> a los 105 días, contenido que concuerda con el obtenido por Salamanca [17] con 2.60 Mcal kg<sup>-1</sup> en ovinos, presentando un efecto

cuadrático altamente significativo con una correlación positiva de r = 0.82 (Figura 4).

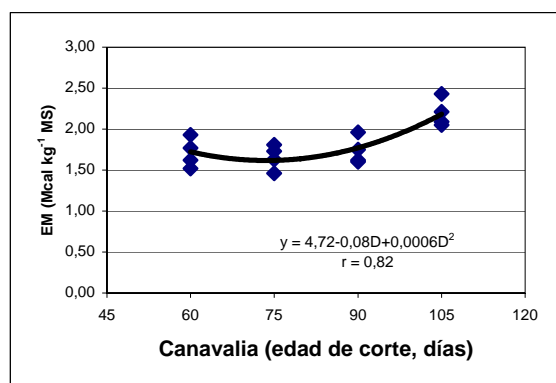
En lo relacionado a la EM y (EN<sub>L</sub>) se obtuvo el mayor contenido a los 105 días con 2.20 y 1.34 Mcal kg<sup>-1</sup>, respectivamente, evidenciando un efecto cuadrático altamente significativo con una correlación positiva de r = 0.82 y 0.83, respectivamente (Figuras 5 y 6).



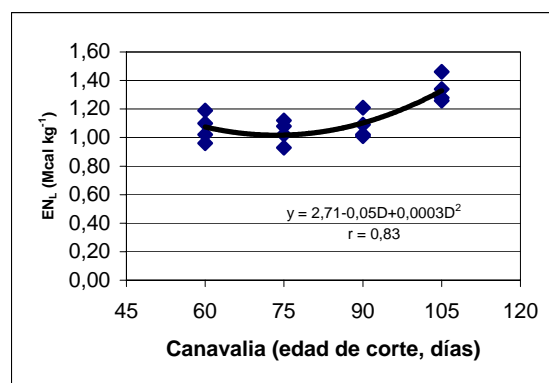
**Figura 3.** Regresión cuadrática entre la edad de corte y NDT (%) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.



**Figura 4.** Regresión cuadrática entre la edad de corte y ED (Mcal kg<sup>-1</sup> MS) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.



**Figura 5.** Regresión cuadrática entre la edad de corte y EM (Mcal kg<sup>-1</sup> MS) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.



**Figura 6.** Regresión cuadrática entre la edad de corte y ENL (Mcal kg<sup>-1</sup> MS) de la *C. ensiformis* (L) DC. Finca “La María”, UTEQ, Quevedo, Ecuador.

#### 4. Conclusiones

Los componentes de la pared celular de DFDN, DFDA y DCEL del forraje de canavalia presentaron sus mayores coeficientes a los 105 días de corte, a excepción de la DLDA que fue mayor a los 60 días, este efecto se da debido al aumento del contenido de lignina en los tallos de la planta de canavalia, el mismo que disminuye a los 90 días por existir formación de vainas verdes; la DHEM presentó su mayor coeficiente de digestibilidad a los 75 días.

Los NDT en porcentaje, la ED, EM y ENL en Mcal Kg<sup>-1</sup> MS presentaron diferencias estadísticas altamente significativas entre edades de corte reportando valores de 59.39% de NDT; 2.62 Mcal Kg<sup>-1</sup> MS de ED; 2.20 Mcal Kg<sup>-1</sup> MS de EM y 1.39 Mcal Kg<sup>-1</sup> MS de ENL a los 105 días de corte del forraje de canavalia.

#### 5. Referencias

- [1] Beyra, A., Reyes G., Hernández L. y Herrera P., “Revisión Taxonómica del género Canavalia D.C. (Leguminosa E-Papilionoideae) en Cuba”, *Rev. Acad. Coloma. Cienc.*, 28, no. 107, 2004, pp 158-175.
- [2] Viera, J. y Ramis C., *Manejo agronómico y utilización de la Canavalia*, Caracas, Universidad Central de Venezuela, 1995, pp. 185 – 194
- [3] Bressani, R., Gómez R., García A. and Elías L., “Chemical composition aminoacid content and protein quality of *Canavalia sp.* Seeds”, *J. Sci. Fd Agric.* 40, no.1, 1987, pp. 17-23.
- [4] Vargas R. y Michelangeli C., *Utilización de Canavalia ensiformis (L.) DC. en dietas para aves y cerdos*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, 1994, 10 p.
- [5] Díaz, M., González A., Mora C. y Curbelo F., “Concentrados de proteína Foliar (CPF) en canavalia ensiformis”, *Rev. Cubana de Cienc. Agric.* 32, no. , 1998, pp. 313-320.
- [6] Bernal, H.Y. y Correa J.E., *Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés*

*Bello*, tomo VIII, SECAB Ciencia y Tecnología, no. 28, Colombia, 1992, 106 p.

- [7] Estupiñán, K. “Producción y digestibilidad del forraje en diferentes épocas de corte y del grano tostado de canavalia, *Canavalia ensiformis* (L) DC., en ovinos tropicales”, Tesis de Maestría, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, 2006.
- [8] Calsamiglia, S., “Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes”, *XIII Curso de especialización FEDNA*, Noviembre 1997, 16 p.
- [9] Maynard, L., Loosli J, Hintz H. y Warner R., *Nutrición animal*, Traducido por Alfonso Ortega Said, 4ª. Ed., México D.F., McGraw-Hill, 1995, 641 p.
- [10] Shimada, A., *Nutrición Animal*, México, D.F., Trillas, S.A. de C.V, 2003, 388 p.
- [11] Basurto, R. y Tejada de Hernández I., “Digestibilidad aparente de la pulpa deshidratada de limón. Comparación de métodos para estimarla”, *Téc. Pec. Méx.* 30, 1992, pp. 13 - 22.
- [12] Lachmann, M. y Araujo Febres, O. 1999. La estimación de la digestibilidad en ensayos con rumiantes. Universidad de Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo-Venezuela. Disponible en <http://www.secalc.ula.ve/AUPA/docuPDFS/digestibilidadderumiante.pdf>.
- [13] Van Soest, P.J., Robertson J.B. y Lejía B.A, *J. Dairy Sci.* 74, 1991, pp. 3583-3597.
- [14] Church, D.C., Pond W.G. y Pond K.R., *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*, 2ª Ed., 2000, pp. 60 – 61.
- [15] Jiménez, A. P., Cortez H. y Ortiz S., “Rendimiento forrajero y calidad del ensilaje de canavalia en monocultivo y asociado con maíz”, *Acta Agronómica* 54, no. 2, 2005, 8 p.
- [16] Mora, M., Parra R., Escobar A, “Canavalia ensiformis su utilización en la alimentación de rumiantes, resultados preliminares”, *Rev Fac Agron. Venezuela* 7, 1986, pp. 179-192.
- [17] Salamanca, R., *Pastos y Forrajes. Producción y manejo*, Universidad de Santo Tomás, Bogotá – Colombia, 1990, 342 p.

- [18] Infante, G. y Zarate G., *Métodos Estadísticos*, Trillas, Centro de estadísticas y cálculo del Colegio de Postgraduados, México, D.F., 1984, pp. 401-462.
- [19] National Research Council. *Nutrient Requirements of Sheep*, Sixth Revised Ed. Washington. D. C., National Academy Press, 1985, 100 p.
- [20] Bondi, A. *Nutrición Animal*, Acribia, Zaragoza-España, 1989, 546 p.
- [21] National Research Council, *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, Seventh Revised. Ed. Washington, D.C., National Academy Press, 2001, 381 p.
- [22] Savon, L., Marreco A.I., Martínez L., González T. y Orta M., "Manual de caracterización físico-química de alimentos fibrosos en especies monogástricos", *XII Forum de Ciencia y Técnica*, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 1998, 338 p.
- [23] Martín, N. y Linn J. Minnesota Extensión Service. AG-FO-2637. 1991.