

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANO DE SORGO  
COSECHADO SECO: EFECTO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PRODUCCIÓN  
DE GAS *IN VITRO*”**

**Por**

**Agustín ARTEGOYTIA ARBIZA**

TESIS DE GRADO presentada como  
uno de los requisitos para obtener el  
título de Doctor en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Producción animal.

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2014**

## **PÁGINA DE APROBACIÓN**

**Presidente de Mesa:**

-----  
Dra. Analía Perez

**Segundo Miembro (Tutor):**

-----  
Dr. Martín Aguerre

**Tercer Miembro:**

-----  
Ing. María Cristina Cabrera

**Fecha:**

**19 de Diciembre de 2014**

**Autor:**

-----  
Agustín Artegoytia

## **AGRADECIMIENTOS**

- ❖ Al Dr. Martín Aguerre, por darme la oportunidad de realizar el trabajo final y por la orientación durante el mismo.
- ❖ A mis familiares y amigos, por su apoyo constante durante toda la carrera.
- ❖ A mi novia, por acompañarme en los últimos años de la carrera.
- ❖ Al Dr. Mauro Torterolo por su cooperación
- ❖ A los compañeros Mauro Minteguiaga, Magali Audi, Renato Araujo, Marcos Urrestarazu y Mariana Alcantara por todo el tiempo dedicado al trabajo de campo.
- ❖ A la Facultad de Veterinaria UdelaR.
- ❖ A todo el personal del Laboratorio de nutrición de facultad de veterinaria, por el entrenamiento, apoyo científico, académico en el procesamiento de las muestras.
- ❖ A todo el personal del campo experimental de Libertad, por su ayuda a la hora de realizar los trabajos prácticos.
- ❖ A todos los compañeros de producción 2012.
- ❖ A todo el personal de la biblioteca de Facultad de Veterinaria por habernos brindado su servicio para la realización de la revisión bibliográfica.

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN .....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	5
RESUMEN: .....	6
SUMMARY:.....	7
1. INTRODUCCIÓN .....	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	10
2.1. DIGESTIÓN DE LOS GRANOS DE CEREALES.....	10
2.2. PARTICULARIDADES DEL GRANO DE SORGO.....	12
2.2.1. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DEL GRANO DE SORGO .....	12
2.2.2. PRESENCIA DE TANINOS .....	13
2.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE EL SITIO DE DIGESTIÓN DE LOS GRANOS EN RUMIANTES .....	14
2.3.1. EFECTO DEL ENSILAJE DE GRANO HÚMEDO SOBRE EL APROVECHAMIENTO DEL GRANO DE SORGO.....	15
2.3.2. TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANOS COSECHADOS SECO.....	17
2.3.2.1. TRATAMIENTOS EN SECO.....	17
2.3.2.2. TRATAMIENTOS HÚMEDOS .....	17
3. HIPÓTESIS:.....	19
4. OBJETIVOS .....	19
4.1. Objetivo general .....	19
4.2. Objetivos particulares .....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
5.1. DISEÑO Y MANEJO EXPERIMENTAL .....	20
Análisis químicos:.....	21
Producción de gas <i>in vitro</i> .....	21
Análisis estadístico:.....	22
6. RESULTADOS .....	23
6.1. Composición química .....	23
6.2. Producción de gas <i>in vitro</i> .....	24
7. DISCUSIÓN .....	25
8. CONCLUSIÓN E IMPLICANCIAS .....	28
9. BIBLIOGRAFÍA .....	29

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS:

	<b>PÁGINA</b>
Tabla 1. Efecto del tratamiento sobre la digestibilidad del almidón en rumen e intestino de maíz y sorgo.....	15
Tabla 2. Composición química de las muestras de sorgo.....	23
Tabla 3. Composición química del grano seco (GS, control), remojado durante 24h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM).....	24
Tabla 4. Parámetros de fermentación in vitro de la materia seca del grano seco (GS, control), remojado durante 24 h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM).....	25

### FIGURAS:

	<b>PÁGINA</b>
Figura 1. Estructura del grano de sorgo.....	13

## RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos aplicados sobre grano de sorgo cosechado seco sobre la composición química y la producción de gas *in vitro*. Cinco muestras de sorgo (BMR 1000, Flash1, Flash10, 3034 y Joward food; IPB<sup>®</sup>, San José, Uruguay) fueron cosechadas como grano seco y sometidas a 6 tratamientos: conservadas como grano seco (control), remojadas por 24h (GR), germinados por 5d (GG), germinados por 5d y ensilados por 21d (GGE), reconstituido a un 30% de humedad y ensilados por 21d como grano entero (REE) y reconstituido a un 30% de humedad y ensilados por 21d como grano molido (REM). Sobre todas las muestras se evaluó el efecto del tratamiento sobre la composición química y la producción de gas *in vitro*. El contenido de materia orgánica (MO) no difirió entre el grano seco y los tratamientos GR y REE, sin embargo los tratamientos GG, GGE y REM disminuyeron el contenido de materia orgánica ( $P < 0,05$ ). Comparado con el grano seco los tratamientos GR, GGE y el REE determinaron una caída en el contenido de almidón ( $P < 0,05$ ) la cual fue de mayor proporción que la caída en la concentración de MO. Los tratamientos reconstituido y ensilado (tanto con grano entero como molido) disminuyeron la concentración de taninos condensados de los granos ( $P < 0,05$ ). La fermentación *in vitro* del grano seco fue similar a la del GR y el REE, sin embargo el tiempo en el cual la tasa máxima de fermentación ocurre ( $T_{max}$ ) fue mayor para el GR que para el grano seco ( $P < 0,05$ ). El tiempo en que se alcanzó la producción de la mitad del gas asintótico (C), la tasa máxima de fermentación ( $R_{max}$ ) y el  $T_{max}$  fueron similares entre el tratamiento germinado y el grano seco. Sin embargo, la producción de gas asintótica (A) fue menor en GG que en el grano seco ( $P < 0,05$ ). Aunque A fue menor para GGE y REM respecto al seco, estos tratamientos redujeron el C sin afectar  $T_{max}$ . El  $R_{max}$  aumentó en el GGE ( $P < 0,05$ ). En conclusión el tratamiento que incluyó el ensilaje acompañado de la germinación así como reconstituido con el grano previamente molido determinaron cambios en la composición química y resultaron efectivos en disminuir el tiempo de producción de la mitad del gas asintótico y producir la tasa máxima de fermentación.

## SUMMARY:

The aim of this study was to evaluate the effects of different treatments applied to sorghum grain which was harvested dry, regarding its chemical composition and its *in vitro* gas production. Five samples of sorghum (BMR 1000, Flash1, Flash10, 3034 and Joward food, IPB<sup>®</sup>, San Jose, Uruguay) were harvested as dry grain and subjected to 6 treatments: preserved as dry grain (control); soaked for 24 hrs. (GR); germinated for 5d and ensiled for 21d (GGE); reconstituted to a 30% of its moisture and ensiled for 21d as a whole grain (REE) and reconstituted to a 30% of its moisture and ensiled for 21d as ground grain (REM). The effects of the treatments were evaluated in all the samples focusing on their chemical composition and their *in vitro* gas production. The content of organic matter (MO) did not differ between the dry grain and GR and REE treatments; however the GG, GGE and REM treatments reduced organic matter content ( $P < 0,05$ ). Compared with the dry grain, GR, GGE and REE treatments resulted in a decrease in starch content ( $P < 0,05$ ) which was higher than the decrease in the concentration of MO. Reconstituted and ensiled treatments (both whole grain and ground grain) decreased in the concentration of condensed tannins in the grains ( $P < 0,05$ ). *In vitro* fermentation of dry grain was similar to GR and REE, however, the time at which the maximum rate of fermentation occurs ( $T_{max}$ ) was longer for GR than for dry grain ( $P < 0,05$ ). The time for reaching half of the production of the asymptotic gas (C), the maximum fermentation rate ( $R_{max}$ ) and  $T_{max}$  were similar between the germinated treatment and the dry grain. Nevertheless, the asymptotic (A) gas production in GG was lower than the one in the dry grain ( $P < 0,05$ ). Although A was lower in GGE and REM than in the dry grain, these treatments reduced C without affecting  $T_{max}$ . Moreover, the  $R_{max}$  increased in the GGE ( $P < 0,05$ ). In conclusion treatment including not only the silage accompanied by the germination but also the reconstituted grain showed changes in the chemical composition and proved to be effective in decreasing half of the production time of the asymptotic gas and in producing the maximum fermentation rate.

## 1. INTRODUCCIÓN

A partir de la última década, se ha visto un cambio radical en la agricultura de nuestro país, pasando de casi 600.000 has cultivadas en la zafra 2005/2006 a 1.800.000 has en la zafra 2012/2013 (DIEA, 2013). Esto ha llevado a un aumento considerable del precio de la tierra pasando de precios que rondaban los 385 U\$S/ha en el año 2002 a un promedio de 3478 U\$S/ha en el año 2012 (DIEA, 2013).

En este nuevo contexto, los modelos de producción animal, deben apostar cada vez más a la intensificación de la producción, lo cual va de la mano con la optimización en la utilización de los recursos disponibles. Esto ha llevado, entre otros factores, a la necesidad de aumentar la concentración de nutrientes en las dietas y a la búsqueda de alternativas que permitan aumentar la eficiencia de conversión mediante mejoras de la calidad de los alimentos utilizados. Con este fin, el uso de alimentos concentrados (cuyo principal componente son los granos de cereales y sus subproductos), en la dieta de rumiantes, toma cada vez más importancia en nuestros sistemas de producción.

Una de las características sobresalientes de los granos de cereales, es que el componente en mayor proporción es el almidón. El almidón es un nutriente fundamental en las dietas de rumiantes para promover una alta producción (Theurer, 1986). El almidón se encuentra distribuido en los endospermos harinoso y córneo del grano (Mc Donald, 2006). La degradabilidad ruminal del almidón de los cereales no es igual, varía de acuerdo a la especie, siendo mayor para el grano de avena, seguido por el trigo, cebada, maíz y sorgo, respectivamente (Herrera-Saldana, 1990; Offner y col., 2003). Esta diferencia entre granos estaría dada principalmente por la proporción relativa del endospermo córneo y harinoso, dado que los almidones purificados de distintos cereales se digieren de manera similar (Hibberd, 1982b; Mc Allister y col., 1993). Es así que las características (forma y tamaño) de los gránulos de almidón y de la matriz proteica que envuelve los gránulos, son las que determinan la degradación del almidón de los cereales (de Blas, 1995; Offner y col., 2003).

La degradación ruminal, determina en gran medida la digestibilidad final de los granos de cereales (Huntington, 1997; Offner y col., 2003). De manera general, la aplicación de tratamientos aumenta la degradabilidad ruminal y baja la cantidad de almidón digerido post-ruminalmente; pudiéndose o no aumentar la digestibilidad total del almidón (Theurer, 1986; Offner y col., 2003) Es así que la tasa y magnitud de la digestión ruminal del almidón depende básicamente del tipo de grano, del genotipo en cuestión (Martin y col., 1999) y de los tratamientos realizados (Hill y col., 1991; Fellner y col., 2001; Balogun y col., 2006).

Dada sus características propias el grano de sorgo es el cereal con mayor potencial para incrementar su aprovechamiento digestivo mediante la aplicación de diversos

procesamientos, tan es así, que tras la aplicación de tratamientos puede llegar a valores de digestibilidad similares al grano de maíz (Streeter y col., 1990). El procesado del grano de sorgo, aumenta la degradación ruminal del almidón (Poore, 1993); este incremento, favorece al animal directamente, por un aumento en la energía disponible en rumen e indirectamente a través del aumento de la eficiencia de la flora microbiana ruminal, aumentando la proteína microbiana que llega al duodeno (Poore, 1993).

En nuestro país, el grano de sorgo ocupa cada día un lugar más preponderante. Queda demostrado en el incremento del área de siembra que se viene dando año a año, y que para la zafra 2011/2012 resultó en la mayor producción de la última década alcanzando a las 88200 hectáreas sembradas (DIEA, 2013). Este crecimiento, se sustenta en la rusticidad que presenta su cultivo presentando gran resistencia a condiciones adversas del tipo de suelo y al stress hídrico (Bianco y col. 2000; Caorsi y Olivera, 2005). Otra de las causas no menos relevante es el menor costo relativo del grano de sorgo con respecto a otros granos. A modo de ejemplo el valor del maíz en los últimos años fue en promedio un 25 % superior al del sorgo (DIEA, 2013). En el caso particular del sorgo, además de los factores antes mencionados, hay que considerar la presencia de taninos condensados en algunos genotipos que pueden variar de 0,2 a 6,9 % según el híbrido (Russell y Lolley, 1989; Evers y col., 1999). Estos compuestos desde el punto de vista agronómico son muy valorados ya que confieren resistencia a la depredación de los pájaros, germinación pre cosecha y colonización de insectos haciendo que el cultivo se vea menos afectado (Reed 1995). Sin embargo, desde el punto de vista nutricional, la presencia de taninos disminuye la calidad del grano (Russell y Lolley, 1989); ya que determinan la formación de complejos tanino-proteína que disminuye la disponibilidad de almidón afectando la digestibilidad del grano y su calidad nutricional (Maxson y col., 1973; Reed 1995; Curbelo, 2010).

Tradicionalmente existen dos momentos en la cosecha del grano de sorgo: una etapa temprana cuando el grano tiene un 25% o más de humedad y una etapa tardía cuando el grano está seco (menos de un 16% de humedad). El estado de madurez influye sobre la degradabilidad ruminal de los cereales. En este sentido Akbar y col. (2002) reportan que a medida que aumenta el grado de madurez en distintas variedades de granos de maíz la degradabilidad del grano disminuye. A su vez otro estudio reportó una mayor degradabilidad de la materia seca de sorgos altos en taninos cuando fueron cosechados con un 35% de humedad respecto a los cosechados con 25% (Montiel y Elizalde, 2004).

Varios son los trabajos realizados en nuestro país que demuestran un aumento importante en la degradabilidad ruminal y en el aprovechamiento digestivo del grano de sorgo cuando se lo cosecha en un estado de maduración temprana y se los ensila húmedos (Bianco y col., 2000; Repetto y col., 2005b; Caorsi y Olivera 2005; Curbelo y col., 2007). Sin embargo, la mayoría del grano de sorgo que se comercializa por

empresas, cooperativas y productores en el Uruguay es bajo la forma de grano seco, con lo cual surge la necesidad de profundizar en alternativas de tratamientos que permitan incrementar el valor nutritivo del grano de sorgo cuando se lo cosecha en un estado de maduración tardío como grano seco.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. DIGESTIÓN DE LOS GRANOS DE CEREALES

Los cereales son un conjunto de plantas herbáceas, cuyos granos o semillas se emplean para la alimentación humana o de los animales. Se denomina cereales a los miembros de las Gramíneas que se cultivan por sus semillas (Mc Donald, 2006). Estos se caracterizan por su gran aporte energético, el cual depende en gran medida del porcentaje de almidón que posean dichos granos. El almidón puede llegar hasta un 80 % en los granos de trigo (Huntington, 1997).

El almidón es un homopolisacarido formado por amilosa y amilopectina (Huntington, 1997). La amilosa puede formar un 20-30% del almidón de los granos, es un polímero lineal con enlaces alfa 1-4 de unidades de D- glucosa (Huntington, 1997). La amilopectina puede formar un 70 – 80% del almidón de los granos y es un polímero ramificado más grande y el componente más abundante del almidón de los granos (Huntington, 1997). Se cree que las moléculas de amilosa se orientan dentro de los cristales de amilopectina, causando un aumento en la unión de hidrógeno intermolecular lo que limita tanto la hinchazón y la hidrólisis enzimática del almidón, por lo tanto, la digestibilidad del almidón es inversamente proporcional al contenido de amilosa (Montiel y Elizade, 2004).

En el rumen, el almidón es atacado por los microorganismos amilolíticos (*Streptococcus bovis*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amilophilus*, etc.). Estos microorganismos liberan exo y endo enzimas que hidrolizan los enlaces alfa 1-4 y alfa 1-6 de amilosa y amilopectina, lo que determina la formación de maltosa que atraviesa la pared bacteriana para ser degradada a glucosa, este proceso termina en la formación de piruvato (Cotta, 1992). El piruvato puede seguir varias vías, siendo la más común la formación de lactato, que es transformada a propionato y como tal sale de la célula microbiana (Van Soest, 1994). El propionato constituye el principal precursor neoglucogénico en rumiantes. Sin embargo, no todas las bacterias están equipadas con una completa gama de enzimas digestivas, por lo tanto, la digestión máxima de almidón a monosacáridos requiere la integración entre especies (Huntington, 1997). El almidón que escapa a la digestión ruminal tiene la oportunidad de ser digerido a nivel intestinal. En los rumiantes la capacidad de digestión intestinal del almidón es limitada, y depende de la acción de las amilasas pancreáticas (Taniguchi y col., 1995) y de la absorción por

parte de transportadores de glucosa situados en las vellosidades intestinales, cuya cantidad depende directamente del área de las mismas (Huntington, 2006). El páncreas secreta alfa amilasa, que hidroliza la amilosa y la amilopectina en dextrinas (principalmente de la hidrólisis de amilopectina) y oligosacáridos lineales con entre dos y cincuenta y ocho unidades de glucosa (Gray, 1992; Harmon, 1993). El proceso se completa por la acción de oligosacaridasas de superficie que se encuentran en la membrana del borde en cepillo de las microvellosidades intestinales (Huntintong y col., 2006). A diferencia de los no rumiantes, los rumiantes no tienen actividad sacarasa medible y por lo tanto dependen de la actividad de maltasa e isomaltasa para producir unidades de glucosa para la absorción (Harmon, 1992).

La digestibilidad del almidón en el intestino es variable y puede situarse entre el 45 y 85% del almidón que entra en el duodeno. Esta digestibilidad esta aparentemente limitada por el suministro de la amilasa pancreática (Huntington y col., 2006). La capacidad para el transporte activo de glucosa a través de la pared del intestino no parece limitar la cantidad de almidón digerido que se absorbe en forma de glucosa (Harmon, 2004). Huntintong y col. (2006) reporta que la capacidad de digestión intestinal del almidón en rumiantes puede llegar a un 70 %, cuando 700 g/d o menos de almidón alcanza el intestino. Esto sugiere que el aumento en el aprovechamiento digestivo del almidón mediante el aumento de la digestión intestinal sólo podría obtenerse a bajos niveles de ingesta, o tal vez con alimentos altamente procesados tales como maíz steamflaked que determinen bajos niveles de almidón sobrepasante de la digestión ruminal. Es así que debido a la “saturación” en la digestión intestinal, para aumentar el aprovechamiento del almidón, se debería aumentar la degradación de éste en rumen. Si se logra aumentar la digestión ruminal generalmente se aumenta la digestión en todo el tubo digestivo (Huntintong y col., 2006).

El almidón que no es digerido en rumen o intestino delgado sigue hasta tramos posteriores y es fermentado a AGV en intestino grueso (Huntington y col., 2006). Este proceso generalmente lleva a pérdida de proteína microbiana en heces que no es aprovechada por el animal y que pueden traer consecuencias ambientales (Knowlton y col., 1998).

### 2.1.1. DIFERENCIA ENTRE GRANOS

Anatómicamente los granos de cereales constan de tres partes bien diferenciadas. Ellas son: el pericarpio (8% del peso seco del grano), embrión (7-12% del peso seco del grano) y endospermo (80-85% de la MS) (Evers y col., 1999). El pericarpio es la parte más externa del grano y está constituido a su vez de tres partes (epicarpio, mesocarpio y endocarpio). Estas estructuras de protección son sin duda, el primer obstáculo a la degradación bacteriana ruminal (Huntington, 1997). Dentro del endospermo el almidón se dispone en forma de gránulo. De acuerdo a la estructura y disposición de estos

gránulos de almidón, el endospermo se divide en dos tipos: harinoso y córneo (Mc Donald, 2006). El endospermo harinoso se encuentra en la parte central del grano donde el almidón se dispone en gránulos grandes rodeados de una matriz proteica discontinua formada principalmente por albuminas y globulinas de fácil digestión (Rooney y Pflugfelder, 1986). El endospermo córneo se halla en la periferia del grano, donde el almidón se constituye en gránulos pequeños, rodeados de una matriz proteica continua formada principalmente por proteínas de más difícil digestión (prolaminas y gluteinas) (Rooney y Pflugfelder, 1986; Huntington, 1997). La participación de los dos tipos de endospermo es diferente en cada especie de grano de cereal, predominando el endospermo córneo en maíz y sorgo y el harinoso en trigo y cebada (Herrera-Saldana, 1990; Offner y col., 2003). A su vez la relación del endospermo córneo con respecto al harinoso, se puede ver incrementada con la maduración del grano y la fertilización nitrogenada, que también incrementaría el contenido de proteína cruda del grano de maíz (Owens y Zinn, 2005).

Nocek y Tamminga (1991), afirman que la degradabilidad ruminal y la digestión post-ruminal del almidón varían dependiendo del tipo de cereal, genotipo, y aplicación de métodos físicos y químicos de procesamiento. Teniendo en cuenta el tipo de cereal los granos de mayor degradabilidad ruminal (que pueden llegar hasta un 95%) son los granos de avena, trigo y cebada, siendo los más bajos los granos de maíz y sorgo que oscilan en un 60 % de degradación a nivel de rumen (Herrera-Saldana, 1990; Offner y col., 2003). Esto se explica fundamentalmente por la cantidad de endospermo harinoso que posee cada tipo de grano, en el caso del maíz y sorgo representa un 50% del total del almidón, mientras que en el trigo, puede llegar hasta un 80% (de Blas y col., 1995; Evers y col., 1999; Owens y Zinn, 2005). La menor degradación del maíz y el sorgo es debido a que la matriz proteica de estos granos es menos degradable que la de avena, trigo y cebada. La matriz proteica afecta la tasa y magnitud de la digestión ruminal del almidón al limitar el acceso de enzimas microbianas (Mc allister y col., 1993).

## 2.2. PARTICULARIDADES DEL GRANO DE SORGO

### 2.2.1. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DEL GRANO DE SORGO

Al igual que los otros granos, el grano de sorgo anatómicamente está compuesto por tres partes: pericarpio, embrión o germen y endospermo. Este grano además de los dos tipos de endospermos mencionados más arriba posee un tercero. Éste se encuentra hacia la periferia del grano y lo componen entre dos y seis capas externas (Figura 1). El endospermo periférico, posee gránulos de almidón muy pequeños y el doble de proteína que el harinoso lo que lo hace aún más resistente a la degradación enzimática (Rooney y Pflugfelder, 1986). Si bien en el grano de maíz también encontramos

endospermo periférico, éste se encuentra en menor proporción que en el sorgo (Sullins y Rooney, 1971). La proteína mayoritaria del sorgo es la prolamina (llamada “kafirina”) localizada dentro del endospermo y caracterizada por una baja solubilidad que la hace menos accesible a la digestión enzimática. Según Montiel y Elizalde (2004) estas proteínas al ser insolubles en licor ruminal, afectarían en forma negativa la disponibilidad de almidón para la degradación bacteriana.

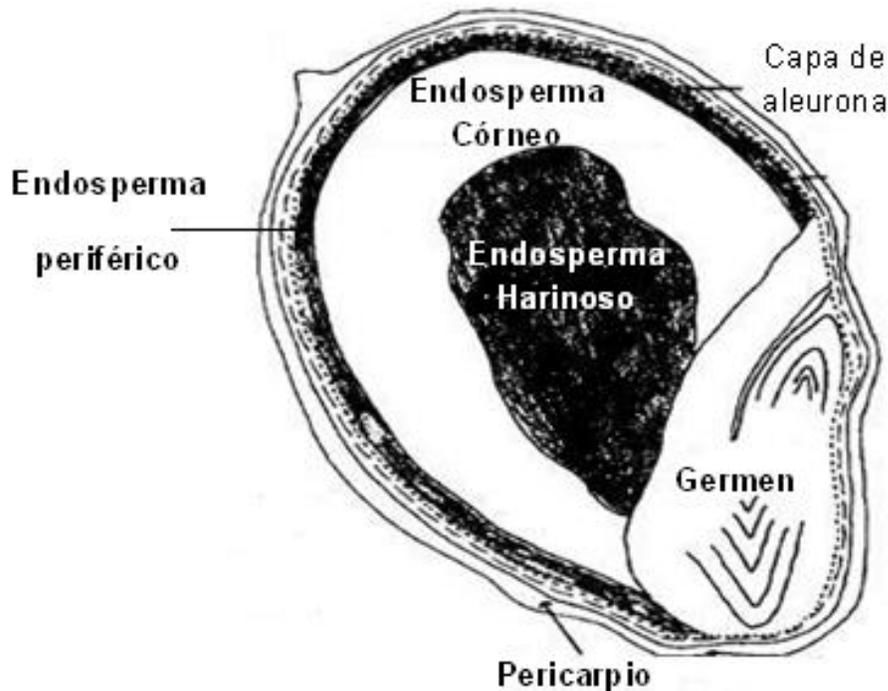


Figura 1: Estructura del grano de sorgo (Adaptado de Waniska, 2000).

### 2.2.2. PRESENCIA DE TANINOS

Una de las características que diferencian el grano de sorgo del resto de los cereales, es la presencia de taninos. Estos son metabolitos secundarios de las plantas. Químicamente son polímeros de compuestos fenólicos que tienen la habilidad de formar complejos con varios tipos de moléculas, principalmente proteínas y en menor medida carbohidratos (Mangan, 1988; Kumar y Vaithyanathan, 1990). Existen dos grupos de taninos: los taninos hidrolizables y los taninos condensados, presentando los primeros, una mayor susceptibilidad a la hidrólisis y una mayor solubilidad (Reed, 1995). Los taninos hidrolizables se encuentran en todos los granos de sorgo a diferencia de los taninos condensados que solo aparecen en aquellos de testa pigmentada, estos últimos pueden variar de 0,2 a 6,9 % según el híbrido (Russell y Lolley, 1989; Evers y col., 1999).

Los taninos desde el punto de vista agronómico son muy valorados. Una de las ventajas que aportan estos compuestos, es la resistencia a la depredación de los pájaros, que se produce por la astringencia que le otorga la unión de los taninos a las proteínas. A su vez, los taninos determinan una reducción de la germinación pre cosecha ya que al encontrarse en la testa del grano, impiden la absorción del agua, atrasando la germinación. Además impiden la colonización de insectos haciendo que el cultivo se vea menos afectado por estos factores (Reed, 1995). Sin embargo, desde el punto de vista nutricional la presencia de taninos disminuye la calidad del grano (Russell y Lolley, 1989); ya que determinan la formación de complejos tanino-proteína que disminuye la disponibilidad de almidón afectando la digestibilidad del grano y su calidad nutricional (Maxson y col., 1973; Reed 1995; Curbelo, 2010). La presencia de estos compuestos puede disminuir del 10 al 30% la eficiencia alimentaria si lo comparamos con los sorgos sin taninos (Waniska, 2000). Según Chessa (2001) Si comparamos el valor alimenticio de un ensilaje de grano húmedo de maíz con uno de sorgo sin taninos, los valores serán muy similares. En nuestro país D´Alessandro y col. (1997) midiendo la digestibilidad de diferentes tipos de sorgo en cerdos, comunicó valores llamativamente bajos para los identificados como altos en taninos. Más recientemente otros trabajos realizados en el Departamento de Nutrición de la Facultad de Veterinaria reportan menores niveles de degradabilidad ruminal de genotipos altos en taninos respecto a los bajos (Curbelo y col., 2007), resultados que coinciden con los reportados por otros autores (Bianco y col., 2000; Caorsi y Olivera, 2005).

### 2.3. EFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE EL SITIO DE DIGESTIÓN DE LOS GRANOS EN RUMIANTES

Dada sus características propias, el grano de sorgo es el cereal con mayor potencial para incrementar su aprovechamiento digestivo mediante la aplicación de diversos procesamientos, tan es así que puede llegar a valores de digestibilidad similares al grano de maíz (Streeter y col., 1990). El procesado del grano de sorgo, aumenta la degradación ruminal del almidón (Poore, 1993). Este incremento, favorece al animal directamente, por un aumento en la energía disponible en rumen e indirectamente a través del aumento de la eficiencia de la flora microbiana ruminal, aumentando la proteína microbiana que llega al duodeno (Poore, 1993). Por otra parte Chessa (2001) sostiene que para obtener el máximo de aprovechamiento digestivo de los granos de sorgo se les debería realizar algún proceso.

Según Rooney y Plugfelder (1986), si se quiere aprovechar al máximo el potencial de alimentación la matriz proteica del endospermo del grano de sorgo debe ser interrumpida.

En general, el efecto del procesamiento esta en relación con la alteración que provoca en el grano. De esta forma, existen tratamientos como el quebrado: actúa mediante la ruptura del pericarpio y exposición del endospermo y el molido: disminuye además el tamaño de partícula incrementando la superficie de ataque (Huntington, 1997). Cuando el tratamiento es más intenso, se produce una ruptura de la matriz proteica como el que se da en el ensilado. Mientras que los procesos que involucran vapor y calor como el extrusado, provocan además la gelatinización del almidón (Hill y col., 1991; Huntington, 1997; Owens y Zinn, 2005). Huntington (1997) evaluando datos de digestibilidad del almidón de maíz y sorgo molidos, rolados, extrusado y con alto contenido de humedad, reporta que la digestibilidad en la totalidad del tracto es más elevada para el extrusado seguido por el grano húmedo (Tabla 1).

*Tabla 1: Efecto del tratamiento sobre la digestibilidad del almidón en rumen e intestino de maíz y sorgo.*

Grano	Procesamiento	kg/d almidón	Dig. Rumen	Dig. Intestino	% digerido en todo el tracto
MAIZ	aplastado	2,06	76,2	16,2	92,2
	extrusado	2.2	84,8	14,1	98,9
	ensilado	3,89	89,9	6,3	95,3
	molido	10,65	49,5	44	93,5
SORGO	aplastado	4,81	59,8	26,1	87,2
	extrusado	4,78	78,4	19,6	98,0
	ensilado	3,64	73,2	19,6	92,8
	molido	3,81	70,0	15,4	91,0

*Tomado de Huntington, (1997).*

### 2.3.1. EFECTO DEL ENSILAJE DE GRANO HÚMEDO SOBRE EL APROVECHAMIENTO DEL GRANO DE SORGO

Tradicionalmente existen dos momentos en la cosecha del grano de sorgo: una etapa temprana cuando el grano tiene un 25% o más de humedad y una etapa tardía cuando

el grano está seco (menos de un 16% de humedad). El estado de madurez influye sobre la degradabilidad ruminal de los cereales. En este sentido Akbar y col. (2002) reportan que a medida que aumenta el grado de madurez en distintas variedades de granos de maíz la degradabilidad del grano disminuye. A su vez otro estudio reportó una mayor degradabilidad de la materia seca de sorgos altos en taninos cuando fueron cosechados con un 35% de humedad respecto a los cosechados con 25% (Montiel y Elizalde, 2004). Hill y col. (1991) comparando el sitio y la magnitud de la digestión total de sorgos secos, ensilados o tratados con urea llegaron a la conclusión de que los procesamientos con mejores resultados fueron el ensilaje y el tratamiento con urea. La digestión ruminal y total del almidón, subió 19 y 8 puntos porcentuales respectivamente en el ensilado con respecto al seco, mientras que en el tratado con urea aumentaron 13 y 6 puntos porcentuales, respectivamente.

El silo de grano húmedo es un tratamiento de fácil aplicación que se realiza con el grano con una humedad entre 25 y 35 %. De acuerdo a datos relevados por varios autores, este tratamiento puede lograr incrementos en los valores de digestibilidad similares al que se logra por tratamientos industriales mucho más costosos como el steam flaked (Noeck y Tamminga, 1991; Owens y Zinn, 2005). El principal efecto que se logra con el ensilado de grano húmedo es la alteración de la matriz proteica (Owens y Zinn, 2005).

Los taninos se inactivan durante el almacenamiento anaeróbico (Curbelo, 2010) a moléculas de baja reacción con proteínas (Mitaru y col., 1984). Varios son los trabajos realizados a nivel nacional que reportan un aumento importante en la degradabilidad ruminal y en el aprovechamiento digestivo del grano de sorgo cuando se los cosecha en un estado de maduración temprana y se los ensila húmedos respecto a los mismos cuando son utilizados en un estado de maduración tardía como grano seco (Bianco y col., 2000; Caorsi y Olivera 2005; Curbelo, 2010). En este sentido Curbelo (2010) reporta incrementos de más de 20 puntos porcentuales en la degradabilidad ruminal y de 12 puntos en la digestibilidad total, cuando se compara la digestión de sorgos ensilados húmedos respecto a los mismos granos cosechados como grano seco. En el mismo sentido Bianco y col. (2000), concluyen que el ensilaje de grano húmedo en comparación con el grano seco aumenta la degradabilidad ruminal independientemente del contenido en taninos.

Estos resultados indican que el ensilado es una alternativa adecuada para incrementar el aprovechamiento digestivo de granos que presentan bajo aprovechamiento por parte del animal. Sin embargo, dado que la mayoría del grano de sorgo se comercializa bajo la forma de grano seco, surge la necesidad de profundizar en alternativas de tratamientos que permitan incrementar el valor nutritivo del grano de sorgo cuando se lo cosecha en un estado de maduración tardío como grano seco.

## 2.3.2. TRATAMIENTOS APLICADOS SOBRE GRANOS COSECHADOS SECO

### 2.3.2.1. TRATAMIENTOS EN SECO

El quebrado y/o molido es el procesamiento tradicional que se le realiza al grano de sorgo seco. Su objetivo primordial es la reducción del tamaño de la partícula y la rotura de las células del endospermo, así se facilita la colonización y posterior degradación del almidón en rumen. Según Bianco y col. (2000) por la acción mecánica de este tratamiento, se logra producir un cierto grado de gelatinización que aumenta la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática.

El quebrado del grano consiste en el pasaje del mismo a través de dos rodillos. El tamaño de partícula varía dependiendo del peso, presión (espacio entre los rodillos) del contenido de humedad del grano y de la velocidad de pasaje del grano por los rodillos (Galyean, 1997). Mc Allister y col. (1993), en un estudio realizado con granos de maíz y cebada a los cuales se le aplicó 2 tipos de molienda: una fina que dejaba al grano con un diámetro de 0,25 mm y otra molienda más gruesa obteniendo un grano con el diámetro de 2 mm, reportan que la cebada se degradó más que el maíz independientemente del tratamiento y que el molido fino determinó un aumento de la degradabilidad en ambos granos, siendo esta aún mayor para el grano de maíz.

### 2.3.2.2. TRATAMIENTOS HÚMEDOS

El remojado, germinado y/o reconstituido son tratamientos de fácil aplicación que se pueden realizar sobre el grano de sorgo. El reconstituido, consiste en agregar agua al grano seco hasta alcanzar una humedad de 25 a 35% y luego almacenado en condiciones de anaerobiosis durante 14 a 21 días (Balogun y col., 2005). Este tratamiento se ha propuesto como una forma de aumentar la degradabilidad del mismo. (Simpson y col., 1985; Rooney y Pflugfelder, 1986; Hill y col., 1991). Este tratamiento causa una degradación fermentativa de la matriz proteica del endospermo periférico, dejando disponible el almidón para la digestión (Rooney y Pflugfelder, 1986). Sin embargo, el efecto de la reconstitución no es consistente. Hill y col. (1991) reportaron que el reconstituido a niveles de 28% de humedad y ensilado del grano mostró un aumento en la degradabilidad ruminal y en la digestibilidad en todo el tracto del almidón con respecto al grano seco. Sin embargo, Balogun y col. (2005) no encontró efectos del reconstituido sobre la degradación ruminal y la fermentación *in vitro* de sorgos reconstituidos. Por otra parte Hibberd (1985) en un estudio donde realizó la reconstitución al 30 % de humedad en muestras de sorgos (bajos y altos en taninos) reporta un aumento de la digestión ruminal y total de las variedades de sorgo bajas en taninos. Según este autor la fermentación del almidón digestible en rumen se

incrementó de 69,1 a 91,1 %; sin embargo la fermentación ruminal del almidón del sorgo alto en taninos no fue alterada por la reconstitución.

Simpson y col. (1985) sugieren que el remojo del grano es el factor que determina principalmente la respuesta a la reconstitución. Sin embargo, Balogun y col. (2005) no reportan cambios respecto al grano seco en la degradabilidad ruminal ni en la fermentación *in vitro* luego del remojo de granos de sorgo por 24 horas. Por otra parte, Huck y col. (1999), reportaron que las características de fermentación durante la reconstitución del sorgo mejoran su valor nutritivo, y la eficiencia de ganancia en vaquillonas de engorde, los efectos fueron mayores cuando el sorgo se reconstituyó a un 35% respecto a un 25 o 30 % de humedad.

Otros estudios han demostrado que la reconstitución incrementa el valor alimenticio del grano de sorgo en ganado de carne, esto se debe a una mayor degradabilidad de las proteínas presentes en el grano (Tonroy y col., 1974; Walker y Lichtenwalner, 1977).

Sullins y col. (1971) demostraron que los cambios que se produjeron en el endospermo del sorgo reconstituido (la interrupción de la matriz proteica con la subsecuente liberación de gránulos de almidón y cuerpos proteicos) fueron similares a los que se produce durante la germinación.

De acuerdo con Pflugfelder y col. (1986) la reconstitución del sorgo sin una previa fase aeróbica (germinación) resulta ineficaz en provocar cambios en la composición del grano que puedan llevar a un aumento en su digestibilidad. Sin embargo Simpson y col. (1985) reportaron que el remojo del grano no provocó cambios en la composición del grano pero determinó una mejora en la digestibilidad del grano similar a la obtenida para los granos reconstituidos. La germinación o germinación y ensilado del grano provoca la activación de enzimas que llevan a la hidrólisis de las proteínas del endospermo, lo que determina, incrementos en la solubilidad del nitrógeno y de los carbohidratos en los granos (Pflugfelder y col., 1986; Balogun y col., 2005 y 2006). En este sentido, algunos autores reportan que breves periodos de germinación antes de su almacenamiento anaeróbico parecen acelerar en gran medida la fermentación bacteriana del grano de sorgo lo que mejora la digestibilidad de éste en los rumiantes (Pflugfelder y col., 1986; Balogun y col., 2005). Es así que Hibberd y col. (1986) señalan al inicio de la germinación, como una posible causa de los fuertes aumentos en la solubilidad de la proteína en el grano de sorgo reconstituido después de un día de almacenamiento anaeróbico. En el mismo sentido Balogun y col. (2005 y 2006) comunican aumentos considerables en la degradabilidad de la materia seca, en la producción de gas total, en la producción de AGV y en la fermentación del almidón medida *in vitro* del grano de sorgo cuando este fue sometido a germinación durante 5 días o a germinación por 5 días y luego ensilado por 16 días.

Como se mencionó anteriormente varios son los trabajos realizados a nivel nacional que reportan un aumento importante en la degradabilidad ruminal y en el aprovechamiento digestivo del grano de sorgo cuando se los cosecha en un estado de maduración temprana y se los ensila húmedos en comparación a un grano de sorgo cosechado en un estado de maduración tardía (grano seco). Sin embargo, la mayoría del grano de sorgo que se comercializa por empresas, barracas, cooperativas y productores en el Uruguay es bajo la forma de grano seco. Dada la variabilidad en los resultados de los trabajos publicados previamente, no queda claro cuál etapa del proceso de reconstitución afecta el valor nutritivo del grano de sorgo. Con lo cual surge la necesidad de profundizar en el conocimiento de estos procesos. En el presente trabajo se pretende evaluar cómo la adición de agua, el proceso de germinado, el proceso de ensilado o sus asociaciones afectan la composición química y los parámetros de fermentación medidos *in vitro* de granos de sorgo cosechados secos.

### **3. HIPÓTESIS:**

La aplicación de tratamientos húmedos al grano cosechado seco determinará cambios en la composición del grano que incrementan la fermentación *in vitro* en comparación con el grano seco.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de distintos tratamientos aplicados sobre granos de sorgo cosechado seco sobre, su composición química y la dinámica de producción de gas *in vitro*.

#### **4.2. Objetivos particulares**

1- Evaluar el efecto de distintos tratamientos aplicados en granos de sorgo cosechados seco sobre la composición química de los granos.

2- Evaluar como distintos tratamientos aplicados en granos de sorgo cosechados seco afectan la dinámica de producción de gas *in vitro*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. DISEÑO Y MANEJO EXPERIMENTAL

El experimento fue realizado en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de los Departamentos de Nutrición Animal y Bovino de la Facultad de Veterinaria (UdelaR), situado en el Campo Experimental N°2 (Libertad, San José). El protocolo experimental se realizó de acuerdo a las recomendaciones del Comité de Honorario de Experimentación Animal (CHEA, Udelar).

Sobre 5 muestras de sorgo de chacras comerciales (BMR 1000, Flash 1, Flash 10, 3034 y Joward food; IPB, San José, Uruguay) cosechadas en un estado de maduración tardía (grano seco), se aplicaran seis tratamientos distintos:

Tratamiento 1: Grano seco (GS, control)

Tratamiento 2: Grano remojado por 24 horas (GR)

Tratamiento 3: Grano germinado por 5 días (GG)

Tratamiento 4: Grano germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE)

Tratamiento 5: Grano reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE)

Tratamiento 6: Grano reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM)

La composición química de las muestras de sorgo utilizadas en el experimento se presentan en la tabla 2. Para el tratamiento 1, el grano fue utilizado sin ningún tratamiento previo. Para el remojado se utilizaron cantidades iguales de grano de sorgo entero seco y agua, estas se mezclaron y luego de 24 horas el excedente de agua fue drenada para utilizar el grano. Para los tratamientos 3, 4 y 5 la humedad de los granos enteros fue llevada a 30% por el agregado de agua, luego según el tratamiento aplicado los granos fueron mantenidos en condiciones de aerobiosis por 5 días (tratamiento 3, GG), en aerobiosis por 5 días y luego en anaerobiosis por 21 días (tratamiento 4, GGE), en anaerobiosis por 21 días con el grano entero (tratamiento 5, REE). Para el tratamiento 6 (REM) el grano fue previamente molido y luego reconstituido a un 30% de humedad por el agregado de agua almacenándose en anaerobiosis por 21 días. El ensilaje se realizó en recipientes plásticos de 5 kg de capacidad. El material dentro del recipiente fue comprimido en forma manual, luego los recipientes se cerraron con tapa hermética y se mantuvieron durante 21 días. Para cada tratamiento se realizaron tres repeticiones. Luego de realizados los tratamientos las muestras de cada tratamiento y repetición fueron congeladas para su posterior análisis. Para su uso las muestras de cada tratamiento y repetición fueron secadas (60°C por 48h) y molidas a 1 mm. La

composición química y la producción de gas *in vitro* fueron determinadas para cada tratamiento y repetición.

*Procedimientos y Determinaciones:*

Análisis químicos: Sobre todas las muestras se determinó el contenido de materia seca (MS) por secado a 105°C hasta peso constante (Método 7.003; AOAC, 1997). El contenido de cenizas se determinó por combustión a 600°C por dos horas (Método 7.009; AOAC, 1997) y el contenido de materia orgánica (MO) se determinó por diferencia. El contenido de nitrógeno se determinó por el método de kjeldahl (Método 984.13; AOAC, 1997). La fibra neutro detergente (FND) se determinó de acuerdo con Mertens (2002), usando  $\alpha$ -amilasa termostable, el resultado se expresa incluyendo el contenido de cenizas residual. El contenido de fibra ácido detergente (FAD) se determinó de acuerdo al método 973.18 de AOAC (1997). El contenido de Almidón se determinó mediante hidrólisis enzimática usando un kit comercial (K\_TSTA 07/11, Megazyme International Ireland, Irlanda). El contenido de taninos condensados se midió según el método propuesto por Makkar (2000). Todos los análisis se realizaron por duplicado aceptando coeficientes de variación del 5%.

Producción de gas *in vitro*: La producción de gas *in vitro* se realizó mediante la técnica descrita por Mauricio y col. (1999). Se pesaron 0,5 g de sustrato y fueron colocados en frascos de fermentación de 125 ml. A cada frasco se añadió un volumen total de 40,5 ml de un medio sin ácidos grasos volátiles ni vitaminas (Mould y col., 2005). A continuación los frascos se taparon con tapón de goma y fueron refrigerados (4°C) durante 12 h antes de la inoculación para hidratar el sustrato. Previamente a la inoculación los frascos fueron colocados a baño María a 39,5°C, donde se mantuvieron por todo el período de mediciones. Cada muestra se incubó en dos corridas consecutivas (duplicado).

El inóculo de líquido ruminal fue obtenido de 3 novillos holando (405  $\pm$  10 kg de peso corporal) provistos de cánula ruminal e intestinal. Los animales estaban alimentados con una dieta compuesta por 2/3 de henolaje de avena y 1/3 de un concentrado a base de sorgo molido. La dieta contenía (en base seca) 138 g / kg de PB, 415 g / kg de FND y 251 g / kg FAD. El concentrado se distribuyó en dos comidas iguales por día. El líquido ruminal se colectó de cada uno de los tres animales 4 horas después de la suplementación de la mañana, se realizó un pool y se utilizó inmediatamente.

En cada frasco se inoculó 10 ml de líquido ruminal luego se tapó con tapón de goma y se selló con precintos de aluminio. Todas las manipulaciones se realizaron bajo una corriente de CO<sub>2</sub>. La presión de gas se midió en unidades psi a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 48, 72 y 96 h después de la inoculación usando un manómetro digital (Sper Scientific Ltd., Scottsdale, EE.UU.). Luego de cada medición el gas acumulado se liberó. La

presión de gas registrada se transformó a volumen de gas (mL), de acuerdo a la ecuación:

$$V = 4.40 P + 0.09 P^2 (R^2=0.998)$$

donde la V representa el volumen de gas en mL y P la presión medida en psi.

El volumen de gas acumulado durante la fermentación se relacionó con la MS incubada. Los datos de producción de gas acumulado se ajustaron al modelo propuesto por Groot y col. (1996):

$$G = A / [1 + (B/t)^C]$$

donde G es el total de gas producido (mL/g); A es la producción de gas asintótica (mL/g); B es el punto de inflexión de la curva; C es el tiempo en el cual se forma la mitad del gas asintótico ( $t_{1/2}$ ; h) y t es el tiempo (h). La tasa máxima de fermentación ( $R_{max}$ ; mL/h) y el tiempo en el que ocurre ésta ( $T_{max}$ ; h) se calcularon de acuerdo con Baurer y col (2001):

$$R_{max} = (A * C^B) * B * [T_{max}^{-(B-1)}] / [1 + C^B] * (T_{max}^{-B})^2]$$

$$T_{max} = C * [(B-1) / (B+1)]^{(1/B)}$$

Análisis estadístico: Los datos fueron analizados por ANOVA utilizando el procedimiento Mixto SAS (SAS 9.0V, SAS Institute Inc., Cary, NC), de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + M_j + e_{ij},$$

donde  $\mu$  es la media poblacional,  $T_i$  es el efecto fijo del tratamiento ( $i = GS, GR, GG, GGE, REE$  y  $REM$ ),  $M_j$  es el efecto aleatorio de muestra de sorgo ( $j = BMR 1000, Flash 1, Flash 10, 3034$  o  $Joward Food$ ) y  $e_{ij}$  es el error residual. Para el análisis de los parámetros de producción de gas el efecto aleatorio de la corrida también fue incluido. Las medias fueron comparadas por el test de Tukey. Se consideraron diferencias

significativas cuando  $P \leq 0.05$  y tendencias cuando  $0.05 < P \leq 0.10$ . Los resultados se presentan como las medias  $\pm$  error estándar de las medias

Tabla 2: Composición química de las muestras de sorgo

	J. Food	3034	Flash 1	Flash10	BMR1000
MS (g/kg)	897 $\pm$ 2,2	892 $\pm$ 1,6	898 $\pm$ 0,1	891 $\pm$ 0,3	899 $\pm$ 1,0
Composición, (g/kg MS)					
MO	987 $\pm$ 0,5	986 $\pm$ 0,4	988 $\pm$ 0,1	985 $\pm$ 0,1	987 $\pm$ 0,3
Almidón	724 $\pm$ 1,8	660 $\pm$ 12,5	684 $\pm$ 4,7	727 $\pm$ 5,8	732 $\pm$ 5,5
N	13,7 $\pm$ 0,41	12,6 $\pm$ 0,51	12,9 $\pm$ 0,49	13,8 $\pm$ 0,58	14,0 $\pm$ 0,25
FND	76,9 $\pm$ 5,74	138 $\pm$ 13,1	112 $\pm$ 10,8	111 $\pm$ 4,6	159 $\pm$ 21,6
FAD	25,2 $\pm$ 2,19	47,9 $\pm$ 1,24	51,9 $\pm$ 0,02	37,7 $\pm$ 2,82	49,8 $\pm$ 3,50
TC	0,943 $\pm$ 0,8623	9,49 $\pm$ 0,579	13,0 $\pm$ 0,38	0,688 $\pm$ 0,4833	9,85 $\pm$ 0,533

<sup>a</sup>MS, Materia seca; MO, materia orgánica; N, nitrógeno; FND fibra neutro detergente analizada con una amilasa estable al calor y se expresada incluyendo cenizas residuales; FAD, fibra ácido detergente incluyendo cenizas residuales; TC, taninos condensados. Datos presentados como medias  $\pm$  DS ( $n = 3$ ).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Composición química

La composición química resultante de los distintos tratamientos aplicados en este experimento se muestra en la tabla 3. Como era de esperar, el contenido de materia seca de las muestras reconstituidas (GG, GGE, REE y REM) fue del entorno a 700g/kg, estos tratamientos tuvieron aproximadamente un 22% menos de MS que el grano seco ( $P < 0,05$ , Tabla 3). El remojado resultó el tratamiento con menor contenido de MS (633  $\pm$  4,1 g/kg, Tabla 3).

El contenido de materia orgánica no difirió entre el grano seco, remojado y reconstituido y ensilado entero, sin embargo el germinado, germinado y ensilado y reconstituido y ensilado molido presentaron menor contenido de MO que la muestra control ( $P < 0,05$ , Tabla 3). Comparado con el tratamiento control, el contenido de almidón se mantuvo para el reconstituido y ensilado molido y el germinado pero disminuyó en el resto de los

tratamientos ( $P < 0,05$ , Tabla 3). El germinado determinó un aumento en el contenido de N ( $P < 0,05$ ) sin embargo, no se detectaron diferencias entre los demás tratamientos. No se detectaron diferencias para FAD. Los tratamientos reconstituido y ensilado (tanto con grano entero como molido) disminuyeron significativamente la concentración de taninos condensados de los granos ( $P < 0,05$ , Tabla 3). Dentro de los tratamientos que incluyeron fermentación, el reconstituido y ensilado molido presentó mayores niveles de pH respecto al germinado y ensilado y al reconstituido y ensilado entero ( $5,33$  vs  $4,49 \pm 0,11$  respectivamente).

**Tabla 3: Composición química del grano seco (GS, control), remojado durante 24h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM)**

	GS	GR	GG	GGE	REE	REM	EEM
MS (g/kg)	896a	633d	732b	688c	694c	689c	4,1
Composición, (g/kg DM)							
MO	986a	986a	985bc	985bc	985ab	984c	0,7
Almidón	705a	619b	638ab	530c	613b	673ab	16,1
N	13,4bc	13,0c	14,5 a	13,6bc	13,1c	14,0ab	0,29
FAD	42,5	40,5	41,0	40,0	42,6	43,4	7,08
TC	6,80a	4,16ab	8,42 a	4,76ab	1,76b	0,94b	1,971
pH	--	--	--	4,49b	4,49b	5,33a	0,110

*MS, Materia seca; MO, materia orgánica; N, nitrógeno; FAD, fibra ácido detergente incluida la ceniza residual; TC, taninos condensados. EEM es el error estándar de las medias (n=5). Diferentes letras dentro de la misma fila indican que las medias difieren estadísticamente  $P < 0.05$ .*

## 6.2. Producción de gas *in vitro*

La producción total de gas *in vitro* así como los parámetros de la cinética de producción de gas de los tratamientos estudiados se presentan en la tabla 4. Los parámetros de fermentación fueron similares para el grano seco respecto al remojado y reconstituido y ensilado entero, sin embargo, el tiempo en el que ocurre la tasa máxima de fermentación ( $T_{max}$ ) fue mayor para el remojado que para el seco ( $P < 0,05$ , Tabla 4).

El tiempo en que se alcanzó la producción de la mitad del gas asintótico (C), la tasa máxima de fermentación ( $R_{max}$ ) y el  $T_{max}$  fueron similares entre el tratamiento germinado y el grano seco. Sin embargo, el germinado determinó una producción de gas asintótico menor que el seco ( $P < 0,05$ ). La producción de gas asintótico y el tiempo de producción de la mitad del gas asintótico de los tratamientos germinado y ensilado y reconstituido y ensilado molido fue menor y el  $T_{max}$  no varió respecto al grano seco ( $P < 0,05$ , Tabla 4).

El germinado y ensilado produjo una tasa máxima de fermentación ( $R_{max}$ ) significativamente mayor que el grano seco ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 4: Parámetros<sup>a</sup> de fermentación in vitro de la materia seca del grano seco (GS, control), remojado durante 24 h (GR), germinado por 5 días (GG), germinado por 5 días y ensilado por 21 días (GGE), reconstituido como grano entero y ensilado por 21 días (REE) y reconstituido como grano molido y ensilado por 21 días (REM).**

	GS	GR	GG	GGE	REE	REM	EEM
A (mL/g)	285ab	292a	271c	266c	283b	265c	13.5
C (h)	10.0ab	10.6a	9.91b	8.67c	9.58b	8.93c	0.528
$R_{max}$ (mL/h)	18.1bcd	17.9cd	17.5d	19.8a	18.9abc	19.4ab	1.57
$T_{max}$ (h)	4.68bc	5.66a	4.81bc	4.56c	5.04b	4.96bc	0.863

<sup>a</sup> A, es la producción de gas asintótica; C, es el tiempo en el cual se forma la mitad del gas asintótico;  $R_{max}$ , la tasa máxima de fermentación y  $T_{max}$ , el tiempo en el que ocurre el  $R_{max}$ . EEM es el error estándar de las medias. Diferentes letras dentro de la misma fila indican que las medias difieren estadísticamente  $P < 0.05$ . (n=15 por tratamiento).

## 7. DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra diferentes efectos en la composición química y producción de gas *in vitro* de la adición de agua *per se*, del proceso de germinación, del proceso de fermentación o sus interacciones en granos de sorgo reconstituidos.

En comparación con el grano seco, la disminución en el contenido de materia orgánica en los tratamientos, germinado, germinado y ensilado y reconstituido y ensilado molido indican que la activación de procesos biológicos vinculados al proceso de germinación o a la fermentación determinan un consumo de MO. En este mismo sentido Pflugfelder y col. (1986) reportaron pérdidas de materia seca durante la germinación de granos de sorgo que según los autores podrían estar dados por la activación de sistemas

enzimáticos durante el proceso de germinación. Dado que los tratamientos remojado, germinado y ensilado y el reconstituido y ensilado entero bajaron en mayor proporción la concentración de almidón que la de materia orgánica, podríamos asumir que debido a los procesos involucrados en estos tratamientos parte del almidón del grano se transformó en elementos más simples. Balogun y col. (2005) evaluando distintos tratamientos aplicados sobre grano de sorgo reportaron que los tratamientos que implicaban germinación y ensilaje del grano redujeron el contenido de almidón en el sorgo. Esto fue acompañado, de la formación de hidratos de carbono solubles, fácilmente fermentables y degradables en el grano. En este mismo sentido, otros autores informaron aumentos en la solubilidad de carbohidratos en el sorgo después de la aplicación de tratamientos como el germinado (Simpson y col., 1985; Pflugfelder y Rooney., 1986). De acuerdo con estos autores probablemente la disminución del almidón en los tratamientos germinado y ensilado y el reconstituido y ensilado entero de nuestro trabajo sea debido a que por la activación del proceso de germinación el almidón se transformó en compuestos más simples que en este trabajo no fueron medidos. Por esa misma razón hubiera sido esperable una caída en el nivel de almidón en el tratamiento germinado, sin embargo la disminución en el contenido de almidón por este tratamiento fue sólo numérica.

Dado que la molienda del grano impide que se activen los procesos de germinación que llevan a la activación de enzimas que determinan incrementos en la solubilidad de los carbohidratos en los granos, resulta lógico que en el caso del reconstituido y ensilado molido, el almidón se mantuviera igual que en el seco. En este sentido Pflugfelder y Rooney (1986) sugirieron que la reconstitución de sorgo sin fase aeróbica (germinación) es poco probable que resulte en cambios físicos o químicos importantes que puedan mejorar la digestibilidad del grano.

La disminución en el contenido de almidón del tratamiento remojado con respecto al seco fue inesperada. Otros autores no reportaron cambios en la composición química de granos de sorgo remojados cuando se los compara con el seco (Simpson y col., 1985; Balogun y col., 2005).

En este mismo ensayo se determinó el sitio de digestión de la materia seca y el almidón de estas mismas muestras (Aguerre y col., 2012). El remojado del grano determinó una disminución de la degradabilidad ruminal (GR:  $58,9 \pm 1,8$ , seco  $20,1 \pm 1,9\%$ :  $P < 0,05$ ) y un aumento de la digestibilidad intestinal (GR:  $25,3 \pm 1,7$ , seco  $20,1 \pm 1,9\%$ :  $P < 0,05$ ) que no modificaron la digestibilidad total de la MS (Aguerre y col., 2012). El hecho de que, en comparación con el seco molido, este tratamiento disminuyó la degradabilidad de la MS y el tiempo en el que se logró la tasa máxima de fermentación *in vitro* podría indicar una disminución en la concentración de productos fácilmente fermentables en el tratamiento remojado. Por lo cual, la disminución en la concentración de almidón en

este tratamiento no estaría asociado con una hidrólisis de almidón a elementos más simples como consecuencia del tratamiento.

El reconstituido y ensilado (tanto con el grano entero como molido) disminuyeron significativamente el nivel de taninos condensados. En este sentido, Mitaru y col. (1984) demostraron que mediante la reconstitución se logra disminuir la concentración de taninos del grano de sorgo, disminuyendo así la formación de complejos tanino-proteína que dificultan la disponibilidad del almidón. (Maxson y col., 1973; Reed 1995; Curbelo, 2010). Por su parte Hibberd y col. (1982) encontraron una disminución en el contenido de taninos asociado con un aumento de la desaparición de materia seca *in vitro* cuando evaluaron granos de sorgo alto en taninos reconstituidos a 35 % de humedad durante 1 d. En el mismo sentido Rooney y Pfulgfelder (1986) manifestaron que la presencia de taninos condensados afecta negativamente el valor nutricional del grano, ya que se fijan a las proteínas dificultando la solubilidad del almidón. De acuerdo con Torterolo y col. (2012), el hecho de que los tratamientos reconstituido y ensilado (tanto entero como molido) fueran efectivos para disminuir el contenido de taninos condensados podría estar asociado con el proceso de ensilaje ya que estos autores reportaron una disminución del 35% en la concentración de taninos condensados después de ensilaje de sorgo cosechados húmedos.

La mayor disminución en el pH se produjo en los tratamientos germinado y ensilado y reconstituido y ensilado entero. Si asociamos este resultado a que estos tratamientos fueron los que disminuyeron en mayor proporción el almidón, podríamos asociar la caída del pH a una mayor disponibilidad de azúcares simples resultantes de la hidrólisis de almidón por la fermentación bacteriana durante el almacenamiento anaeróbico. La adición de aditivos que mejoren la fermentación y determinen una mayor caída del pH del tratamiento reconstituido y ensilado molido es una alternativa a investigar ya que los valores registrados para este tratamiento podrían afectar la correcta conservación del grano.

Si comparamos los resultados de producción de gas asintótico a las 96 horas, ningún tratamiento supero al control. Sin embargo el tiempo en producir la mitad del gas asintótico fue menor y la tasa máxima de fermentación mayor para los tratamientos germinado y ensilado y el reconstituido y ensilado molido. Estos resultados podrían estar asociados con los datos obtenidos de la composición química. El germinado y ensilado fue el tratamiento que tuvo una mayor caída en los niveles de almidón o sea el tratamiento en que probablemente hubo una mayor disponibilidad de azúcares simples de fácil fermentación. En este mismo sentido Balogun y col. (2005) reportan que la combinación de la germinación de 5 días y luego el reconstituido de 16 días aumentó la solubilidad de los carbohidratos y la fermentabilidad y degradabilidad de sorgo en comparación con el germinado o con el reconstituido. Este aumento se puede atribuir a la combinación de la actividad de las enzimas endógenas durante la fase aeróbica y las

enzimas exógenas de los microorganismos durante la fase anaeróbica (Balogun y col., 2005).

En el caso del reconstituido y ensilado molido la disminución en el nivel de taninos podría determinar una mayor disponibilidad del almidón para la fermentación. La presencia de taninos afecta la digestibilidad del almidón. En este mismo sentido Hibberd y col. (1982a) y Streeter y col. (1990) reportaron una menor digestibilidad del almidón medida a través de la producción de gas *in vitro* en genotipos de sorgo con alta concentración de estos compuestos.

La similar fermentación entre el grano seco y el reconstituido y ensilado entero coincide con lo que reportan Balogun y col. (2005). Sin embargo estos autores explican estos resultados por la composición química ya que la producción de almidón, azúcares solubles y nitrógeno soluble fue similar entre ambos. Pero si nosotros lo asociamos con nuestros resultados de la composición química el reconstituido y ensilado entero disminuyó el contenido de almidón, por lo tanto se formaron compuestos más simples, sumado a la disminución en el contenido de taninos sería esperable un aumento en la fermentación del reconstituido y ensilado entero con respecto al grano seco.

Como se mencionó anteriormente, en el presente trabajo, además de la composición química y producción de gas *in vitro*, se determinó el sitio de digestión de la MS (Aguerre y col., 2012). En este sentido, respecto al grano seco, los tratamientos germinado y ensilado y el reconstituido y ensilado molido determinaron un aumento de la degradabilidad ruminal (GGE:  $71,5 \pm 1,8$ , REM:  $68,7 \pm 1,8$ , seco:  $65,0 \pm 2,0\%$ :  $P < 0,05$ ) y de la digestibilidad total (GGE:  $89,1 \pm 0,5$ , REM:  $88,4 \pm 0,5$ , seco:  $85,0 \pm 0,9\%$ :  $P < 0,05$ ). Los dos tratamientos que aumentaron la digestión en rumen fueron los mismos que fermentaron más rápido *in vitro*. Para el caso del germinado, la digestión de la MS total no tuvo diferencias con el seco y la digestión del almidón incluso bajó, estos datos podrían ser asociados con lo que sucedió en el gas *in vitro* en el cual no se encontraron diferencias en la producción de gas total ni tampoco en las velocidades. A su vez si lo comparamos con la composición química tampoco hubo diferencias entre estos tratamientos. Esto quiere decir que los valores obtenidos en la producción de gas *in vitro* y composición química, también se vieron reflejados en el sitio de digestión de la MS en los animales.

## 8. CONCLUSIÓN E IMPLICANCIAS

La adición de agua, el proceso de germinado o el proceso de ensilaje de forma separada afectaron la composición química pero no afectaron la fermentación *in vitro*. El tratamiento que incluyó el ensilaje acompañado de la germinación así como el reconstituido con el grano previamente molido determinaron cambios en la composición

química y resultaron efectivos en disminuir el tiempo de producción de la mitad del gas asintótico y producir la tasa máxima de fermentación. Estos resultados indicarían que los tratamientos GGE y REM podrían determinar mejoras en la utilización digestiva por parte de los animales. Sin embargo investigaciones futuras en este sentido deben ser conducidas.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Aguerre M., Cajarville C., Artegoitia A., Audi M., Minteguiaga M., Repetto JL. (2012). Evaluación de tratamientos aplicados sobre grano de sorgo cosechado seco: sitio de digestión. IV Congreso Nacional de Producción Animal. AUPA. Montevideo, Uruguay. 114p.
- 2) Akbar MA., Lebzien P., Flachowsky G. (2002). Measurement of yield and in situ dry matter degradability of maize varieties harvested at two stages of maturity in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 100: 53-70.
- 3) A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists (1997). *Methods of Analysis*. 16<sup>a</sup> ed. Gaithersburg, MD, USA.
- 4) Balogun RO., Bird SH., Rowe JB. (2006). Germination temperature and time affect *in vitro* fermentability of sorghum grain. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127: 125-132.
- 5) Balogun RO., Rowe JB., Bird SH. (2005). Fermentability and degradability of sorghum grain following soaking, aerobic or anaerobic treatment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120: 141-150.
- 6) Bauer E., Williams BA., Voigt C., Mosenthin R., Verstegen MWA. (2001). Microbial activities of faeces from unweaned and adult pigs, in relation to selected fermentable carbohydrates. *Anim Sci.* 73, 313–322.
- 7) Bianco A., Goñi V., Oholeguy S. (2000). Efecto del procesado y el contenido de taninos del grano de sorgo sobre la composición química y la digestión de la materia seca en rumiantes .Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_y\\_manejo\\_reservas/reservas\\_granos/04-taninos\\_del\\_grano\\_de\\_sorgo.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_granos/04-taninos_del_grano_de_sorgo.pdf) Fecha de consulta: 20/05/2014.
- 8) Caorsi MA., Olivera AP. (2005). Efecto del método de conservación de distintos

- materiales de grano de sorgo sobre la degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de la materia seca. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 68p.
- 9) Chessa A. (2001). Calidad del sorgo granífero. Revista Agro Mercado. 62:7-9. Disponible en: [http://www.agromercado.com.ar/pdfs/062\\_sorgo\\_01.pdf](http://www.agromercado.com.ar/pdfs/062_sorgo_01.pdf) Fecha de consulta: 20/5/2014.
  - 10) Curbelo A. (2010). Ensilaje de granos de sorgo con diferente contenido en taninos: efecto sobre la composición química, degradabilidad ruminal, digestibilidad intestinal y fermentescibilidad. MSc Tesis. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 101p.
  - 11) Curbelo A., Cajarville C., Melognio E., Ortiz R., Repetto JL. (2007). Cinética de degradación ruminal de granos de sorgo: efecto del genotipo y del ensilado. Arch Latinoamer Prod Anim. 151:1-4.
  - 12) Cotta M. (1992). Interaction of Ruminant Bacteria in the Production and Utilization of Maltooligosaccharides from Starch. Applied and Environmental Microbiology, Jan: p 48-54.
  - 13) D'Alessandro J., Barlocco N., Peinado R., Garín D. (1997). Digestibilidad, balance nitrogenado y energía de granos de sorgo alto y bajo en taninos para cerdos. Rev. Arg. Prod. Anim. 17(supl 1):1-9.
  - 14) De Blas C., Rebollar PG. (1995). Utilización de cereales en dietas de vacuno lechero. XI Curso de especialización FEDNA. Barcelona.
  - 15) Evers AD., Blakeney AB., Brien LO. (1999). Cereal structure composition. Aust. J. Agric. Res. 50: 629-650.
  - 16) Fellner V., Phillip LE., Sebastian S., Idzcak ES. (2001). Effect of a bacterial inoculant and propionic acid on preservation of high-moisture ear-corn, and on rumen fermentation, digestion and growth performance of beef cattle. Can. J. Anim. Sci. 81: 273-280.

- 17) Galyean ML. (1997). Laboratory Procedures in animal nutrition research. Texas Tech Univ. Disponible en: [http://www.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab\\_man.pdf](http://www.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf). Fecha de consulta: 11/09/2014.
- 18) Gray GM. (1992). Starch digestion and absorption in nonruminants. *J. Nutr.* 122:172-177.
- 19) Groot JCJ., Cone JW., Williams BA., Debersaques FMA., Lantinga EA. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 64: 77–89.
- 20) Harmon DL., Yamka RM., Elam NA. (2004). Factors affecting intestinal starch in ruminants: A review. *J. Anim. Sci.* 84: 309–318.
- 21) Harmon DL. (1993). Nutritional regulation of postruminal digestive enzymes in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76: 2102-2111.
- 22) Harmon DL. (1992). Dietary influences on carbohydrases and small intestinal starch hydrolysis capacity in ruminants. *J. Nutr.* 122:203-210.
- 23) Herrera-Saldana RE., Huber JT., Poore MH. (1990). Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J. Dairy Sci.* 73:2386-2393.
- 24) Hibberd CA., Wagner DG., Schemm RL., Mitchell ED. Jr., Weibel DE, Hintz RL. (1986). Response of different sorghum grain and maize varieties to reconstitution. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 15: 231-244.
- 25) Hibberd CA., Wagner DG., Hintz RL., Griffin DD. (1985). Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. *J. Anim. Sci.* 61: 702 - 712.
- 26) Hibberd CA., Wagner DG., Schemm RL., Mitchell ED. Jr., Hintz RL., Weibel DE. (1982a). Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grains. *J. Anim. Sci.* 55: 665-672.

- 27) Hibberd CA., Wagner DG., Schemm RL., Mitchell ED. Jr., Weibel DE., Hintz RL. (1982b). Digestibility characteristics of isolated starch from sorghum and corn grain. *J. Anim. Sci.* 55: 1490 – 1497.
- 28) Hill TM., Schmidt SP., Russell RW., Thomas EE., Wolfe DF. (1991). Comparison of urea treatment with established methods of sorghum grain preservation and processing on site and extent of starch digestion by cattle. *J. Anim. Sci.* 69: 4570-4576.
- 29) Huck GL., Kreikemeier KK., Bolsen KK. (1999). Effect of reconstituting field-dried and early-harvested sorghum grain on the ensiling characteristics of the grain and on growth performance and carcass merit of feedlot heifers. *J. Anim. Sci.* 77: 1074-1081.
- 30) Huntington GB., Harmon DL., Richards CJ. (2006). Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J. Anim. Sci.* 84: 14-24.
- 31) Huntington GB. (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-867.
- 32) Knowlton KF., Glenn BP., Erdman RA. (1998). Performance, Ruminal Fermentation, and Site of Starch Digestion in Early Lactation Cows Fed Corn Grain. Harvested and Processed Differently. *J. Dairy Sci.* 81: 1972-1984.
- 33) Kumar A., Vaithyanathan S. (1990). Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Animal Feed Science Technol.* 30: 21-38.
- 34) Makkar HPS. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. *FAO /IAEA Working Document IAEA, Vienna, Austria.* 41:247-259.
- 35) Mangan JL. (1988). Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr Res Rev* 1: 209-231.
- 36) Martin C., Philippeau C., Michalet-Doreau B. (1999). Effect of wheat and corn variety on fiber digestion in beef steers fed high grain diets. *J. Anim. Sci.* 77: 2269-2278.

- 37) Mauricio RM., Mould FL., Dhanoa MS., Owen E., Channa KS., Theodorou MK. (1999). A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim Feed Sci Technol* 79:321-330.
- 38) Maxson WE., Shirley RL., Bertrand JE., Palmer AZ. (1973). Energy values of corn, bird resistant and non-bird resistant sorghum grain in rations fed to steers. *J. Anim. Sci.* 37: 1451-1457.
- 39) McAllister TA., Phillippe RC., Rode LM., Cheng KJ. (1993). Effect of the Protein Matrix on the Digestion of Cereal Grain by Ruminal Microorganisms. *J. Anim. Sci*; 71: 205-212.
- 40) McDonald P., Edwards R., Greenhalgh J., Morgan C. (2006). *Nutrición Animal*. 6° ed. Zaragoza, Acribia. 587 p.
- 41) Mertens DR. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in breakers or crucibles: collaborative study. *J.AOAC Int.* 85:1217-1240.
- 42) Mgap DIEA. (2013). 2: Producción vegetal; Cultivos cerealeros y de verano. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,659,O,S,0,MNU;E;27;8;MNU>. Fecha de consulta: 28/01/2014.
- 43) Mitaru BN., Reichert RD., Blair R. (1984) Kinetics of tannin deactivation during anaerobic storage and boiling treatment of high tannin sorghum. *J. Food Sci.* 49: 1566-1568.
- 44) Montiel MD., Elizalde JC. (2004). Degradabilidad ruminal de silajes de grano húmedo de maíz y de sorgo con diferentes contenidos de taninos. Congreso Argentino de Producción Animal XXVI. Tandil, Argentina. V. 24, p. 1-20.
- 45) Mould FL., Morgan R., Kliem KE., Krystallidou E. (2005). A review and simplification of the in vitro incubation medium. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 123–124, 155–172.

- 46) Nocek JE., Tamminga S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effects on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74: 3598-3629.
- 47) Offner A., Bach A., Sauvant D. (2003). Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106: 81-93.
- 48) Owens FN., Zinn RA. (2005). Corn Grain for Cattle: Influence of Processing on Site and Extent of Digestion. *Proc. Southwest Nutr. Conf.:* 86-112.
- 49) Pflugfelder RL., Rooney LW., Schake LM. (1986). The role of germination in sorghum reconstitution. *Anim. Feed Sci. Technol.* 14: 243-254.
- 50) Poore MH., Moore JA., Eck TP., Swingle RS., Theurer CB. (1993). Effect of fiber source and ruminal starch degradability on site and extent of digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 2244-2253.
- 51) Reed JD. (1995). Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *J. Anim. Sci.* 73: 1516-1528.
- 52) Repetto JL., Curbelo A., Melognio E., Ortiz R., Cajarville C. (2005b). Ruminal degradation of different genotypes of sorghum grain harvested with high or low moisture. *Congresso Brasileiro de Buiatria. Búzios, Brasil.* (abstract). 54:73-80
- 53) Rooney LW., Pflugfelder RL. (1986). Factors affecting starch digestibility with especial emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.* 63: 1607-1623.
- 54) Russell RW., Lolley JR. (1989). Deactivation of tannin in high tannin milo by treatment with urea. *J. Dairy Sci.* 72: 2427-2430.
- 55) Simpson EJ. Jr., Schake LM., Pflugfelder RL., Riggs JK. (1985). Evaluation of moisture uptake, aerobic and anaerobic phases of reconstitution upon sorghum grain digestibility and performance of steers. *J. Anim. Sci.* 60: 877 - 882.
- 56) Streeter MN., Wagner DG., Hibberd CA., Mitchell ED., Oltjen JW. (1990). Effect of variety of sorghum grain on digestion and availability of dry matter and starch *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 29: 279-287.

- 57) Sullins RD., Rooney LW., Riggs JK. (1971). Physical changes in the kernel during reconstitution of sorghum grain. *Cereal Chem.* 48: 567-575.
- 58) Taniguchi K., Huntington GB., Glen BP. (1995). Net nutrient flux by visceral tissues of beef steers given abomasal and ruminal infusion of casein and starch. *J. Anim. Sci.* 73:236.
- 59) Theurer CB. (1986). Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 63: 1649-1662.
- 60) Tonroy BR., Perry TW., Beeson WM. (1974). Dry, ensiled high-moisture, ensiled reconstituted high-moisture and volatile fatty acid treated high moisture corn for growing-finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 39: 931-936.
- 61) Torterolo M., Curbelo A., Cajarville C., Repetto JL., Aguerre M. (2012). Silage process affects chemical composition and digestion site in high moisture sorghum grain. *J. Anim. Sci.* 90 (Suppl. 3): 201.
- 62) Van Soest PJ. (1994). Carbohydrates. In: *Nutritional ecology of the ruminant* (2<sup>a</sup> Ed). Ithaca, Cornell Univ. Press, NY. 476pp.
- 63) Walker RD., Lichtenwalner RE. (1977). Effect of reconstitution on protein and digestibility of waxy sorghum. *J. Anim. Sci.* 44: 843-849.
- 64) Waniska RD. (2000). Structure, phenolic compounds, and antifungal proteins of sorghum caryopses. *Technical and Institutional Options for Sorghum Grain Mold Management. Proceeding of an International Consultation, 18-19 May 2000, ICRISAT, Patancheru, India.* p. 72-106.