

## MANIPULACION DE LA FERMENTACION EN ENSILAJES DE CAÑA DE AZUCAR Y SU VALOR ALIMENTICIO PARA BORREGOS<sup>1</sup>

MARTA VIANA CASTRILLÓN<sup>2,3</sup>  
ARMANDO S. SHIMADA<sup>3</sup>  
FERNANDO MANUEL CALDERÓN<sup>3</sup>

### Resumen

Se efectuaron 3 experimentos con objeto de estudiar el efecto de adicionar NaOH y/o marchitar al momento de ensilar caña de azúcar, en el crecimiento, el consumo voluntario y la fermentación ruminal de ovinos. En el primero, con 16 borregos Tabasco de 28.4 kg, la adición de 4% de NaOH permitió una mayor ganancia diaria de peso ( $P \leq 0.05$ ) (64 vs. 31 g) y un mayor consumo voluntario de caña (458 vs. 364 g diarios) ( $P \leq 0.01$ ) respecto al testigo. En el segundo experimento, con 24 borregos Merino de 20.5 kg, la adición de NaOH resultó en un mayor consumo voluntario (687 y 739 vs. 345 y 401 g) y permitió un aumento significativo en ganancia diaria de peso (133 y 127 vs. 86 y 98 g) ( $P \leq 0.05$ ); no se observó efecto del marchitado.

En el tercer experimento, la producción de ácido propiónico en rumen fue significativamente mayor en los animales consumiendo ensilaje de caña de NaOH, lo que permite pensar que las diferencias en aumento de peso de los experimentos 1 y 2 fueron resultado no solamente de la mayor cantidad de silo consumido, sino también del mayor porcentaje de ácido propiónico producido en el rumen.

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es la base de la principal agroindustria del país, siendo la zafra anual superior a los 30 millones de toneladas. Sin embargo, por diversos motivos, no toda la caña cultivada se cosecha, habiendo ascendido este renglón a 800,000 toneladas para la zafra 1977-1978.

Una posibilidad de aprovechamiento de la caña "parada" podría ser como fuente de forraje para el ganado, para lo cual tendría que ser cosechada rápidamente, para así desocupar la tierra y permitir el

nuevo crecimiento de las plantas; el material cosechado tendría que ser preservado, siendo posiblemente el proceso de ensilaje el método más adecuado de conservación para este forraje.

Uno de los inconvenientes al ensilar caña de azúcar lo constituye el tipo de fermentación que se produce, ya que debido a su alto contenido en azúcares solubles, así como a la presencia de levaduras que se encuentran como contaminantes normales de la caña, ocurre una fermentación espontánea en la que se metaboliza el azúcar a alcohol (Ohyama y Hara, 1975). De los trabajos de Tufinio, Calderón y Shimada (1978), se desprende que sustancias alcalinas como el NaOH son capaces de modificar el proceso fermentativo del ensilaje. Probando diferentes concentraciones de álcali llegaron a la conclusión de que el 4% de NaOH en base seca resultó ser satisfactoria, dado que la fermentación alcohólica se deprimió; hubo un aumento en la producción de ácido láctico, diez veces más en relación al testigo sin aditivo; en el análisis de fracciones de fibra se observó una reducción de la hemicelulosa y la digestibilidad *in vitro* fue más alta.

Recibido para su publicación el 12 de enero de 1979.

<sup>1</sup> Trabajos efectuados dentro del programa "Producción de Carne y Leche a partir de la Caña de Azúcar", auspiciado por el International Development Research Centre de Canadá, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México.

<sup>2</sup> Parte de la información contenida en este escrito fue presentada por el primer autor, como tesis de licenciatura en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>3</sup> Departamento de Nutrición Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Apartado Postal 41-652, México 10, D.F.

Se planeó al presente trabajo con el fin de estudiar la respuesta en comportamiento y patrones de fermentación ruminal de borregos, a la adición de NaOH al ensilar caña de azúcar; se probaron también dos niveles de humedad de la caña al momento de ser ensilada, con y sin NaOH añadido.

### Material y métodos

Los experimentos que a continuación se describen fueron llevados a cabo en la Unidad Central del INIP, en Palo Alto, D.F.

#### Ensilajes experimentales

La caña de azúcar empleada en el experimento 1 fue de la variedad CO-419, de 13 meses de edad, proveniente de Casimiro Castillo, Jalisco; para los experimentos 2 y 3 se empleó la variedad CP-29-203, de 11 meses de edad y se adquirió en Yautepec, Morelos. El forraje fue picado en un molino tipo Chetumal y cada tratamiento experimental fue preparado en silos con capacidad de 6 ton cada uno y destapado después de 45 días para efectuar las pruebas biológicas.

Para el experimento 1 se prepararon 2 silos; el primero sin aditivo; el segundo agregando a la caña una solución saturada de NaOH, hasta obtener una relación de 96:4 en base seca.

Los tratamientos en los experimentos 2 y 3 fueron: dos de caña recién cortada (71.13% de humedad, uno sin aditivos y otro con 4% de NaOH según se indicó con anterioridad) y dos de caña marchitada al sol durante cinco días (61.80% de humedad, uno sin aditivo y otro con 4% de NaOH).

Los ensilajes fueron analizados para determinar su contenido de humedad por arrastre por tolueno, pH, ácido láctico, etanol, nitrógeno total, nitrógeno no proteico y fracciones de fibra (AOAC, 1975; Van Soest, 1963; Van Soest y Wine, 1967, 1968).

#### Pruebas biológicas

Se efectuaron tres experimentos, dos pruebas de crecimiento y una de patrones de fermentación ruminal, con borregos ma-

chos, castrados y desparasitados. Los animales fueron alojados en corraletas con piso de cemento, provistos de comedero y bebedero de pila; los animales fueron pesados previo ayuno de 18 h, al inicio de los estudios y cada 21 días hasta la finalización de las pruebas. Todos los animales fueron vitaminados parenteralmente (A, D, E) y recibieron sal mineralizada a libre consumo.

*Experimento 1.* Diez y seis borregos Tabasco con un peso promedio inicial de 28.4 kg, se distribuyeron por pares en un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones. El ensilaje de caña se ofreció a libertad, suplementado con 125 g diarios de pulido de arroz por animal. La duración del estudio fue de 42 días.

*Experimento 2.* Se efectuó con 24 borregos Merino de 20.5 kg, los que se distribuyeron por pares en un diseño completamente al azar con tres repeticiones en un arreglo factorial  $2 \times 2$  (silo sin vs. con NaOH; ensilado fresco vs. marchitado). Se les proporcionó ensilaje de caña a libertad y para llenar los requerimientos de los animales según el NRC (1975), se les proporcionaron a cada borrego 500 g diarios de un suplemento de sorgo con 7% de urea. La prueba tuvo una duración de 63 días.

*Experimento 3.* Se llevó a cabo una prueba de patrones de fermentación ruminal con 4 borregos Pelibuey, fistulados ruminalmente, con un peso promedio inicial de 31.6 kg. El diseño utilizado fue un cuadro latino  $4 \times 4$ , en un arreglo factorial  $2 \times 2$ . El ensilaje de caña se ofreció *ad libitum*, adicionándose además 30 g diarios de urea por animal, para llenar los requerimientos de nitrógeno de los borregos (NRC, 1975). Cada ensilaje fue proporcionado durante 4 períodos de 21 días cada uno; durante los últimos 5 días de cada período, se extrajeron 20 ml diarios de líquido ruminal, a los que se agregó 1 ml de una solución saturada de HgCl. Las muestras fueron congeladas hasta su análisis. Para efectuar este último, las 5 muestras por borrego por período, fueron mezcladas, tomándose entonces una alícuota única, la cual fue pro-

cesada según el método descrito por Cathyn y Boucque (1968), en un cromatógrafo de gases Varian modelo 1800.

Toda la información numérica obtenida fue procesada estadísticamente por medio de análisis de varianza (Steel y Torrie, 1960).

### Resultados y discusión

Algunas de las características composicionales de los ensilajes de caña de azúcar empleados en los tres experimentos se muestran en el Cuadro 1.

En general, el pH tendió a ser superior en aquellos silos que se prepararon con NaOH. El contenido de ácido láctico de los tratamientos con álcali fue superior, mientras que la cantidad de etanol disminuyó en estos mismos silos, lo cual concuerda con la información presentada con anterioridad por Tufinio, Calderón y Shimada (1978); aparentemente, al incrementar el pH del medio al momento de ensilar, se favorece la producción de lactobacilos a costa del crecimiento de levaduras,\* lo que se tradujo en el tipo de metabolito producido.

El contenido de nitrógeno, cenizas y fracciones de fibra de los ensilajes empleados en los experimentos 2 y 3 se muestra en el Cuadro 2.

La proteína y el nitrógeno no proteico fueron similares en los 4 tratamientos, mientras que la cantidad de cenizas totales se incrementó al adicionarse al álcali.

Las diferencias en las fracciones de fibra parecen reflejar una reducción en la hemicelulosa, la celulosa y la lignina, las cuales disminuyeron al adicionar el NaOH, fenómeno probablemente similar a aquel que ocurre al tratar pajas y rastrojos con dicho agente químico (Klopfenstein *et al.*, 1972).

*Experimentos 1 y 2.* Los resultados de las pruebas de comportamiento se muestran en los Cuadros 3 y 4, respectivamente, y dado que las tendencias fueron similares, se discuten en conjunto. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en ganancia de peso, en consumo de alimento y en conversión alimenticia (consumo de en-

silaje/ganancia) entre los animales recibiendo ensilajes tratados con NaOH con respecto a aquellos que recibieron los no tratados, independientemente del grado de humedad de la caña al momento de ser ensilada; no se observó interacción significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los factores estudiados.

El consumo voluntario fue superior en el caso de los ensilajes tratados con NaOH, lo que quizás se haya debido a la disminución en la concentración del alcohol, el cual es sabido que disminuye el apetito en otras especies (Lieber, 1976). Por otro lado, aunque en estos experimentos no se midieron los ácidos grasos volátiles presentes en el silo, información proveniente de otros autores (Tufinio, Calderón y Shimada, 1978) indica una reducción en el contenido de ácido acético al adicionar NaOH (0.806 vs. 0.016%, para caña ensilada sin y con NaOH, respectivamente) y algunos investigadores sostienen que los niveles elevados de ácido acético en el alimento son depresores del apetito (Baile y Forbes, 1974). La menor ganancia diaria de peso de los borregos alimentados con caña ensilada sin NaOH, parece estar relacionada con el bajo consumo voluntario del forraje, ya que éste fue hasta el 50% en relación a los otros grupos.

Los resultados de conversión alimenticia fueron distintos de experimento a experimento. En el primero de ellos, se observó una diferencia significativa ( $P \leq 0.01$ ) en favor del silo con NaOH, mientras que en el segundo estudio, la diferencia ( $P \leq 0.05$ ) favoreció al silo sin aditivo. Esta discrepancia pudo haber sido reflejo de la cantidad de suplemento ofrecido, ya que en el experimento 1, el pulido de arroz constituyó alrededor del 23% de la materia seca consumida, mientras que en el experimento 2 el sorgo suplementado aportó alrededor del 57 y 41% de la materia seca de los tratamientos sin y con NaOH, respectivamente. En otras palabras, el primer estudio permitió enfatizar más la diferencia entre silos debido a que éstos aportaron un mayor porcentaje de la ingesta.

Dentro de cada experimento, todos los animales, independientemente del tipo de

\* G.J. Gómez y G. Viniegra-González (comunicación personal).

CUADRO 1

## Algunas características composicionales de ensilajes de caña de azúcar

	Experimento 1		Experimentos 2 y 3			
	Caña fresca		Caña fresca		Caña marchitada	
	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH
Humedad, % <sup>a</sup>	75.05	72.75	70.10	71.14	60.10	60.15
pH	4.12	4.41	4.40	6.61	4.01	7.41
Acido láctico, mg%	1.60	12.15	2.10	10.20	2.14	12.10
Etanol, mg % <sup>b</sup>	...	...	5.10	0.85	5.30	0.91

<sup>a</sup> Determinado por arrastre por tolueno.

<sup>b</sup> En el experimento 1, no se determinó etanol.

silo empleado, recibieron diariamente un mismo suplemento, por lo que tomando a estos últimos como factor común, en cada estudio, las diferencias observadas podrían ser atribuibles a los ensilajes. En todos los casos, las ganancias de peso de aquellos animales que recibieron silos tratados con álcali, aunque superiores a los grupos que recibieron ensilajes sin aditivo, fueron menores a los esperados (NRC, 1975); aparentemente los ensilajes y los suplementos empleados en las cantidades ofrecidas, no aportaron los precursores metabólicos suficientes para la síntesis de proteína microbiana (Hobson, 1976) y/o los nutrientes

sobre pasantes para el aprovechamiento directo por el animal (Weller, Pilgrim y Gray, 1962).

*Experimento 3.* Los resultados de este trabajo se presentan en el Cuadro 5. La producción ruminal de ácidos grasos volátiles se afectó significativamente por la adición de NaOH a la caña al momento de ensilar. La concentración de ácido acético (milimoles/100 ml de líquido ruminal) aumentó en forma significativa ( $P < 0.10$ ) debido al efecto del marchitado; no se observó efecto del NaOH ni de interacción ( $P > 0.05$ ). Para el ácido propiónico se

CUADRO 2

## Nitrógeno, cenizas y fracciones de fibra en ensilajes de caña de azúcar, experimento 2

	Caña fresca		Caña marchitada	
	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH
Proteína (N × 6.25), %	3.32	3.30	3.17	3.55
Nitrógeno no proteico, %	0.22	0.21	0.22	0.18
Cenizas, %	7.35	11.57	6.97	12.42
Cenizas insolubles, %	3.70	2.95	4.02	3.67
Fibra neutro detergente, %	65.27	58.16	59.18	57.66
Hemicelulosa, %	16.37	12.49	14.83	13.71
Contenido celular, %	34.73	41.84	40.82	42.34
Fibra ácido detergente, %	48.90	45.67	44.35	43.95
Celulosa, %	35.98	34.37	32.66	30.57
Lignina, %	9.60	8.50	8.23	7.38

CUADRO 3

Respuesta de borregos Tabasco a la alimentación con ensilaje de caña de azúcar, sin y con NaOH. durante 42 días, experimento 1

	Ninguno	Aditivo NaOH
Núm. de animales	8	8
Peso inicial, kg	27.1 ± 1.51 <sup>a</sup>	29.7 ± 2.61 <sup>a</sup>
Ganancia diaria, g	31 ± 20 <sup>a</sup>	64 ± 08 <sup>b</sup>
Consumo diario, g base seca		
Ensilaje	364 ± 43 <sup>c</sup>	458 ± 37 <sup>d</sup>
Pullido de arroz	125 <sup>a</sup>	125 <sup>a</sup>
Conversión (consumo de silo/ganancia)	11.74 <sup>c</sup>	7.16 <sup>d</sup>

<sup>a, b</sup> Para cada parámetro, valores con distinta literal con diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>c, d</sup> Diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ).

observó un incremento significativo con la adición de NaOH ( $P < 0.02$ ); el marchitado ejerció un efecto significativo, aumentando la concentración de este metabolito ( $P < 0.05$ ); la interacción entre ambos factores mencionados fue también significativa ( $P < 0.05$ ). En cuanto al ácido butírico, no se observaron efectos significativos en ninguno de los casos ( $P > 0.05$ ). La concentración total de ácidos grasos volátiles fue mayor para los líquidos ruminales provenientes de aquellos animales con ensilaje de caña marchitada ( $P < 0.10$ ), no siendo el caso para el factor álcali ni para la interacción ( $P > 0.05$ ). Los datos del efecto de marchitado concuerdan con lo observado por otros autores, en el sentido de que tanto la concentración total de ácidos grasos volátiles, como algunos de ellos en particular, aumenta con este proceso (Wilkinson, Wilson y Barry, 1976). El efecto del NaOH sobre el silo y su influencia en la concentración de ácido propiónico, pudo haberse debido a que dichos ensilajes contenían una mayor cantidad de ácido láctico, que es precursor de propionato (Annison y Armstrong, 1970). Los porcentajes molares de ácido acético al tratar la caña fueron disminuidos significativamente ( $P < 0.10$ ); en este parámetro no se observó efecto ni del marchitado ni de la interacción ( $P > 0.05$ ). El ácido propiónico del líquido ruminal proveniente de

animales alimentados con ensilajes tratados con NaOH fue estadísticamente superior ( $P < 0.05$ ), no existiendo diferencia por efecto de marchitado ni por la interacción ( $P > 0.05$ ). Para el ácido butírico no se observó ningún efecto significativo ( $P > 0.05$ ). Los datos de porcentaje molar parecen indicar que la producción de propionato se efectuó a expensas de acetato, lo que explica la disminución significativa en el porcentaje molar del último.

La mayor cantidad de ácido propiónico del rumen de los borregos que consumieron caña tratada podría complementar la explicación sobre el mejor comportamiento de los animales de los experimentos 1 y 2, que consumieron el forraje con álcali, pues generalmente se reconoce que niveles más altos de ácido propiónico se traducen en mayores ganancias de peso de los animales (Annison y Armstrong, 1970).

### Summary

Three experiments were conducted to study the effect of adding 4% NaOH (on a dry matter basis) and/or wilting sugarcane before ensiling, on growth, voluntary intake and rumen fermentation patterns of sheep. On the first, with sixteen 28.4 kg Tabascos, the addition of NaOH resulted in higher (64 vs. 31 g) daily weight gains ( $P <$

CUADRO 4

Comportamiento de borregos Merino alimentados con ensilaje de caña de azúcar, fresca o marchitada, sin y con NaOH, durante 63 días, experimento 2

	Caña fresca		Caña marchita	
	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH	Aditivo Ninguno	Aditivo NaOH
Núm. de animales	6	6	6	6
Peso inicial, kg	19.9 ± 2.67 <sup>a</sup>	20.9 ± 1.56 <sup>a</sup>	18.8 ± 1.66 <sup>a</sup>	22.3 ± 1.56 <sup>a</sup>
Ganancia diaria, g	86 ± 15 <sup>a</sup>	133 ± 12 <sup>b</sup>	98 ± 06 <sup>a</sup>	127 ± 27 <sup>b</sup>
Consumo diario, g base seca				
Ensilaje	345 ± 132 <sup>a</sup>	687 ± 248 <sup>b</sup>	401 ± 100 <sup>a</sup>	739 ± 329 <sup>b</sup>
Sorgo	500 <sup>a</sup>	500 <sup>a</sup>	500 <sup>a</sup>	500 <sup>a</sup>
Conversión (consumo de silo/ganancia)	4.01 <sup>a</sup>	5.17 <sup>b</sup>	4.09 <sup>a</sup>	5.82 <sup>b</sup>

a, b Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ).

CUADRO 5

Producción de ácidos grasos volátiles (AGV) en borregos alimentados con ensilaje de caña fresca o marchitada, sin o con la adición de NaOH, experimento 3

Caña Aditivo	F r e s c a		M a r c h i t a d a	
	Ninguno	NaOH	Ninguno	NaOH
AGV, milimoles, %				
Acetato	5.71 ± 2.46 <sup>a</sup>	5.04 ± 1.69 <sup>a</sup>	8.52 ± 2.85 <sup>b</sup>	8.43 ± 4.33 <sup>b</sup>
Propionato	0.94 ± 0.47 <sup>c, e</sup>	1.34 ± 0.48 <sup>c, f</sup>	1.10 ± 0.25 <sup>d, e, g</sup>	2.07 ± 0.40 <sup>d, f, g</sup>
Butirato	0.59 ± 0.38 <sup>h</sup>	0.69 ± 0.56 <sup>h</sup>	0.46 ± 0.30 <sup>h</sup>	0.82 ± 0.36 <sup>h</sup>
TOTAL	7.24 ± 3.15 <sup>a</sup>	7.07 ± 2.54 <sup>a</sup>	10.03 ± 3.22 <sup>b</sup>	11.82 ± 3.96 <sup>b</sup>
AGV, % molar				
Acetato	79.0 ± 5.28 <sup>a</sup>	72.2 ± 6.90 <sup>b</sup>	83.4 ± 3.69 <sup>a</sup>	72.1 ± 8.50 <sup>b</sup>
Propionato	12.7 ± 0.80 <sup>c</sup>	19.3 ± 6.07 <sup>d</sup>	11.1 ± 4.20 <sup>c</sup>	20.3 ± 6.90 <sup>d</sup>
Butirato	8.3 ± 4.84 <sup>h</sup>	8.5 ± 3.94 <sup>h</sup>	5.5 ± 0.98 <sup>h</sup>	7.6 ± 2.33 <sup>h</sup>

<sup>a, b</sup> Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.10$ ).

<sup>c, d</sup> Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>e, f, g</sup> Valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.02$ ).

<sup>h</sup> Interacción significativa ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>h</sup> Diferencias no significativas ( $P \leq 0.05$ ).

0.05) and daily silage consumption (458 vs. 364 g) ( $P < 0.01$ ) as compared with the untreated control. On the second, with twenty four 20.5 kg Merinos, addition of NaOH resulted in higher intakes (687 and 739 vs. 345 and 401 g) and weight gains (133 and 127 vs. 86 and 98 g) ( $P < 0.05$ ); however, wilting had no effect. On

the third experiment, rumen propionate was significantly higher in animals on NaOH treated silage, which could lead to the conclusion that the performance data from experiments 1 and 2 could be due not only to the differences in the amounts of silage consumed, but to the higher percentage of propionate produced within the rumen.

#### Literatura citada

- ANNISON, E.F. and D.G. ARMSTRONG, 1970, Volatile fatty acid metabolism and energy supply. En: Philipson, A.T., *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, Oriel Press, Newcastle, England, pp. 422-437.
- A.O.A.C., 1975, Official Methods of Analysis, 12th ed. *Association of Official Agricultural Chemists*, Washington, D.C., E.U.A.
- BAILE, C.A. and J.M. FORBES, 1974, Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants, *Physiol. Rev.*, 54:160.
- CATHYN, B.G. and C.U. BOUCQUE, 1968, Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid, *J. Agric. Food Chem.*, 16:105.
- HOBSON, P.N., 1976, The Microflora of the Rumen, *Patterns of Progress*, Meadowfield Press Ltd., Durham, Inglaterra.
- KLOPFENSTEIN, T.J., V.E. KRAUSE, M.J. JONES and W. WOODS, 1972, Chemical treatments of low quality roughages, *J. Anim. Sci.*, 35:418.
- LIEBER, C., 1976, Metabolism of alcohol, *Scientific Amer.* 234:3.
- N.R.C., 1975, Nutrient Requirements of Sheep, *National Research Council, National Academy of Sciences*, 5th ed., Washington, D.C.
- OHYAMA, Y. and S. HARA, 1975, Growth of yeasts isolated from silages on various media and its relationship to aerobic deterioration of silage, *Jap. J. Zoot. Sci.*, 4:713.
- STEEL, R.G. and J.H. TORRIE, 1960, *Principles and Procedures of Statistics*, McGraw-Hill Book Co., New York, E.U.A.
- TUFINIO, S., F. CALDERÓN y A.S. SHIMADA, 1978, Efecto de la adición de hidróxido de sodio al ensilar caña de azúcar en su composición, Resúmenes de la 2ª Reunión Internacional de la Caña de Azúcar en la Alimentación Animal, Oaxtepec, Morelos, Méx.
- VAN SOEST, P.J., 1963, Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. Rapid methods for the determination of fiber and lignin, *J. Assoc. Official Anal. Chem.* 4:829.
- VAN SOEST, P.J. and R.H. WINE, 1967, Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV. the determination of plant cell-wall constituents, *J. Assoc. Official Anal. Chem.*, 50:50.
- VAN SOEST, P.J. and R.H. WINE, 1968, Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate, *J. Assoc. Official Anal. Chem.*, 51:780.
- WELLER, R.A., A.F. PILGRIM and F.V. GRAY, 1962, Digestion of foodstuffs in the rumen of sheep and the passage of digesta through its compartments. 3. The progress of nitrogen digestion, *Brit. J. Nutr.*, 16:83.
- WILKINSON, J.M., R.F. WILSON and T.N. BARRY, 1976, Factors affecting the nutritive value of silage, *Outlook Agr.*, 9:3.