

Composición química de ensilajes mixtos de gramíneas y especies arbóreas de Yucatán, México

Chemical composition of grass and forage trees mixed silages

José Valentín Cárdenas Medina^a, Carlos Alfredo Sandoval Castro^a, Francisco Javier Solorio Sánchez^a

RESUMEN

Se llevó a cabo un experimento para determinar la calidad y el valor nutritivo de ensilajes mixtos (gramínea y especies arbóreas) utilizando pasto Taiwán 144-A (*Pennisetum purpureum*), cuatro especies arbóreas (*Guazuma ulmifolia*, *Piscidia piscipula*, *Lisyloma latisiliquum*, *Albizia lebeck*) y una mezcla de las cuatro especies, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Las especies arbóreas fueron incluidas al 15, 30 y 45 % del peso en fresco del forraje picado, adicionando todos los ensilajes con un 4 % de melaza diluida 1:1 con agua, utilizando microsilos de plástico de 1.8 l de capacidad, los cuales fueron abiertos a los 90 días. El ensilaje de pasto fungió como testigo (0 %). Se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre los ensilajes testigo y el promedio de los ensilajes mixtos para ácido láctico (4.5 vs 5.0 %), energía metabolizable (9.4 vs 7.7 MJ/kg materia seca), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (63.9 vs 52.4 %) y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (64.9 vs 53.1 %); pero no para materia seca (27.8 vs 27.9 %), PC (7.2 vs 8.6 %), pH (3.88 vs 3.87), nitrógeno amoniacal/nitrógeno total (7.5 vs 7.8 %), ácido acético (3.3 vs 2.9 %) y ácido butírico (1.0 vs 0.4 %). Se concluye que el uso de árboles forrajeros para la elaboración de ensilajes a base de gramíneas tropicales mejora la calidad, pero no el valor nutritivo de los ensilajes. La variación en la composición química de los ensilajes depende de la proporción (pasto/árbol) de cada uno de los ingredientes de las mezclas.

PALABRAS CLAVE: Ensilaje, Calidad, Valor nutritivo, Producción de gas *in vitro*, Árboles forrajeros.

ABSTRACT

An experiment was carried out to assess the nutritional value and quality of silages prepared from different combinations of grass and forage trees. Taiwan grass 144-A (*Pennisetum purpureum*) and four forage trees (*Guazuma ulmifolia*, *Piscidia piscipula*, *Lisyloma latisiliquum*, *Albizia lebeck*) and a combination of the four trees were tested in a randomized design with factorial arrangement. Forage trees were included in the silage at 15, 30 and 45 % w/w fresh grass weight. Sugarcane molasses 4 % diluted in water (1:1 w/v) was added to ensure an adequate fermentation. Micro silages were prepared in 1.8 l plastic containers and opened after 90 d. Grass silage (0 % tree) was used as control. Differences were found ($P < 0.05$) between grass silage and silages containing trees for lactic acid concentration (4.5 vs 5.0 %), metabolizable energy (9.4 vs 7.7 MJ/Kg dry matter), *in vitro* dry matter (63.9 vs 52.4 %) and organic matter digestibility (64.9 vs 53.1 %). No differences were found ($P > 0.05$) for silage DM (27.8 vs 27.9 %), CP (7.2 vs 8.6 %), pH (3.88 vs 3.87), ammonia nitrogen/total nitrogen (7.5 vs 7.8 %), acetic acid (3.3 vs 2.9 %) and butyric acid (1.0 vs 0.4 %). It can be concluded that the inclusion of forage trees in tropical grass silages improves their quality but not their nutritive value. Differences in the chemical composition of these silages reflect variations in the proportion of each ingredient (% grass/tree).

KEY WORDS: Silage quality, Nutritive value, *In vitro* gas production, Forage trees.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas fundamentales de la alimentación de los rumiantes en el trópico radica en que la calidad de los forrajes tiende a poseer

INTRODUCTION

One of the main problems that affect ruminant feeding in the tropics is forage quality, on which a low nitrogen (N) content and high lignification,

Recibido el 29 de noviembre de 2002 y aceptado para su publicación el 25 de abril de 2003.

^a Departamento de Nutrición Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Apdo. 4-116 Itzimmá; 97100, Mérida, Yucatán, México. ccastro@tunku.uady.mx. Correspondencia y solicitud de separatas al segundo autor.

muy bajos niveles de nitrógeno (N), con altos niveles de lignificación, lo cual interfiere con la digestibilidad del material y, por ende, con el aprovechamiento que los animales pueden alcanzar de esos forrajes⁽¹⁾. Aunado a esto está la estacionalidad, que tiene una importante influencia en la disponibilidad y calidad de los pastos, ya que de manera general las gramíneas tropicales presentan un mayor valor nutritivo en la época lluviosa.

Entre las alternativas utilizadas está la del ensilaje de forraje durante las lluvias para utilizarlo luego en la sequía. En condiciones tropicales, donde el crecimiento del pasto es exuberante durante la época de lluvias, no practicar la conservación de alimentos implica desaprovechar los excedentes de pastos, que oscilan de un 25 a un 80 %⁽²⁾. Sin embargo, estos ensilajes normalmente se elaboran con gramíneas tropicales que presentan bajos contenidos de proteína, contienen un alto nivel de fibra y poca presencia de carbohidratos solubles, lo que afecta la fermentación y da como resultado un material de baja calidad⁽³⁾. Las especies arbóreas, leguminosas y no leguminosas han tomado parte importante en la alimentación de los rumiantes, por lo que se han realizado estudios para incorporarlas a los ensilajes⁽⁴⁾, ya que su follaje podría ser utilizado en ensilajes tropicales como una forma de adicionar proteína.

La tendencia a utilizar el follaje de árboles forrajeros para la producción animal ha estado vigente en los últimos años, y ha cobrado mucha importancia debido a que éstos presentan mejores características nutritivas en cuanto a su potencial de producción de nutrientes, altos niveles de PC, así como minerales; aunado a esto se puede considerar también su capacidad de producir aún en época de sequía; sin embargo, esta tecnología ha sido poco aceptada por los pequeños y medianos productores, debido a que al ser manejadas en un sistema de corte y acarreo presentan una desventaja para el productor, ya que requiere trabajo y mano de obra extra, y por lo tanto la práctica no es llevada a cabo de manera común.

Por otro lado la idea utilizar el follaje de árboles forrajeros a manera de suplemento para la

have an effect. All this interferes with their digestibility and therefore with the benefit animals can obtain from them⁽¹⁾. Also, season exerts a marked influence on forage availability and quality, because, tropical grasses usually show a greater nutritive value in the rainy season.

Among different available alternatives, silage prepared in the rainy season for use in the dry period is a valid one. In tropical conditions, in which forage growth is generally exuberant in the rainy season, not conserving forages implies a complete loss of surplus production, which varies between 25 and 80 %⁽²⁾. However, silages are usually prepared with grasses showing a low protein and high fiber content, and also a small amount of soluble carbohydrates that affect fermentation, all of which results in a poor quality product⁽³⁾. Tree species, legumes and non legumes alike, day after day become more important as a feed resource for ruminants, and because of this, several studies have been carried out on the possibility of their inclusion in silage preparation in the tropics⁽⁴⁾, because their foliage could be used as an additional protein source.

A trend to use forage tree foliage in animal production has been seen evident lately, and has become more important because trees show better nutritional characteristics due to their potential nutrient yields, high crude protein and minerals contents and drought resistance. However this technology has not been fully adopted by small and medium sized producers because, when use in cut and carry systems, its adoption implies extra labor costs and time.

Thus, the idea of using forage tree foliage as a supplement in tropical grasses conservation, provides an answer to the need to correct their nutrients deficiencies, and therefore the inclusion of forage tree foliage in certain proportions allows to somehow diminish the need for cutting and transportation, and also to limit this task to a definite season in which silage can be prepared and that can be predetermined by the individual producer, in accordance with the method and technology he adopts.

conservación de gramíneas tropicales, responde a la necesidad de tratar de corregir las deficiencias de nutrientes que presentan los pastos en estas regiones; por lo tanto, al ser incluidos en proporciones determinadas en el ensilaje, se puede disminuir de cierta manera el trabajo de corte y acarreo, y se puede limitar a una época predeterminada de corte y ensilado según el método y la tecnología de ensilado que el productor determine.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de árboles forrajeros en la elaboración de ensilajes a base de gramíneas tropicales como una alternativa para la alimentación de rumiantes en el trópico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente experimento se llevó a cabo en las instalaciones del departamento de nutrición animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), con clima Aw0⁽⁵⁾, una precipitación promedio anual de 953 mm y temperatura media anual de 26.5 °C, en el período comprendido entre julio y diciembre de 2001.

Se llevó a cabo la elaboración de microsilos utilizando como base el pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*, var. Taiwán 144 A) con inclusión de especies arbóreas y la mezcla de las mismas, utilizando melaza como aditivo para suministrar carbohidratos solubles. Las especies utilizadas fueron: Pixoy (*Guazuma ulmifolia*), Tzalam (*Lisyloma latisiliquum*), Jabín (*Piscidia piscipula*), y Algarrobo (*Albizia lebeck*) y una mezcla que se obtuvo combinando las cuatro especies en partes iguales.

Cada especie arbórea y la mezcla se incluyeron en tres diferentes proporciones (a razón de 15, 30 y 45 %) teniendo como base al Taiwán. El tratamiento testigo fue elaborado únicamente con pasto Taiwán. La melaza se utilizó como aditivo en todos los tratamientos a razón de 4 % sobre el total de la mezcla del forraje, y fue diluida en agua en una proporción 1:1. Se evaluaron 16 tratamientos con cinco réplicas (microsilos).

The object of the present study was to assess the inclusion of forage trees foliage in the preparation of tropical grasses silages as a valid alternative for feeding ruminants in the tropics.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was carried out at the premises of the Department of Animal Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), between July and December 2001. Climate of the locality can be characterized as Aw0⁽⁵⁾, with a 953 mm annual average rainfall and a 26.5 °C average mean temperature.

Microsilages based on Taiwan Grass (*Pennisetum purpureum*, var Taiwan 144-A), pure and mixed with different forage tree foliages and molasses were prepared. Molasses was added to provide soluble carbohydrates to assist in fermentation. Foliage of the following forage tree species were tested, "Pixoy" (*Guazuma ulmifolia*), "Tzalam" (*Lisyloma latisiliquum*), "Jabín" (*Piscidia piscipula*) and "Algarrobo" (*Albizia lebeck*), either individually or as a combination of equal parts of all species, mixed to Taiwan Grass and molasses at different proportions.

Each tree species and the mixture were included at 15, 30 or 45 % to the Taiwan Grass base. Zero percent forage tree foliage (100 % Taiwan Grass) was used as control. Molasses diluted 1:1 in water at 4 % of total forage was added to all treatments as an additive. In all 16 treatments (microsilages), in five replications were assessed.

Fertilized and irrigated Taiwan Grass, was hand cut with a machete, at two months regrowth with a 1.80 to 2.00 m height. Tree species, rainfed without fertilization, were cut in different predetermined areas, taking care that harvested branches were less than 1 cm in diameter. After cutting, forages were chopped by means of a mechanical chopper.

Once forages were chopped, and molasses diluted, different mixtures were made for each treatment. Silages were prepared in 1.8 l plastic containers

El pasto Taiwán, que se encontraba en condiciones de riego y fertilización, se cosechó de manera manual con un machete, a una edad de rebrote aproximada de dos meses, con una altura de 1.8 a 2.0 m. Las especies arbóreas fueron cortadas en diferentes áreas predeterminadas, y se encontraban bajo condiciones de temporal y sin fertilización; la cosecha se llevó a cabo de manera manual, procurando que los tallos de las ramas tuvieran un grosor no mayor a 1 cm. Posterior al corte, los forrajes se molieron con una picadora mecánica, procurando conseguir un tamaño de partícula de 0.5 a 3.0 cm.

Una vez picados los forrajes y diluida la melaza, se hicieron las mezclas para obtener los tratamientos mencionados; posteriormente se procedió al ensilado del material, el cual se llevó a cabo en frascos de plástico de boca ancha con capacidad para 1.8 l (microsilos), los cuales se adaptaron colocándoles una válvula en la tapa, a manera de trampa de escape para los gases producidos por la fermentación⁽⁶⁾. Una vez llenados los microsilos, se cerraron herméticamente y se almacenaron para su posterior apertura.

Los microsilos fueron abiertos y analizados a los 90 días de su elaboración. Para los análisis químicos, al material ensilado se le tomaron submuestras, las cuales se almacenaron a 15 °C en frascos para su posterior análisis en el laboratorio: a) la materia seca (MS), se determinó por desecación en estufa a 100 °C por 48 h⁽⁷⁾, y en el caso de los ensilajes se realizó la corrección mediante la adición del peso de los ácidos grasos volátiles (AGV's) analizados; b) se determinó la proteína cruda (PC, N*6.25) y nitrógeno amoniacal (% N-NH₃/NT), el nitrógeno por método Kjeldahl⁽⁸⁾, en muestras de ensilaje seco y molido para el caso de PC y en material fresco y homogenizado para N-NH₃; c) el porcentaje de taninos condensados se midió por medio de espectrofotometría⁽⁹⁾; d) el pH, por medio de un potenciómetro (Orion, modelo 290) con electrodo de vidrio a partir del material fresco y macerado⁽¹⁰⁾; e) la proporción molar de ácido láctico (AL) y ácidos grasos volátiles (ácido acético (AA) y ácido butírico (AB)) se midió en un cromatógrafo de

and an exhaust valve was placed to their lid, to let escape fermentation gases⁽⁶⁾. Once these micro silos were filled, they were hermetically sealed and stored.

All micro silos were opened and analyzed at 90 d after being closed. For chemical analyses, samples were taken from each silo and stored at 15 °C till analyzed in the laboratory, in accordance with the following pattern: a) Dry matter (DM) was determined by drying at 100 °C for 48 h in a stove⁽⁷⁾, in the case of silages, a correction through the sum of analyzed volatile fatty acids (VFAs) was made; b) Crude protein (CP, N * 6.25), and ammonia nitrogen (% N-NH₃/TN), were graded through Kjeldahl's⁽⁸⁾ method, in chopped and dry silage samples for CP and homogenized and fresh material for N-NH₃; c) condensed tannin percentage was determined through spectrophotometry⁽⁹⁾; d) pH was determined through an Orion model 290 Potentiometer provided with glass electrodes in fresh and macerated material⁽¹⁰⁾; e) Molar lactic acid (LA) and volatile fatty acid (VFA) proportion was determined through gas chromatography (Hewlett-Packard 5890 series II), using a fluid sample from 10 g of silage in 80 ml water and 20 ml of a w/v 3:1 phosphoric acid (25 %) and formic acid (25 %) solution, used as an isovaleric standard. Before being injected into the chromatograph, samples were centrifuged for 15 min⁽¹⁰⁾.

Dry matter *in vitro* digestibility (DMI_{VD}) and organic matter *in vitro* digestibility (OMI_{VD}) were evaluated through an *in vitro* degradation test, by means of the gas production technique⁽¹¹⁾. Fermentation kinetics was analyzed through the following equation

$$Y = V_f * (1 + (B / t)^c)^{-1}$$

In which:

- Y= gas volume produced in time t (ml/g DM)
- V_f= total gas volume (ml/g DM)
- B= time span in which half of the gas volume was generated (h)
- C= curve shape adjustment value, without any biological significance⁽¹²⁾

gases (Hewlett-Packard 5890 serie II), empleando una muestra de fluido obtenido de 10 g de ensilaje en 80 ml de agua y 20 ml de una solución 3:1 v/v de ácido fosfórico (25 %) y ácido fórmico (25 %), empleando como estándar ácido iso-valérico, y antes de su inyección en el cromatógrafo las muestras fueron centrifugadas 15 min⁽¹⁰⁾.

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) se evaluaron mediante una prueba de degradación *in vitro*, utilizando la técnica de producción de gas⁽¹¹⁾. La cinética de fermentación se analizó utilizando la ecuación monofásica:

$$Y = V_f * (1 + (B / t)^c)^{-1}$$

Donde:

Y = volumen de gas a tiempo t (ml/g MS)

V_f = volumen total de gas (ml/g MS)

B = tiempo en que se produce la mitad del gas (h)

C = valor de ajuste a la forma de la curva, sin significado biológico⁽¹²⁾.

La energía metabolizable (EM) de los ensilajes fue calculada a partir de los valores obtenidos de DIVMO: EM (MJ/kg MS) = 0.016 DMO, donde DMO = materia orgánica digestible (g/kg MS)⁽¹³⁾.

Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 5 x 3 más el testigo, en donde los factores fueron la especie arbórea y el porcentaje de inclusión. Los datos se analizaron por varianza, mediante el procedimiento GLM del programa Statgraphics⁽¹⁴⁾. La comparación de medias se realizó utilizando el procedimiento de pruebas de rango múltiple (mínima diferencia significativa). Las curvas de respuesta según el porcentaje de inclusión se analizaron mediante contrastes ortogonales. La cinética de fermentación se analizó mediante el programa "Graphpad Prism"⁽¹⁵⁾.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general no se encontró un efecto de la interacción especie por nivel de inclusión, por lo que únicamente se presentan los efectos principales. En

Silages' Metabolizable Energy (ME) was estimated from values obtained for OMIVD: ME (MJ/kg DM) = 0.016 Digestible Organic Matter (DMO) (g/kg DM)⁽¹³⁾.

The experimental design used in this study was a totally randomized 5 x 3 factorial arrangement plus control, in which factors were tree species and inclusion percentage. Data were tested through variance, in accordance with Statgraphics' GLM procedure⁽¹⁴⁾. Averages comparison was carried out through the multiple range test procedure (minimum significant difference). Response curves were analyzed by orthogonal contrasts in accordance with inclusion percentages. Fermentation kinetics were analyzed through the "Graphpad Prism" program⁽¹⁵⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

In general no effects on the interaction species – inclusion level were found. Thus, only the main effects are shown. In Table 1, results obtained corresponding to silage chemical composition at 90 d post preparation is shown, taking into account species and inclusion level. A good DM content in silages was found. Some authors report a DM increase in *P. purpureum* silages when molasses⁽¹⁶⁾, or of other substances that increase soluble carbohydrate content⁽¹⁷⁾ are included.

Although no significant differences ($P < 0.05$) for tree species inclusion percentages were found, an increase in DM contents was found when these species were included. This increase showed a quadratic trend in accordance with the tree species inclusion percentage ($P < 0.05$). Similar results have been found^(18,19,20) when legumes were included to tropical grasses silages, although the impact may vary in accordance with DM concentration of the species used.

Mixed silages tended to have a higher CP content than control, however, their values are below those published by other authors (9.5 to 12.8 %) regarding mixed silages⁽²¹⁾, although it is worth mentioning that CP content in this study increased linearly respect of tree species inclusion percentage, as reported in previous studies.

el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos de la composición química de los ensilajes a los 90 días de elaboración considerando los efectos de especie y nivel de inclusión. Existió un buen contenido de MS en los ensilajes. Se han mencionado aumentos en el contenido de MS en ensilajes de *P. purpureum* al utilizar diferentes proporciones de melaza como aditivo⁽¹⁶⁾, así como otros aditivos que aumentan la concentración de carbohidratos solubles⁽¹⁷⁾.

Aunque no existieron diferencias ($P > 0.05$) en el porcentaje de inclusión de las especies arbóreas, se pudo observar un aumento en el contenido de MS de los ensilajes al incluir las especies arbóreas; dicho aumento tuvo una tendencia cuadrática conforme aumentaba el porcentaje de inclusión de la especie arbórea ($P < 0.05$). Algunos autores^(18,19,20) también obtuvieron un aumento en el contenido de MS al incluir leguminosas en ensilajes de pastos tropicales; aunque el contenido puede variar dependiendo de la concentración de MS de las especies que se utilicen.

The higher ammonia production corresponded to *A. lebeck* silages (15 %) and on average mixed silages showed values slightly higher than control (7.8 and 7.5 % respectively) although no differences ($P > 0.05$) were found, data which does not concur with other experiments in which a decrease of ammonia production was observed for mixed silages vs those of pure grasses⁽¹⁸⁾. On the other hand, high ammonia levels (10.8 to 11.1 %) were found in mixed legume and grass silages, although this was related to a secondary fermentation due to a low DM content⁽¹⁸⁾. Like this, legume silages can suffer a decrease in proteolysis and therefore of ammonia production when species with high DM content are used, thus triggering a quick pH decrease in silages.

Although significant differences ($P < 0.05$) were found between mixed silages and tree species inclusion percentages, it is worth mentioning that pH for all treatments was below 4.2, which is the recommended adequate value for silages⁽²³⁾. Control silages showed the lower pH values, probably owing

Cuadro 1. Composición química (% MS) de ensilajes (Media±EE)

Table 1. Chemical Composition (% DM) in silages (Mean±SE)

	DM	CP	N-NH ₃ /TN	CT	pH	LA	AA	BA
Control	27.8±1.3 ^{ab}	7.2±1.5	7.5±5 ^{ab}	0.9±0.9 ^{ab}	3.9±0.07 ^b	4.5±1.2 ^{ab}	3.3±0.8 ^{ab}	1.0±0.6
<i>L. latisiliquum</i>	30.9±0.8 ^b	7.7±0.8	4.4±3 ^a	2.5±0.5 ^{ab}	3.6±0.04 ^a	2.5±0.7 ^a	2.1±0.5 ^a	0.3±0.3
<i>G. ulmifolia</i>	24.9±0.8 ^a	8.5±0.8	9.6±3 ^{ab}	1.2±0.5 ^{ab}	4.0±0.04 ^b	5.2±0.7 ^b	3.4±0.5 ^{ab}	0.9±0.3
<i>P. piscipula</i>	26.3±0.8 ^a	9.0±0.8	7.4±3 ^{ab}	0.8±0.5 ^a	4.1±0.04 ^c	6.3±0.7 ^b	2.9±0.5 ^{ab}	0.5±0.3
<i>A. lebeck</i>	27.1±0.8 ^a	9.5±0.8	14.7±3 ^b	1.9±0.5 ^{ab}	4.0±0.04 ^b	5.8±0.7 ^b	3.9±0.5 ^b	0.3±0.3
Mixture	30.5±0.8 ^b	8.4±0.8	2.8±3 ^a	1.4±0.5 ^{ab}	3.6±0.04 ^a	4.9±0.7 ^b	2.2±0.5 ^a	0±0.3
Inclusion (%)								
0	27.8±2.8	7.2±0.8 ^{ab}	7.5±5 ^{ab}	0.9±0.9	3.9±0.1 ^b	4.5±1.7	3.3±1.1	1.0±0.6
15	27.0±1.2	7.2±0.4 ^a	12.4±2 ^b	1.2±0.4	3.9±0.1 ^a	5.9±0.7	2.9±0.5	0.6±0.3
30	28.1±1.2	8.6±0.4 ^b	4.6±2 ^a	1.3±0.4	3.8±0.1 ^a	4.4±0.7	2.7±0.5	0.3±0.3
45	28.7±1.2	9.9±0.4 ^c	6.4±2 ^{ab}	2.2±0.4	3.9±0.1 ^a	4.5±0.7	3.1±0.5	0.4±0.3
Linear	NS	*	*	*	NS	*	NS	NS
Quadratic	*	NS	*	*	NS	NS	NS	NS
Cubic	NS	NS	*	*	NS	NS	*	NS

SE= standard error, DM=dry matter, CP= crude protein, CT= condensed tannin, N-NH₃/TN= ammonia nitrogen as a percentage of total nitrogen, LA= lactic acid, AA= acetic acid, BA= butyric acid.

NS= non significant; * ($P < 0.05$).

abc Means showing different literals within columns prove significant differences ($P < 0.05$).

Los ensilajes mixtos tendieron a tener mayor contenido de PC que el testigo, sin embargo los valores se encuentran por debajo de lo que se ha publicado (9.5 a 12.8 %) en trabajos con ensilajes mixtos⁽²¹⁾; aunque es importante señalar que el contenido de PC de los ensilajes del presente experimento aumentó linealmente conforme aumentaba el porcentaje de inclusión de las especies arbóreas, tal como se menciona en trabajos previos⁽²²⁾.

El valor mayor de producción de amoníaco correspondió a los ensilajes de Algarrobo (15 %), y en promedio los ensilajes mixtos tuvieron valores ligeramente más altos que los ensilajes testigo (7.8 y 7.5 % respectivamente) aunque no fueron diferentes ($P > 0.05$), lo cual no concuerda con experimentos en los cuales se observó una disminución en la cantidad de amoníaco producido en los ensilajes mixtos con respecto a los ensilajes de gramínea sola⁽¹⁸⁾. Por otro lado, se han encontrado niveles altos de amoníaco (10.8 a 11.1 %) en ensilajes que contienen gramíneas y leguminosas, aunque esta producción de amoníaco estuvo relacionada con fermentaciones secundarias debidas a bajos contenidos de MS⁽¹⁸⁾. Así, en los ensilajes de leguminosas se puede disminuir la proteólisis y por lo tanto la producción de amoníaco utilizando especies con contenidos altos de MS, que logran una rápida disminución del pH en el ensilaje.

Aunque existieron diferencias significativas entre los ensilajes de las distintas especies y porcentajes de inclusión, es importante señalar que el pH de todos los tratamientos se encuentra por debajo de 4.2, recomendado como valor aceptable en un proceso de ensilaje⁽²³⁾. Los ensilajes testigo fueron los que presentaron valores más bajos de pH, en comparación con los ensilajes mixtos, los cuales presentaron valores ligeramente más altos de pH, debido probablemente a que las especies arbóreas presentan mayores valores de PC, y por lo tanto son más resistentes a la acidificación^(24,25). Según el sistema de evaluación "Indio Hatuey" que clasifica a los ensilajes de acuerdo a la relación entre el pH y la MS⁽²⁶⁾, los ensilajes del presente experimento se clasifican como "excelentes", teniendo valores promedio de 27.8 y 27.9 % de

to the fact that tree species show a higher CP content, and therefore more resistance to acidification processes^(24,25). In accordance with the "Indio Hatuey" classification method, which qualifies silages in relation to DM and pH⁽²⁶⁾, the silages of the current study can be classified as excellent, having 27.8 and 27.9 % DM content on average and 3.9 and 3.9 pH for the grass and mixed silages, respectively.

All the silages in this study fall within the recommended adequate LA values for silage conservation. It is evident that mixed silages showed a higher LA content (4.5 and 4.9 % for the grass and mixed silages, respectively), values similar to those reported by some authors, who found an increase in LA concentration when legumes were included in tropical grass silages, therefore classifying these silages as lactic^(27,28).

In general, it could be said that high AA values (3.3 and 2.9 % of DM for the grass and mixed silages, respectively) well below the 6.0 % considered as the higher allowed level⁽²³⁾. It has been considered that tropical grass silages fermentation is closely related to forage DM content⁽³⁰⁾, because fermentation carried out in these silages is mainly heterolactic⁽³¹⁾.

BA found in this study could be considered high for control and *Guazuma ulmifolia* silages, their values being slightly higher than those recommended for good quality silages (0.2 % of DM)⁽³⁰⁾, although good quality grass and legume silages containing between 0 and 1.8 % BA of DM^(28,32). In the case of the control silages, BA content was higher than that of mixed silages, probably due to a low DM content which favors Clostridia proliferation, which are good butyric acid producers⁽³³⁾.

In Table 2 results are provided of *in vitro* digestibility and energy contribution expressed as metabolizable energy (ME). Control silages showed differences ($P < 0.05$) to mixed silages averages for DMIVD (63.9 and 52.4 % for control and mixed, respectively) and for OMIVD (64.9 and 53.1 % for control and mixed, respectively). These results show higher digestibility values, and

MS y un pH de 3.9 y 3.9 para ensilajes de gramínea y ensilajes mixtos respectivamente.

Todos los ensilajes están por arriba de los valores recomendados de AL como adecuados para una correcta conservación del material ensilado. Es evidente que los ensilajes mixtos (con excepción de los de Tzalam) fueron los que tuvieron un mayor contenido de AL (4.5 y 4.9 % para gramíneas y mixtos respectivamente), lo cual está de acuerdo a lo mencionado por algunos autores, los cuales al incluir leguminosas en ensilajes de pastos tropicales, notaron un aumento en la concentración de AL, clasificando a estos ensilajes como lácticos^(27,28).

De manera general se puede decir que se encontraron valores altos de AA (3.3 y 2.9 % de la MS, para ensilajes de gramínea y mixtos respectivamente), aunque se encontraron por debajo del 6.0 % indicado como el máximo permitido⁽²³⁾; sin embargo, los ensilajes de forrajes tropicales pueden presentar contenidos de AA relativamente altos⁽²⁹⁾. Se ha planteado que la fermentación en ensilajes tropicales se encuentra muy relacionada con la cantidad de MS de los forrajes a ensilar⁽³⁰⁾, ya que la fermentación llevada a cabo en estos ensilajes es predominantemente heteroláctica⁽³¹⁾.

En general, los contenidos de AB obtenidos en el presente trabajo son altos para los ensilajes testigo y de Pixoy, encontrándose ligeramente por arriba de lo recomendado para ensilajes de buena calidad (>0.2 % de la MS)⁽³⁰⁾, aunque se han obtenido ensilajes de gramíneas y leguminosas de buena calidad que contienen de 0 a 1.8 % (MS) de AB^(28,32). En caso de los ensilajes testigo, la cantidad de AB fue mayor en comparación con los ensilajes mixtos, esto puede deberse a que el bajo contenido de MS favorece la proliferación de Clostridios, productores de ácido butírico⁽³³⁾.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de digestibilidad *in vitro* y aporte energético, expresado como energía metabolizable (EM). Los ensilajes testigo fueron diferentes ($P < 0.05$) al promedio de los ensilajes mixtos en cuanto a DIVMS (63.9 y 52.4 % para ensilajes testigo y mixtos respectivamente) y para DIVMO (64.9 y 53.1 % para testigo y

therefore of more degradation for pure grass silages (control) because results are very similar to those indicated for tropical grass silages in other studies⁽³⁴⁾. Lower digestibility values were found for mixed silages, in coincidence with results reported in other studies⁽³⁵⁾, because it is possible to find a trend for OMIVD and DMIVD decrease for mixed forages⁽³⁶⁾. However, it should be possible to improve these values for mixed silages, depending on the species used, and of the proportion in which they are mixed⁽³⁷⁾.

ME seemed to be higher in mixed silages and showed a linear trend to decrease when the forage tree species inclusion percentage increased. Some authors have reported ME increases as well as drops when tree species were included in tropical grass silages⁽³⁸⁾. The expected response should be

Cuadro 2. Digestibilidad *in vitro* y aporte energético de ensilajes a base gramíneas y árboles forrajeros (Media±EE)

Table 2. *In vitro* digestibility and energy content in silages based on grasses and forage trees (Mean±SE)

	DMIVD (%)	OMIVD (%)	ME (MJ/kg DM)
Control	63.9 ± 1.6 ^e	64.9 ± 1.6 ^e	9.4 ± 0.5 ^c
L. latisiliquum	45.9 ± 0.9 ^a	46.3 ± 0.9 ^a	6.8 ± 0.3 ^a
G. ulmifolia	50.9 ± 0.9 ^b	52.2 ± 0.9 ^b	7.6 ± 0.3 ^{ab}
P. piscipula	53.8 ± 0.9 ^c	54.9 ± 0.9 ^c	7.9 ± 0.3 ^{bc}
A. lebeck	58.0 ± 0.9 ^d	58.6 ± 0.9 ^d	8.5 ± 0.3 ^{cd}
Mixture	53.4 ± 0.9 ^{bc}	53.8 ± 0.9 ^{bc}	7.9 ± 0.3 ^{bc}
Inclusion (%)			
0	63.9 ± 2.30 ^c	64.9 ± 2.30 ^a	9.4 ± 0.7 ^b
15	54.4 ± 1.04 ^b	49.4 ± 1.05 ^b	8.1 ± 0.3 ^{ab}
30	53 ± 1.04 ^b	56.0 ± 1.05 ^b	7.8 ± 0.3 ^a
45	49.8 ± 1.04 ^a	49.6 ± 1.05 ^b	7.3 ± 0.3 ^a
Linear	*	*	*
Quadratic	NS	NS	NS
Cubic	NS	*	*

SE= standard error, DMIVD= dry matter *in vitro* digestibility, OMIVD= organic matter *in vitro* digestibility, ME= metabolizable energy.

abcd Means showing different literals within columns prove significant differences ($P < 0.05$).

NS= non significant; * ($P < 0.05$).

mixtos respectivamente). Los resultados muestran que existieron valores más altos de digestibilidad, y por lo tanto una mayor degradación por parte de los ensilajes de la gramínea sola (testigo), debido a que los resultados son muy semejantes a los indicados para ensilajes de gramíneas tropicales⁽³⁴⁾. Se encontraron valores más bajos de digestibilidad en los ensilajes mixtos, coincidiendo con los resultados obtenidos en trabajos con este tipo de ensilajes⁽³⁵⁾, ya que es posible encontrar una tendencia de disminución en los valores de DIVMS y DIVMO en forrajes mezclados, en comparación con los forrajes solos⁽³⁶⁾. Sin embargo, en el caso de los ensilajes mixtos se pueden mejorar los valores de digestibilidad, dependiendo de la especie que se utilice, así como la proporción dentro de la mezcla⁽³⁷⁾.

La EM pareció ser más alta en los ensilajes testigo, y tuvo una tendencia lineal a disminuir según aumentaba el porcentaje de inclusión de la especie arbórea. Diferentes autores han informado tanto disminución como aumento⁽³⁸⁾ de la concentración de EM al incluir especies arbóreas en ensilajes a base de gramíneas tropicales. La respuesta esperada sería una función del valor energético de cada uno

a function of the energy value of each forage, if they are less digestible and have lower ME, the resulting combination will result with a lower ME content in proportion to the inclusion percentage of lower energy value forage in the mixture.

Fermentation kinetics shows the same pattern than that of digestibility (Table 3), a sigmoid shape is observed, (all C values are higher than 1). Total gas volume (ml gas / g DM) was higher for control silages and lower for those containing *Lisyloma latisiliquum*. This means that for a higher gas production, more base material disappears, indicating greater digestibility, as can be appreciated in Table 2. For control and *Albizia lebeck* who produced half of the total gas volume (B) in less than 30 h, this is a sign of higher fermentation rate or faster microbial growth^(13,14). On the other hand *L. latisiliquum* showed the slower fermentation, producing half of the total gas volume in more than 40 h, indicating lower digestibility. Total gas production decreased and B increased when forage tree percentage inclusion in the mixture increased. As the inoculum used for the *in vitro* fermentation test came from animals fed on grass and concentrates, there is a probability for a ruminal

Cuadro 3. Cinética de fermentación, producción de gas *in vitro* (ml/g MS) de ensilajes, según especie y porcentaje de inclusión (Media±EE)

Table 3. Fermentation kinetics, *in vitro* silage gas production (ml/g DM) in accordance with species and percentage of inclusion (Mean±SE)

	Species						Inclusion (%)			
	Control	<i>L. latisiliquum</i>	<i>G. ulmifolia</i>	<i>P. piscipula</i>	<i>A. lebeck</i>	Mixture	0	15	30	45
Vf	195.7 ^a ± 5.25	153.7 ^c ± 5.589	178.9 ^b ± 4.483	177.4 ^b ± 4.933	179.1 ^b ± 3.609	179.8 ^b ± 4.189	195.7 ^a ± 5.25	181 ^b ± 3.84	175 ^b ± 2.88	165 ^c ± 3.70
B	28.84 ^c ± 1.121	40.2 ^a ± 2.25	32.84 ^b ± 1.305	32.78 ^b ± 1.388	29.46 ^c ± 0.970	33.56 ^b ± 1.33	28.84 ^c ± 1.121	33.1 ^{ab} ± 1.090	34.7 ^a ± 0.920	33 ^b ± 1.200
C	1.915 ^a ± 0.091	1.569 ^c ± 0.062	1.593 ^{bc} ± 0.054	1.697 ^b ± 0.067	1.565 ^c ± 0.46	1.432 ^d ± 0.041	1.915 ^a ± 0.091	1.64 ^b ± 0.050	1.54 ^c ± 0.030	1.5 ^c ± 0.001
R ²	0.989	0.993	0.995	0.993	0.996	0.996	0.989	1	1	1
Sy.x	6.278	3.23	3.517	4.22	3.187	2.775	6.278	3.11	2	2.7

Vf= total gas volume (ml/g DM), B= time span in which half of total gas is produced, C= curve shape adjustment value, with no biological value, SE= standard error , R²= determination coefficient, Sy.x= residual.

abc Means showing different literals within rows prove significant differences (P<0.05).

de los forrajes empleados en la mezcla; si los árboles empleados son menos digestibles y aportan menos EM que el forraje base, la mezcla resultante disminuirá su aporte de EM de manera proporcional a la inclusión del forraje con menor valor energético.

La cinética de fermentación muestra el mismo patrón ya descrito para la digestibilidad (Cuadro 3); fue similar (sigmoideal), ya que en todos los grupos los valores de C son mayores de 1. El volumen de gas total (ml gas/g MS) fue mayor en los ensilajes testigo y el menor en los ensilajes de Tzalam. La mayor producción de gas indica una mayor desaparición del material en el ensilaje testigo, una mayor digestibilidad (tal como se observa en el Cuadro 2). En el caso de Algarrobo y testigo que alcanzaron la mitad de la producción de gas (B) en menos de 30 h, es un indicativo de una fermentación o crecimiento microbiano más rápido^(13,14). Por otro lado Tzalam presentó la fermentación más lenta, alcanzando la mitad de la producción de gas después de 40 h, menores volúmenes de gas y una menor digestibilidad. La producción total de gas fue decreciendo, mientras que B fue en aumento al incrementar la proporción de árbol en la mezcla. Dado que el inóculo empleado para la fermentación *in vitro* provenía de animales consumiendo pasto y concentrado, es probable que existiese un efecto de adaptación de la flora ruminal. Este efecto sin embargo no fue medido en el presente trabajo.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los ensilajes mixtos presentaron mejores características químicas en comparación a los ensilajes de gramínea sola. Se observó un aumento en la PC y una disminución en la producción de NH₃, DIVMS y DIVMO en los ensilajes mixtos con respecto a los ensilajes testigo. Asimismo, presentaron una producción alta de AL, una producción intermedia de AA y una producción ligeramente alta de AB. Los ensilajes que contenían la mezcla de especies arbóreas presentan resultados similares en la mayoría de los parámetros y pudieran representar la opción más viable para el productor, debido a que es más probable que al nivel de campo se puedan elaborar este tipo de ensilajes. El

flora adaptation effect. This effect was not evaluated in the present study.

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

Mixed silages showed better chemical characteristics than those prepared from pure grass. A CP increase and NH₃, OMIVD and DMIVD decrease was observed in mixed silages relative to those made from 100 % grass. Besides, mixed silages showed a high LA, medium AA and slightly high BA production. All mixed silages containing forage tree species showed similar results for all parameters and could be a viable option for producers, because it should be possible to prepare these silages at farm level. Forage tree use for preparation of silages based on tropical grasses should be considered a valid alternative for nutrient and forage conservation, without negative changes in silage quality and chemical composition.

ACKNOWLEDGMENTS

To CONACYT for the scholarship granted to the main author of the present study, to undergo his MSc studies and thesis.

End of english version

uso de árboles forrajeros para la elaboración de ensilajes a base de gramíneas tropicales puede ser una alternativa para la conservación del forraje y sus nutrientes, sin tener cambios negativos en la calidad del ensilaje y en su composición química.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a CONACYT la beca otorgada al primer autor para la realización del presente trabajo, el cual le sirvió como tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias.

LITERATURA CITADA

1. Minson D. Forage in ruminant nutrition. San Diego, USA: Academic Press; 1990.
2. Ojeda GF, Esperance M, Luis L. Ensilajes de pastos tropicales. Pastos y Forrajes 1987;10(3):189-198.
3. Benavides JE. Árboles y arbustos forrajeros: una alternativa agroforestal para la ganadería. En: Sánchez MD, Rosales MM editores. Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica. Estudio FAO. Producción y sanidad animal 143. Rome, Italy. FAO. 1998:449-477.
4. Ojeda GF. Harvesting and ensiling techniques. In: 't Mannetje L editor. Silage making in the tropics, with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage. 1999:133-140.
5. García M. Modificaciones al sistema de clasificación de Koppen. México. UNAM; 1973.
6. Cullison AE. A simple, effective type of miniature silo for conducting silage investigations. J Anim Sci 1960;19:198-202.
7. Pichard G, Rosero O, Kass ML, Ojeda F. Recommendations for sampling and chemical analysis. In: Ruminant nutrition research. Methodological guidelines. San José, Costa Rica. Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture. 1992:77-94.
8. AOAC. Official Methods of Analysis. 14a. ed. Washington, DC. USA. Association of Official Agricultural Chemists; 1984.
9. Price LM, Butler GL. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin contents of sorghum grain. J Agric Food Chem 1977;25:1268-1273.
10. Tejada I. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. México. SARH. INIP. 1983.
11. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Technol 1994;48:185-197.
12. Groot JCJ, Cone JW, Williams BA, Debersaques FMA, Lantinga EA. Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds. Anim Feed Sci Technol 1996;64:77-89.
13. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD. Animal nutrition. 6ª ed. UK: Prentice Hall; 2002.
14. Statgraphics plus for Windows version 4.1. 1999.
15. Graphpad Prism. Versión 2.0 User's guide. USA. Graphpad software, Inc. San Diego, CA. 1994-1995.
16. Piltz JW, Kaiser AG, Hamilton JF, Haviialh EJ. The use of molasses to improve the fermentation of low-dry-matter Kikuyu Grass silages. In: 't Mannetje L editor. Silage making in the tropics, with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage. 1999:165-166.
17. Sibanda S, Jingura RM, Topps JH. The effect of level of inclusion of the legume *Desmodium uncinatum* and the use of molasses or ground maize as additives on the chemical composition of grass- and maize- legume silages. Anim Feed Sci Technol 1997;68:295-305.
18. Ojeda GF, Esperance M, Díaz D. Mezclas de gramíneas y leguminosas para mejorar el valor nutritivo de los ensilajes tropicales. I. Utilización de Dolichos (*Lablab purpureus* (L.) Sweet). Pastos y Forrajes. 1990;13(2):189-196.
19. Ojeda GF, Díaz D. Ensilaje de gramíneas y leguminosas para la producción de leche. I. *Panicum maximum* cv. Likoni y *Lablab purpureus* cv. Rongai. Pastos y Forrajes 1991;14:175-184.
20. Tjandraatmadja M, Macrae IC, Norton BW. Effect of the inclusion of tropical legumes, *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocephala*, on the nutritive value of silages prepared from tropical grasses. J Agric Sci Camb 1993;120:397-406.
21. Sol JJA. Evaluación nutritiva de ensilados de árboles forrajeros y pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) sobre la producción de leche en cabras criollas [tesis licenciatura]. México. Universidad Autónoma de Yucatán; 2002.
22. El Shaer HM, Fahmy AA, Abdul-Aziz GM, Shalaby AS, Abd El Gawad AM. Nutritional evaluation of some halophytic silages to goats in Sinai. 7th International conference on goats. France, 2000:1000-1002.
23. Ojeda GF, Caceres GO, Esperance M. Conservación de forrajes. La Habana, Cuba, Pueblo y Educación. 1991.
24. Santana PAA. Mejoramiento del valor nutritivo de los ensilajes tropicales mediante mezclas de gramíneas y leguminosas [tesis doctorado]. Cuba: Universidad de Granma; 2000.
25. Shinoda M, Kawashima T, Pholsen P, Chuenpreecha T. Quality and nutritive value of Napier Grass silage at different growth stages and chopped or unchopped in northeast Thailand. In: 't Mannetje L editor. Silage making in the tropics, with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage. 1999:147-149.
26. Wernli C, Ojeda F. Research methodology for silage conservation and utilization. In: Ruminant nutrition research. Methodological guidelines. San José Costa Rica. Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture. 1992:193-243.
27. Noller GH. Grass-Legume silage. In: Heath ME, Metcalfe DS, Barnes RF editors. Forages. The science of grassland agriculture. 3ª ed. Ames, Iowa USA: The Iowa State University Press; 1973.
28. Tjandraatmadja M, Macrae IC, Norton BW. Digestion by sheep of silages prepared from mixtures of tropical grasses and legumes. J Agric Sci Camb 1993;120:407-415.
29. Regan C. Comparison of the nutritive value of Cavalcade and Pangola grass forages preserved as silage or hay. In: 't Mannetje L editor. Silage making in the tropics, with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage. 1999:69-70.
30. Garcia AD, Olson WG, Otterby DE, Linn JG, Hansen WP. Effects of temperature, moisture, and aeration on fermentation of alfalfa silage. J Dairy Sci 1989;72:93-103.
31. Michelena RJB. Aplicación de diferentes aditivos químicos y presecado en la fabricación de ensilaje de King Grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*) [tesis doctorado]. Cuba: Instituto de Ciencia Animal; 1986.
32. Titterton M, Mhere O, Kipnis T, Ashbell G, Weinberg ZG, Maasdorp BV. Development of ensiling technology for smallholder cattle owners in Zimbabwe. In: 't Mannetje L editor. Silage making in the tropics, with particular emphasis on smallholders. Proceedings of the FAO electronic conference on tropical silage. 1999:119-121.
33. Luis L, Ramírez M. Estudio de algunos indicadores bioquímicos y microbiológicos en ensilaje de CRA-265. Pastos y Forrajes 1988;11(1):88-93.
34. Cisneros LMV. Producción y utilización de ensilaje presecado bajo condiciones tropicales [tesis doctorado]. Cuba: Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias; 1989.

35. Carneiro AM, Rodríguez NM, Sánchez RL, Vilela H. Consumo e digestibilidade aparente de silagens mistas de capim Elefante cv. Cameroon e Labe-Labe. *Arq Bras Med Vet Zoot* 1984;36(5):597-608.
36. Bobadilla HAR. Efectos asociativos de mezclas de follajes arbóreos como suplemento a vacas de doble propósito en lactación [tesis maestría]. México: Universidad Autónoma de Yucatán; 2001.
37. Yahaya MS, Kimura A, Harai M, Kawai M, Takahashi J, Matsouka S. The breakdown of structural carbohydrates of Lucerne and Orchard-grass during different lengths of ensiling and its effects on the nutritive value of the silage [abstract]. *Asian-Aus J Anim Sci* 2000;13(Suppl B):153.
38. Bouriako IA, Shihab H, Kuri V, Margerison JK. Influence of wilting time on silage compositional quality and microbiology [abstract]. *Proc Br Soc Anim Sci* 2001:88.