

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA**

**Valor nutricional y capacidad fermentativa del ensilaje de maíz (*Zea mays*)
cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*)
a dos densidades de siembra**

**Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la
Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar al grado de
Licenciada en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia**

MARIANELA CASTILLO JIMÉNEZ

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica
2008**

DEDICATORIA

A mis padres Gerardo y Marielos
A mis hermanos Priscilla y Pablo
A mi ahijada Milena y familiares

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios todopoderoso y a la Virgen Santísima el poder concluir con éxito la realización de la presente tesis y en general, mis estudios universitarios.

A Augusto Rojas y Rodolfo WingChing todo el conocimiento y la experiencia transmitida a lo largo de estos meses de duro trabajo.

A la Escuela de Zootecnia, personal docente y administrativo; en especial a Águeda Serrano y Luis Villalobos por su eterna comprensión y paciencia, mis bendiciones para ellos.

Al personal del Centro de Investigaciones en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica, por su incondicional colaboración en la realización de los análisis laboratoriales de mi tesis.

A David Ramírez por su amor y compañía. A José A. Noguera, Otto Valverde y Michael López, amigos incondicionales, gracias por su apoyo, consejos y cariño.

Esta tesis fue presentada a la Facultad de Ciencias Agroalimentarias como requisito parcial para optar al grado de Licenciada en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

Aprobada por:

<hr/>	Director de Tesis
M.Sc. Augusto Rojas Bourrillón	
<hr/>	Director de Escuela
M.Sc. Carlos Arroyo Oviedo	
<hr/>	Miembro del Tribunal
M.Sc. Jorge Sánchez González	
<hr/>	Miembro del Tribunal
M.Sc. Rodolfo WingChing Jones	
<hr/>	Miembro del Tribunal
Ing. Luis Villalobos Villalobos	
<hr/>	Sustentante
Marianela Castillo Jiménez	

ÍNDICE

Contenido	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
REVISION DE LITERATURA	4
1. Vigna radiata	4
1.1. Generalidades.....	4
1.2. Características de la planta.....	5
1.3. Requerimientos agro-ecológicos.....	6
1.4. Características del cultivo	6
1.5. Manejo agronómico.....	8
1.6. Usos.....	10
2. Cultivos asociados	11
2.1. Generalidades.....	11
2.2. Beneficios	12
2.3. Asociaciones entre el maíz y las leguminosas.....	12
3. Proceso de ensilaje.....	15
3.1. Generalidades.....	15
3.2. Beneficios	15
3.3. Etapas del proceso de ensilaje	16
3.3.1. Aeróbica	16
3.3.2. Fermentación	17
3.3.3. Estabilización	18
3.4. Tipos de fermentaciones que ocurren en el proceso de ensilaje	19

Contenido	Página
3.4.1. Fermentación acética.....	19
3.4.2. Fermentación alcohólica	19
3.4.3. Fermentación láctica	20
3.4.4. Fermentación butírica	20
3.5. Factores que afectan la eficiencia del proceso	21
3.5.1. Efecto de la materia seca.....	21
3.5.2. Efecto de los carbohidratos solubles.....	21
3.5.3. Efecto de la temperatura.....	22
3.5.4. Efecto del tamaño de partícula	22
3.6. Aditivos	23
3.6.1. Aditivos que favorecen la fermentación	23
3.6.2. Aditivos que inhiben la fermentación.....	23
3.7. Ensilaje de gramíneas y leguminosas.....	24
3.8. Ensilaje de maíz-vigna	26
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Análisis estadístico	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
1. Características nutricionales de la asociación maíz-vigna	30
2. Características nutricionales y fermentativas del ensilaje de maíz-vigna.....	35
Composición nutricional	35
2.1. Materia Seca	35
2.2. Cenizas	36
2.3. Proteína Cruda.....	38
2.4. Extracto Etéreo	40
2.5. Fibra Detergente Neutro y Fibra Detergente Ácida.....	42
2.6. DIVMS.....	44
2.7. Lignina	46
Características fermentativas.....	48
2.8. Grado de acidez (pH).....	48
2.9. Capacidad Buffer	50

Contenido	Página
2.10. N-NH ₃ /N-total	52
3. Caracterización del contenido energético y calidad de la proteína del ensilaje de maíz vigna.....	55
Contenido energético	55
Fraccionamiento de proteína	56
CONCLUSIONES.....	59
LITERATURA CONSULTADA.....	61
ANEXOS.....	72

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1. Comparación de la actividad hemaglutinante y antitriptica de extractos crudos de <i>Vigna radiata</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> y <i>Glicine max</i>	7
Cuadro 2. Relación entre el pH y el tipo de fermentación predominante en un material ensilado.....	21
Cuadro 3. DIVMS promedio obtenida por diversos autores	25
Cuadro 4. Composición nutricional y características fermentativas de la asociación maíz-vigna	31
Cuadro 5. Nutrientes digestibles totales y contenido energético en términos calóricos del ensilaje de maíz-vigna.....	56
Cuadro 6. Fraccionamiento de proteína del ensilaje de maíz vigna	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Contenido de materia seca en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.....	36
Figura 2. Concentración de cenizas en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	38
Figura 3. Concentración de proteína cruda en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	39
Figura 4. Concentración de extracto etéreo en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales	41
Figura 5. Concentración de fibra detergente neutro y fibra detergente ácida en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	43
Figura 6. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	45
Figura 7. Concentración de lignina en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	47
Figura 8. Valor de pH en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	49
Figura 9. Capacidad buffer de los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	51
Figura 10. Concentración de nitrógeno amoniacal en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.	53

RESUMEN

Se cuantificó la fermentabilidad y la calidad nutricional de un ensilaje de maíz (*Zea mays*) en asociación con vigna (*Vigna radiata*). Se trabajó con una estimación de 80.000 plantas por hectárea a dos densidades de siembra, Densidad 1: 70% maíz : 30% vigna y Densidad 2: 60% maíz : 40% vigna (las proporciones se mantuvieron al momento de cosecha), tres niveles de inclusión de melaza (0%, 2% y 4%) y un nivel de cultivos microbiales. La asociación se cosechó a los 85 días después de sembrada. Al material antes de ensilar se le realizaron los análisis de materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), cenizas (Ce), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y una prueba de capacidad buffer (CB) y pH. Por otro lado, al material ensilado además de los análisis anteriormente indicados, se le realizó análisis de nitrógeno amoniacal y lignina. Al establecido como el mejor tratamiento, se le determinó el fraccionamiento de proteína y el contenido de energía.

La asociación maíz-vigna presentó un contenido alto de humedad y cenizas; PC y EE aceptables y contenidos bajos de FDN y FDA y por ende una digestibilidad alta.

En el ensilaje maíz-vigna, el contenido de MS, Ce, PC, EE, FDN, FDA, lignina, nitrógeno amoniacal (N-NH₃/ N-total), CB y pH, fueron afectados por la densidad de siembra. Los niveles de inclusión de melaza influyeron sobre la composición nutricional y las características fermentativas de todos los tratamientos, excepto el pH. Por su parte, la incorporación de cultivos microbiales afectó de una forma significativa el contenido de PC, la CB y el pH del material ensilado.

Se estableció como mejor tratamiento el perteneciente a la densidad de siembra 70% maíz : 30% vigna, 2% de inclusión de melaza y sin cultivos microbiales, el mismo presentó el valor más alto de DIVMS , valor nutricional y características fermentativas adecuados (porcentaje alto de PC, porcentajes bajos de FDN y FDA, contenido bajo de nitrógeno amoniacal (<8,0%) y un pH entre 3,5 y 4,2).

INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento de la población mundial, exige la invención de sistemas agropecuarios productivos y eficientes, que satisfagan las demandas del mercado y las normativas internacionales de comercio. Costa Rica no es la excepción, por lo que el sector pecuario se ha visto en la tarea de implementar estrategias que respondan a tales exigencias con miras al expansionismo comercial.

Elevar la productividad de los sistemas de alimentación de especies de interés zootécnico, implica, entre otras cosas, mantener los suministros de alimento durante todo el año. Nuestro país presenta, una época seca, en la cual, existe un faltante de recursos forrajeros para el ganado, sumado a esto, fenómenos naturales como “El niño” o “La niña” comprometen la disponibilidad de recursos alimenticios, es aquí, cuando adquiere importancia la investigación dirigida a tecnologías, que permitan la conservación de los forrajes, supliendo durante este periodo, las demandas altas de alimento, por lo que, el ensilaje se convierte en una técnica que permite la siembra de diversos cultivos y aprovechar los recursos en exceso producidos durante la época lluviosa.

Uno de los cultivos más estudiados para ser incorporado en un sistema de ensilaje, es el maíz (*Zea mays*). Se caracteriza por ser una de las gramíneas que mejor se adapta para ser conservada, presenta la ventaja de poseer un alto rendimiento de biomasa/área: 35-95 t/ha (Somarribas 2007), además de sobresalir por el alto contenido de carbohidratos aportados a la ración (Méndez 2000), los cuales favorecen el proceso fermentativo.

Sin embargo, el aporte proteico a la dieta del animal por parte de esta gramínea, es restringido, por lo que recientemente, las investigaciones dirigidas al establecimiento de asociaciones entre gramíneas y leguminosas, toman importancia, debido a la escasez de nutrientes y el desgaste del suelo, entre otros factores, que traen consigo el establecimiento de monocultivos (Nicolás *et al.* 1999).

Al introducir leguminosas en un sistema de asocio con gramíneas, se logra no sólo, mejorar el valor nutritivo de los forrajes, suministrar nitrógeno al suelo mediante la fijación biológica, estimular la actividad biológica del suelo (Nieto 2004), sino que a su vez, aumenta el valor nutricional del ensilaje, debido al aporte de proteína cruda contenido en las leguminosas.

Recientemente se hizo un estudio, en el cual se observó el comportamiento de la vigna dentro de un sistema de alimentación animal (Titterton y Bareeba 2000). En general, las investigaciones son escasas, por lo que el presente trabajo procura cuantificar la fermentabilidad y calidad nutricional del ensilaje del maíz (*Zea mays*) en asociación con la vigna (*Vigna radiata*) como sistema de alimentación en condiciones tropicales.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el valor nutricional y la capacidad fermentativa de una asociación de maíz (*Zea mays*) y vigna (*Vigna radiata*) ensilada en condiciones tropicales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la composición nutricional (materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), cenizas (Ce) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS)) de la asociación maíz-vigna antes y después de ensilada.

Evaluar la capacidad fermentativa del material ensilado, mediante la valoración de pH, capacidad buffer (CB) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃/N-total).

Estimar el contenido energético (nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de mantenimiento (EN_m), energía neta de ganancia (EN_g) y energía neta de lactancia (EN_L)) del ensilaje de maíz-vigna.

Determinar el fraccionamiento de la proteína del ensilaje de maíz-vigna.

REVISION DE LITERATURA

1. *Vigna radiata*

1.1. Generalidades

De acuerdo con Bravo (1965), la *vigna radiata* posee la siguiente clasificación botánica:

División	Spermatophyta
Sub-división	Angiosperma
Clase	Dicotyledoneae
Orden	Rosales
Familia	Leguminosae
Sub-familia	Papilionidae
Género	Vigna
Especie	radiata

Entre los nombres con los que se le puede conocer están: frijol mungo (Madriz y Luciani 2004), frijol chino (Higuera *et al.* 2003), frijol caballero, frijol verde (Díaz *et al.* 2002), lenteja criolla (Peláez *et al.* 2003), entre otros.

El frijol mungo (*Vigna radiata* L.) como es mejor conocido, es originario de Asia. Su cultivo se ha extendido por todo el mundo, como fuente de proteína en la alimentación humana y animal (Gutiérrez *et al.* 2001); se cultiva para heno, ensilaje, pastoreo y como mejorador de suelos (Santiesteban *et al.* 2001).

1.2. Características de la planta

El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT 2003) clasifica a esta leguminosa, como una hierba alta, erecta y voluble, puede llegar a alcanzar de 15 cm a 1 m de altura. Las inflorescencias son racimos axilares de color amarillo (Peláez *et al.* 2003), las primeras flores aparecen siete a ocho semanas después de la siembra y las legumbres son cilíndricas y delgadas, de aproximadamente 6-8 cm de largo.

El fruto se caracteriza por ser ligeramente pubescente. Con semillas pequeñas, frecuentemente cilíndricas y cubiertas con una capa áspera de color blanco. Las semillas están exentas de glucósidos. Los granos caen fácilmente de las vainas secas; es una de las leguminosas con mayor contenido proteico y con mejor rendimiento que el resto de los frijoles (Peláez *et al.* 2003).

De crecimiento determinado o indeterminado y de tipo compacto. Posee raíces pivotantes y fibrosas (CIAT 2003). En cuanto a la profundidad del sistema radicular, Vieira *et al.* (2001), señalan que las raíces pueden alcanzar más de 1 m de profundidad, sin embargo el 90% de estas alcanzan apenas los 30 cm de profundidad.

Según mencionan Higuera *et al.* (2003), es una planta anual y de ciclo corto. La germinación del frijol mungo ocurre de 3-4 días después de la siembra (CIPRES 2007). Florece a los 38 días, se cosecha entre los 50 y 90 días (CIPRES 2007). Díaz *et al.* (2004) establecen que su ciclo biológico es de 56 a 60 días, en variedades de maduración agrupada, y de 70 a 80 días, en variedades de crecimiento indeterminado. Vieira *et al.* (2001) indican que el periodo de siembra a cosecha va de 60 a 160 días (vainas tiernas) y 90 a 180 días (granos).

El tallo es poco pubescente, cubierto de pelo de color castaño (CIAT 2003) puede medir de 0,3 a 1,5 metros de longitud. La planta es pubescente y las hojas de color verde y presentan una posición alterna trifoliada (Peláez *et al.* 2003).

1.3. Requerimientos agro-ecológicos

Se adapta a precipitaciones entre 600-1800 mm (López y Vega 2004). En cambio Vieira *et al.* (2001), recomiendan que unos 500 mm son ideales para completar el ciclo. El exceso de agua en el suelo y una elevada humedad del aire, pueden provocar el desarrollo de enfermedades en la planta.

Prefiere suelos areno-arcillosos, pero crece bien en todos los tipos de suelo ubicados bajo su rango de altitud óptima: de 0 a 1200 m.s.n.m (CIPRES 2007; Vieira *et al.* 2001). El pH óptimo del suelo para su crecimiento se encuentra entre de 5,5 a 7,0 (Centro Internacional de Agricultura Tropical 2003). Prefiere niveles moderados de fósforo y no tolera la salinidad (CIAT 2003).

López y Vega (2004) establecen que la temperatura óptima se encuentra entre los 28-30 °C, lo que concuerda con CIPRES (2007), quien define que es una leguminosa de clima caliente y que no presenta valores productivos altos en zonas de altura.

1.4. Características del cultivo

Se caracteriza por tener buena tolerancia a la sequía, sin embargo no tolera el encharcamiento (CIPRES 2007). Además posee tolerancia a la sombra y su contribución a la fertilidad del suelo es de alta a moderada (López y Vega 2004).

Higuera *et al.* (2003) caracterizan al frijol mungo como mejorador del suelo, debido a la simbiosis con las bacterias fijadoras de nitrógeno. Shong y Alves (2002), mencionan que se puede incorporar al suelo, mejorando, las características físicas y químicas de éste, principalmente cuando presenta problemas de degradación.

En cuanto a sus propiedades nutricionales, el gobierno de Venezuela lo ha caracterizado como un cultivo estratégico, debido a su alto contenido nutricional, ya sea en alimentación humana o animal (Higuera *et al.* 2003). Se ha encontrado que las harinas de grano se caracterizan por un alto contenido de proteína cruda (24,78-28,28%) y bajos valores de factores antinutricionales (Díaz *et al.* 2002).

Higuera *et al.* (2003) y Shong y Alves (2002), concuerdan en que el frijol mungo posee valores de proteína (21-28%), calcio, fósforo, hierro y vitaminas del complejo B altos.

Bustamante (1988), encontró inhibidores de tripsina en su contenido, aunque en cantidades mucho menores que en la soya y el frijol común (cuadro 1). Además señala que no se han encontrado hemaglutininas ni taninos en su contenido.

Cuadro 1. Comparación de la actividad hemaglutinante y antitriptica de extractos crudos de *Vigna radiata*, *Phaseolus vulgaris* y *Glicine max*.

Leguminosa	Actividad hemaglutinante (unidades por Gramo)	Inhibidores de tripsina (unidades por gramo)
<i>Vigna radiata</i>	0	260
<i>Phaseolus vulgaris</i>	3560	1552
<i>Glicine max</i>	No disponible	99000

Fuente: Bustamante (1988).

Un estudio realizado por Díaz *et al.* (2002), encontró que las variedades estudiadas (cinco variedades de *Vigna unguiculata*: V. blanca, V. negra, Habana 82, Viñales 144A e INIFAT 93 y una variedad de *Vigna radiata*: V. verde), presentaron un bajo contenido ($p < 0,01$) de taninos totales e inhibidores de tripsina en sus granos (0,24 - 0,37% taninos y 0,90 - 1,35 mg g⁻¹ de inhibidores de tripsina).

1.5. Manejo agronómico

Se cultiva normalmente solo, pero tolera bien el asocio con otros cultivos de mayor altura (Vieira *et al.* 2001).

Madriz y Luciani (2004) sugieren que la época de siembra del frijol mungo es durante el periodo de lluvias, ya que, los cultivares sembrados en época seca y a la salida de las lluvias pueden ser afectados por condiciones menos favorables del ambiente.

Estos mismos autores señalan que dependiendo de la época que se desee sembrar, deben de seleccionarse las variedades que mejor se adapten y con mejor potencial de rendimiento para dicha época.

La densidad de siembra del frijol mungo varía dependiendo del uso que se le desee dar, por ejemplo, en la utilización como grano, López y Vega (2004), encontraron que el frijol mungo (*Vigna radiata*) se siembra por lo general a “chorro” sobre el surco, la distancia entre un surco y otro es de 20-30 cm, estos mismos autores recomiendan que para 0,7 ha se necesitan aproximadamente de 18 a 27 kg de semilla.

Santiesteban *et al.* (2001), observaron que los mejores rendimientos se obtuvieron a densidades de siembra de 150 mil plantas por hectárea, además, el material sembrado en época de verano obtuvo mayor producción de vigna.

Estudios realizados por CIPRES (2007), recomiendan que, la distancia de siembra, para optimizar la obtención de grano es de 40 cm entre surcos y 10 cm entre una planta y otra.

Cuando se desea utilizar como abono verde o cobertura, se siembra en surcos de 30-50 cm de distancia y 5 cm entre plantas dentro del surco; al voleo se siembra de 6-8 kg/ha (CIAT 2003).

La producción de granos varía de acuerdo al arreglo de siembra que se dé, pero ésta puede ser desde 230 hasta 644 kg por cada 0,7 ha o más. La cantidad de materia verde que ésta produce es entre 10-14 toneladas por cada 0,7 ha (López y Vega 2004) y de 30 t/ha (Olivares y Kees 2004).

En un estudio realizado en *Vigna unguiculata* se obtuvo rendimientos de hasta 7 toneladas de MS/ha (Díaz *et al.* 2004), estos mismos resultados fueron obtenidos por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (2003) para *Vigna radiata*. Olivares y Kees (2004), encontraron que los rendimientos de semillas pueden llegar hasta 1000 kg/ha.

López y Vega (2004) recomiendan no hacer limpiezas, ni aplicaciones de insecticidas ni fungicidas a excepción de que se presente alguna plaga desfoliadora. Si se desea guardar semilla para futuras siembras, se deben tratar con insecticidas y fungicidas específicos.

Los problemas más comunes con el frijol mungo son: el gusano de tierra (*Agrotis sp*, *Eltia sp*); los grillos (*Gryllus sp*); los crisomélidos (*Cerotoma arcuata*, *Diabrotica speciosa*); los pulgones (*Aphis craccivora*); los chinches chupadores (*Riptortus dentipes*, *Anoploenemis curvipes*); los gorgojos de granos almacenados (*Collosobrochus maculatus*) y las virosis (Vieira *et al.* 2001).

1.6. Usos

En un inicio el frijol mungo se cultivaba principalmente por su grano. En la alimentación humana se conoce como una legumbre; en el continente asiático se le considera como un alimento altamente nutritivo, fuente de calorías y de proteínas de fácil digestión y con una baja influencia a producir flatulencia, que es un factor que además de limitar el consumo, se encuentra asociado con la mayoría de las legumbres (Bustamante 1988).

Es utilizado para la elaboración de: frijoles nacidos; harinas y subproductos (panificación y pastelería); almidón; concentrado proteico; pastas (de harina o almidón); sopas; entre otros (Bustamante 1988). Se cultiva bajo distintos sistemas de explotación, desde la agricultura de subsistencia hasta la producción empresarial altamente tecnificada (Higuera *et al.* 2003). Puede utilizarse en rotación de cultivos con hortalizas (Vieira *et al.* 2001).

Asimismo, Machado y Hernández (1991), estudiaron sus características para la producción de forraje, donde encuentran alta resistencia a plagas y enfermedades; altura aceptable (hasta 50 cm); alto contenido de proteína cruda (hasta 29%); rendimientos de 6000 kg/MS/ha (cosechado a los 85 y 100 días).

El CIAT (2003) le asocia propiedades para ensilaje, heno, cobertura, rastrojo, corte y acarreo. Actualmente, ha sido utilizado en sistemas de cultivo intercalado maíz-mungo, rotación de cultivos, asocio con pitahaya, etc. También se puede suministrar los granos para alimentar cerdos, becerros, gallinas y otras aves de corral (Canelones y Castejon 2006).

Lon-Wo *et al.* (2001) demostraron las posibilidades nutricionales para su utilización en la alimentación de especies monogástricas, especialmente en pollos de engorde, en los que fue posible llegar hasta 20% de inclusión, en una dieta convencional de trigo y soya, sin diferencias en el comportamiento productivo de los animales.

2. Cultivos asociados

2.1. Generalidades

Al crecimiento de dos o más especies en forma simultánea, durante toda o una parte de sus ciclos de vida, se le denomina asociación de cultivos (Jana *et al.* 2000). Práctica comúnmente utilizada por pequeños agricultores, los cuales orientan la producción al autoconsumo, en donde buscan equilibrar el balance alimenticio (Machado y Hernández 1991).

La combinación de especies con distinto ciclo y diferentes requerimientos hídricos, lumínicos y nutricionales, eleva los rendimientos a través de un mejor uso de los recursos disponibles en tiempo y espacio, aunque el manejo del sistema es más complejo, con limitaciones para la mecanización de las labores (Quirós y Marín 2003).

Los objetivos de esta técnica, según Olivares y Kees (2004), son para el caso de suelos degradados, realizar grandes aportes de materia orgánica proporcionando cobertura y en otros casos aumentar y sostener los rendimientos del cultivo principal, agregando un rendimiento adicional (aportado por el otro cultivo), éste puede ser en términos de materia seca o de aporte de nutrientes.

2.2. Beneficios

Los cultivos asociados representan una forma de incrementar la variedad de productos cosechados por unidad de superficie y son ampliamente utilizados en medios tropicales y subtropicales, ya que proporcionan un ingreso adicional al agricultor en la misma unidad de terreno (Quirós y Marín 2003).

Permiten un menor riesgo de pérdida total por cualquier factor de estrés físico o enfermedades de una de las especies, provee estabilidad en la producción y una mejor distribución del trabajo durante el año (Jana *et al.* 2000). Otra ventaja, es que en fases tempranas del establecimiento de éstos, el crecimiento rápido del cultivo protege el suelo contra la erosión y optimiza el uso de la tierra (Duarte 1991).

Quirós y Marín (2003), establecen que las asociaciones de cultivos se encuentran relacionadas con la sostenibilidad ecológica y económica de los agroecosistemas y que además, promueven la conservación de la humedad, la disminución de la temperatura del suelo, el control de plagas y enfermedades y restringen el establecimiento de malezas.

2.3. Asociaciones entre el maíz y las leguminosas

El maíz constituye una de las bases fundamentales en la alimentación de los rebaños bovinos en el trópico. Sin embargo, en cierta época del año la oferta de materia seca y la calidad de la misma son insuficientes para satisfacer los requerimientos mínimos de los animales en pastoreo (Sandoval 2007).

Por su lado, las especies forrajeras leguminosas, en los trópicos, representan una estrategia para aumentar la producción animal, por su alto contenido de proteína (15-30% en base seca) (Sandoval 2007).

Es por eso que la asociación entre el maíz y la leguminosa funciona como un complemento, contribuyendo a evitar el sobre-pastoreo, la posterior erosión y desertificación de los pastizales a un costo relativamente bajo, en poco tiempo (Somarribas 2007).

Jana *et al.* (2000), comentan que el uso de gramíneas con leguminosas, es muy frecuente en América Latina, por ejemplo: asociaciones de caña de azúcar con frijol; sorgo con frijol; soya con maíz y maíz con frijol. Ésta última es una de las más comunes. Estos mismos autores han observado que el 80% del frijol y el 50% del maíz son producidos bajo alguna forma de asociación.

Además, esta asociación puede utilizarse como abono verde, combinados con el laboreo mínimo y de esta manera, ofrecer una alternativa viable para el mejoramiento de la fertilidad y propiedades físicas del suelo (Claro *et al.* 1997).

Actualmente, ya es utilizada en la “Tecnología de Terrazas de Muro Vivo”, para la conservación del suelo y del agua. El problema principal que se da a nivel de terrazas, es debido a la erosión hídrica, lo que provoca una pérdida de productividad de los cultivos, traducida en rendimientos muy bajos, que ha sido atenuada por la implementación de asociaciones maíz-leguminosas (Nicolás *et al.* 1999).

Se han realizado estudios de asociaciones de maíz (*Zea mays*) con leguminosas como lo son el maní forrajero (*Arachis pintoï*). Nieto (2004) alcanzó valores de hasta 40 toneladas de material fresco/ha, proveniente de la asociación del maíz (*Zea mays*) y *Arachis pintoï*.

En Argentina, es común el uso de la asociación de maíz-vigna (*Vigna sinensis*). A partir de la siembra de maíz en surcos de 0,7-1 m con una densidad de siembra de 12-15 Kg/ha, se realiza la siembra de *Vigna sinensis* en el espacio entre surcos, o sobre el mismo surco intercalando las semillas. Uno de los resultados más impactantes, según comentan Olivares y Kees (2004), es el incremento del rendimiento del maíz en 50%, comparado con el cultivo de maíz solo.

Otra variedad de la vigna es el llamado caupí (*Vigna unguiculata*), el cual es un excelente cultivo en asociación con el maíz para ensilaje en proporciones 2:1 (maíz:vigna) (Machado y Hernández 1991).

El Centro Internacional de Agricultura Tropical (2003) comenta que la *Vigna radiata* se puede incorporar como abono verde en asociación con maíz (*Zea mays*) durante el llenado del grano del mismo, esto es aproximadamente a los 50 días después de sembrada la gramínea, contribuyendo de esta manera en la fertilización nitrogenada.

Al igual que la vigna, la mucuna (*Mucuna derengianum*) es utilizada como abono verde, responde muy bien en épocas de sequía, posee excelente contenido nutricional, posee una amplia adaptación a todo tipo de suelo del trópico y sub-trópico, excelente productora de forraje y cumple con las características de toda leguminosa asociada al maíz: incrementa la producción de grano y materia seca del cultivo (INIFAP 2002).

Uno de los métodos utilizados para aumentar la producción del maíz en México, es sembrarlo en compañía de *Mucuna derengianum*, conocida comúnmente como frijol terciopelo (INIFAP 2002).

Según comentan Nicolás *et al.* (1999), el sistema maíz-*Mucuna derengianum* disminuyó la incidencia de malezas, no compitió con el cultivo de maíz, mejoró ligeramente la fertilidad del suelo y favoreció las condiciones del suelo para un mejor aprovechamiento de la fertilización mineral.

3. Proceso de ensilaje

3.1. Generalidades

El ensilaje es el resultado de la conservación de forrajes, otros alimentos o subproductos agrícolas por medio de la fermentación anaeróbica de los mismos, con el fin de obtener un alimento de buena palatabilidad y con el mínimo de pérdidas, para lo cual se utilizan los depósitos llamados silos (Méndez 2000).

La conservación de forrajes es una alternativa que permite mantener con poca alteración las características nutritivas de los forrajes. El ensilaje no mejora las características del material verde original, sólo las conserva (Boschini y Elizondo 2003).

3.2. Beneficios

Algunas de las muchas propiedades que se le atribuyen al ensilaje fueron citados por Méndez (2000):

- a. se pueden obtener en forma económica y adecuada grandes volúmenes de forrajes u otros alimentos conservados para la alimentación animal.
- b. permite obtener más nutrimentos por hectárea.
- c. se reducen las pérdidas (comparado con la producción del heno, por efecto de lluvias y pérdidas de hojas durante la henificación).
- d. almacena más materia seca que un henil a igualdad de espacio.

- e. permite almacenar excedentes de pasto de la época lluviosa, para utilizarlo en la época seca, lo cual a su vez, favorece mantener el nivel productivo de los animales durante todo el año, alimentando durante la época lluviosa con forraje fresco y utilizando el ensilaje durante periodos de sequía y escasez.
- f. permite una mejor utilización de la maquinaria, de la mano de obra permanente de la finca y de la tierra arable disponible (Bernal *et al.* 2002).
- g. cuando se usa maquinaria apropiada se reducen las pérdidas por cosecha y manipuleo del material; asimismo, permite la utilización de una gran variedad de equipo y maquinaria para su preparación y manejo (Bernal *et al.* 2002).

3.3. Etapas del proceso de ensilaje

3.3.1. Aeróbica

El oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas (Oude *et al.* 2000).

Entre mayor sea el contenido de humedad que tenga el material a ensilar, mayor será la tasa respiratoria en las primeras horas después de cortado. Una medida efectiva para bajar y detener el proceso respiratorio consiste en disminuir la cantidad de oxígeno disponible mediante la intensa compactación del forraje distribuido en el silo (Boschini y Elizondo 2003). Estos mismos autores mencionan que durante el proceso de ensilaje es normal que la actividad respiratoria produzca calor en las primeras 24 a 36 horas, el pH alcanza valores de 4,2- 4,3.

Por su parte Jorgensen y Crowley (1985), argumentan que, la respiración vegetal produce el aumento inicial de la temperatura en el silo. Con la temperatura adecuada, entre los 20 y 37° C, se logran las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos productores de ácido láctico.

Si durante el llenado queda atrapada una excesiva cantidad de aire, se producen temperaturas iniciales mayores a 37° C lo cual reduce las posibilidades de una fermentación óptima y hace disminuir el valor nutricional del material ensilado (Jorgensen y Crowley 1985).

Además el material fresco contiene una gran variedad de microorganismos que están presentes en todos los cultivos en el campo. Mientras el oxígeno está presente, las bacterias aeróbicas crecen y se multiplican. Comienzan rápidamente la fermentación del material, incrementan la respiración celular, por lo que agotan el oxígeno (generalmente en 4-6 horas), descomponen rápidamente los hidratos de carbono de la planta y producen dióxido de carbono, agua y calor. Esta es la llamada fase aeróbica de la fermentación producida en el ensilaje (Jorgensen y Crowley 1985).

3.3.2. Fermentación

En esta fase, crecen y se multiplican los microorganismos anaeróbicos. Estos convierten los hidratos de carbono disponibles en ácidos orgánicos. Inicialmente se producen pequeñas cantidades de ácidos grasos volátiles, principalmente de ácido acético y posteriormente hay una gran producción de ácido láctico, causante de la conservación del material (Jorgensen y Crowley 1985).

Boschini y Elizondo (2003) describen que más o menos en el segundo día va terminando la respiración celular del forraje, la temperatura sube a 28-38 °C comienza la producción del ácido acético, baja el pH a 5,5 y comienzan a crecer las bacterias productoras del ácido láctico.

Uno o dos días después comienza la producción de ácido láctico, el pH baja a 4,5; disminuye la población de bacterias que producen ácido acético debido a su intolerancia a bajos niveles de pH. Un día después y durante los siguientes 15 días predomina la producción de ácido láctico, la temperatura decrece a 28-30 °C, el pH baja a 4 (Boschini y Elizondo 2003).

Según Jorgensen y Crowley (1985), la fermentación termina cuando finaliza la utilización de carbohidratos y/o los microorganismos inhiben su propio crecimiento por la producción de ácido láctico. Al aumentar el contenido de materia seca en el forraje ensilado, se espera que el período de fermentación activa se extienda.

Algunos de los cambios que suceden durante la fermentación incluyen la conversión de proteínas a aminoácidos, amonios y otros productos nitrogenados no proteicos; reducción de nitratos y pérdidas de caroteno debido a la oxidación. (Jorgensen y Crowley 1985).

3.3.3. Estabilización

Tarde o temprano las bacterias de fermentación agotan las reservas de azúcares solubles y la formación de ácido láctico llegan al máximo. A un cierto nivel de pH (según el contenido de humedad del forraje), se inhibe el crecimiento de otras bacterias (Bernal *et al.* 2002) y cuando la acidez del material ensilado baja a un pH entre 3,5 y 4,2 prácticamente se detiene la actividad microbiana y el material entra en una etapa de estabilización (Mangado 2006).

En esta tercera etapa, se espera que la producción de ácido láctico alcance el 1-2% de la masa ensilada (Méndez 2000).

3.4. Tipos de fermentaciones que ocurren en el proceso de ensilaje

3.4.1. Fermentación acética

Se produce por acción de un grupo de levaduras y bacterias presentes naturalmente en la superficie de las plantas y sobre el terreno natural. Según estudios, la mayoría de estas bacterias pertenecen al género *Acetobacter* (Oude *et al.* 2000).

La actividad de *Acetobacter* spp. en el ensilaje es perniciosa, esto porque puede iniciar un deterioro aeróbico, ya que puede oxidar el lactato y el acetato produciendo CO₂ y agua. Generalmente, las responsables principales del inicio del deterioro aeróbico son levaduras; las bacterias acéticas se encuentran ausentes o juegan un papel poco importante a este nivel del proceso. No obstante, existe evidencia que estas bacterias pueden iniciar un deterioro aeróbico en el ensilaje de maíz cuando incluye toda la planta, grano y forraje (Oude *et al.* 2000).

3.4.2. Fermentación alcohólica

Se produce por acción de un grupo de levaduras presentes naturalmente en el ambiente, sobre las hojas y tallos de las plantas. Las levaduras productoras de alcohol necesitan un sustrato bastante húmedo o en solución acuosa, con baja concentración de materia seca, con un pH ligeramente ácido entre 5 y 6, y se desarrollan en el mismo periodo en el que ocurre la fase aeróbica (Boschini y Elizondo 2003).

Éstas bacterias son bastantes activas durante los primeros 2 a 7 días de almacenamiento del forraje. Éstas actúan especialmente sobre los azúcares solubles; sin embargo, también fermentan el almidón con mucha habilidad.

3.4.3. Fermentación láctica

Los microorganismos que llevan a cabo la fermentación láctica son del género *Lactobacillus*. Crecen en todo tipo de sustratos con alto contenido de azúcares solubles, pectinas y almidones, se desarrollan en medios ligeramente ácidos cuando ha terminado el proceso de respiración en los forrajes ensilados (Boschini y Elizondo 2003).

Además, estos mismos autores agregan que, la fermentación láctica normalmente se inicia después del tercer día de llenado el silo y se desarrolla gradualmente hasta el día 15, posterior a este periodo alcanza su estabilidad.

3.4.4. Fermentación butírica

Según Boschini y Elizondo (2003), las bacterias butíricas producen en el ensilaje una fermentación perjudicial. Están presentes en el ambiente, especialmente en el suelo. Se desarrollan cuando hay alguna cantidad de oxígeno disponible en el ensilaje, consumen el ácido láctico producido, disminuyen la acidez del ensilaje y elevan el pH a valores superiores a 5, iniciando el deterioro del ensilado y la putrefacción.

Un estudio de Mangado (2006) demuestra la relación entre el pH de un ensilado y su valor nutricional, en función del tipo de fermentación durante el proceso de ensilaje (cuadro 2).

Cuadro 2. Relación entre el pH y el tipo de fermentación predominante en un material ensilado.

Tipo de fermentación	Láctica	Butírica	Pútrida
pH	3,5-4	>4,5	>5
Valor nutricional	Alto	Regular	muy bajo, tóxico

Fuente: Mangado (2006)

3.5. Factores que afectan la eficiencia del proceso

3.5.1. Efecto de la materia seca

El contenido óptimo de materia seca en el forraje para ensilar debe de estar entre 25 y 35%. Con valores menores ocurre una fermentación incorrecta que produce una gran cantidad de efluente, lo cual induce una pérdida importante de nutrientes. Por el contrario, si el porcentaje de materia seca es mayor, se facilita el desarrollo de clostridios (*Clostridium tyrobutyricum*); estimula la producción de ácido butírico; aumentan las pérdidas y se reduce la calidad del ensilaje (Ashbell y Weinberg 2000).

3.5.2. Efecto de los carbohidratos solubles

Los carbohidratos solubles constituyen el sustrato del cual dependen primordialmente los microorganismos que facilitan la fermentación del forraje (Romero 2004). Se recomienda que el porcentaje de carbohidratos solubles sea entre 8 a 12% de la materia seca del forraje a ensilar (Cobos 1989).

Las leguminosas se caracterizan por poseer un bajo contenido de carbohidratos solubles, en comparación con los cereales y las gramíneas (Romero 2004). Por lo que Boschini y Elizondo (2003) recomiendan agregar carbohidratos solubles en el material a ensilar cuando este contenga leguminosas.

3.5.3. Efecto de la temperatura

La temperatura óptima para el crecimiento de las bacterias lácticas es entre 27° C y 38° C aunque va a depender de la cantidad de humedad del forraje, el contenido de carbohidratos solubles y el grado de compactación (Boschini y Elizondo 2003).

3.5.4. Efecto del tamaño de partícula

Picar el material a ensilar ayuda mucho a la compactación y es necesario para casi todos los materiales, excepto aquellos que se pueden comprimir fácilmente, como los pastos y arbustos que poseen hojas finas, además, residuos agrícolas con pequeño tamaño de partícula (Jiménez y Rojas 2002).

Ojeda (2000) sugiere que el material sea cortado en trozos no mayores a 2 cm para facilitar la compactación y reducir la cantidad de aire retenido en el forraje. Sin embargo, Mangado (2006) argumenta que, el tamaño de partícula deseable para conseguir una buena compactación del silo varía en función de la materia seca de la masa a ensilar, cuanto mayor es la materia seca del producto se espera que el material se encuentre picado más finamente.

Además, se pueden citar: la calidad nutritiva del material a ensilar, la especie forrajera, estado de la madurez del forraje al momento de corte, contenido de humedad, época del año, tipo de silo, eficiencia de la compactación, tipo de sellado, entre muchos otros (Méndez 2000).

3.6. Aditivos

Son materiales utilizados para mejorar las condiciones del proceso de ensilaje (Mühlbach 2000). Pueden ser mezclas de sustancias, y generalmente se dividen en dos categorías (Boschini y Elizondo 2003) mencionadas a continuación:

3.6.1. Aditivos que favorecen la fermentación

Contrarrestan la escasez de bacterias productoras de ácido láctico o la baja concentración de carbohidratos hidrosolubles, o ambos (Oude *et al.* 2000), a su vez estos pueden ser:

- a. nutricionales: Melaza, urea u otros compuestos nitrogenados.
- b. no nutricionales: Cultivos de bacterias, levaduras, enzimas.

Además, el uso de aditivos como la melaza y los cultivos microbiales, pueden propiciar el ambiente adecuado para la proliferación de bacterias productoras de ácido láctico (Van Soest 1983).

3.6.2. Aditivos que inhiben la fermentación

Se usan generalmente en ensilajes de cultivos con bajo contenido de carbohidratos hidrosolubles y/o alta capacidad tampón, además pueden reducir la cantidad de esporas de clostridios (*Clostridium tyrobutyricum*) los cuales pueden fermentar tanto carbohidratos como proteínas, por lo cual disminuyen el valor nutritivo del ensilaje (Oude *et al.* 2000), a su vez estos pueden ser:

- a. nutricionales: Sal, ácido propiónico, minerales.
- b. no nutricionales: Ácidos, sales ácidas orgánicas, antibióticos e inhibidores de enmohecimiento.

3.7. Ensilaje de gramíneas y leguminosas

El principal propósito de sembrar una asociación entre leguminosas y cereales es aumentar los rendimientos de grano y a la vez elevar la fertilidad del suelo en los sistemas de producción agrícola, recientemente se ha prestado atención a los efectos benéficos de esta práctica para mejorar la calidad nutritiva de un ensilaje (Titterton y Bareeba 2000).

En teoría todas las gramíneas y leguminosas forrajeras pueden ser ensiladas, se prefiere aquellas que producen altos rendimientos de forraje por unidad de superficie, ricas en carbohidratos y proteínas (Boschini y Elizondo 2003).

Estos mismos autores argumentan que, de entre las gramíneas que mejor responden al proceso de ensilaje, se encuentra el maíz. Debe escogerse una variedad de maduración tardía y alta producción de materia seca en climas cálidos y en clima frío se prefieren variedades precoces. Asimismo, determinan que el estado ideal para la cosecha es cuando el grano está pasando por el estado lechoso.

Sandoval (2007) considera el ensilaje de la asociación de maíz (*Zea mays*) y mucuna (*Mucuna pruriens* (L.)) como una alternativa promisoría para mejorar el valor nutritivo del ensilaje de maíz.

Por otro lado, Nieto (2004) observó que, al ensilar el *Arachis pintoi* y el maíz (*Zea mays*) se mejoró los valores de proteína cruda y energía digestible (aumentó); en comparación a los valores obtenidos del maíz ensilado como monocultivo.

Jiménez *et al.* (2005) estudiaron el ensilaje resultante de la asociación de maíz (*Zea mays*) y canavalia (*Canavalia ensiformis*) y obtuvieron valores superiores de proteína cruda y fibra detergente neutro en comparación al ensilaje de maíz como monocultivo.

Otra de las ventajas que se obtienen al ensilar asociaciones entre maíz-leguminosas es la alta digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) del material resultante, en comparación con ensilajes de monocultivos. Dicho argumento se justifica mediante el siguiente cuadro.

Cuadro 3. DIVMS promedio obtenida por diversos autores

	% DIVMS	Referencia
Ensilaje asociación canavalia-maíz	63,2	Jiménez <i>et al.</i> (2005)
Ensilaje de alfalfa	59,5	Romero (2004)
Ensilaje de soya	60,0	Romero y Aronna (2003)
Ensilaje mixto de <i>Avena sativa</i> , <i>Acacia decurrens</i> y <i>Sambucus peruviana</i>	67,1	Blanco <i>et al.</i> (2005)
Ensilaje de maíz	72,4	Peña y Núñez (2002)

Fuente: Adaptada por la autora

3.8. Ensilaje de maíz-vigna

Las investigaciones sobre ensilaje de maíz-vigna son escasas, sin embargo, Titterton y Bareeba (2000) informan que con cultivos separados de maíz y leguminosas (*Desmodium uncinatum*, *Dolichos lablab*, *Vigna unguiculata*, *Lupinus luteus* y *Mucuna deeringiana*) mezclados durante el ensilaje en proporción de 50:50, se produjo una fermentación aceptable. Además, aclaran que, estos ensilajes no mostraron diferencias significativas con el ensilaje de maíz puro, en cuanto a palatabilidad, consumo de MS y en su efecto sobre la producción de leche con vacas Holstein.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la presente investigación se elaboró microsilos utilizando bolsas de empaque al vacío con capacidad de 1 Kg y 0,0063 mm de espesor.

El material a ensilar provino de la asociación de maíz forrajero híbrido (Cristian Bukard® H59) y vigna (*Vigna radiata*) sembradas en una finca en la zona de San Jorge de Upala. Las asociaciones se sembraron en dos densidades (Densidad 1: 70% maíz : 30% vigna y Densidad 2: 60% maíz : 40% vigna). Las proporciones se mantuvieron al momento de cosecha.

Las semillas se mezclaron previo a la siembra, la cual se realizó utilizando una sembradora mecánica de 4 tolvas, a una distancia de 85 cm entre surcos. A la siembra, los cultivos recibieron una dosis de 5 quintales de la fórmula 10:30:10 (N: P₂O₅: K₂O) por cada hectárea y posteriormente el día 30 y 45, recibieron aplicaciones de 1 quintal de urea/ha y 2 quintales de magnesamón/ha, para completar la dosis de 100 kg/N/ha/año.

El material se cosechó a los 85 días después de sembrado, se utilizó una cosechadora New Holland de autopropulsión.

Para la elaboración de los microsilos se utilizó como aditivos la melaza y los cultivos microbiales (dosis: 1 litro de los mismos por cada tonelada de material fresco). Se mezcló con el forraje debidamente cortado y se cuarteó el material para tomar muestras de forma aleatoria y representativa, posteriormente se pesó un kilogramo aproximadamente del material y se colocó en bolsas.

Seguido a esto, se extrajo el aire del material, para lo cual, se empleó una bomba de succión y se selló con cinta adhesiva. Los microsilos se colocaron en un estante a temperatura ambiente durante 60 días.

El día cero (inicio del proceso) se tomó una muestra compuesta por cada tratamiento y se le realizó los análisis de materia seca (MS) (A.O.A.C. 1980), proteína cruda (PC) (A.O.A.C. 1980), extracto etéreo (EE) (A.O.A.C. 1980), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) (Van Soest y Robertson 1985), cenizas (Ce) (A.O.A.C. 1980), fibra detergente neutro (FDN) (Van Soest y Robertson 1985), fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest y Robertson 1985), y una prueba de capacidad buffer (CB) (McDonald 1981) y pH (Rojas 1985).

El proceso de ensilaje del material se interrumpió a los 2 meses, se seleccionó y descartó el material en estado de putrefacción, luego por medio de un examen organoléptico de olor, textura y color se determinó el estado del material.

El material en buen estado, se fraccionó en mitades, una de las cuales se utilizó para la medición de pH, nitrógeno amoniacal (N-NH₃/N-total) (A.O.A.C. 1980) y capacidad buffer. A la otra fracción se realizó los análisis de composición nutricional previamente mencionados y un análisis de lignina (Goering y Van Soest 1970).

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica.

Una vez establecido el mejor tratamiento (llámese mejor tratamiento al que presente las siguientes características: porcentaje alto de PC, porcentajes bajos de FDN y FDA, la mayor DIVMS, contenido bajo de nitrógeno amoniacal (<8,0%) y un pH entre 3,5 y 4,2), se procedió a determinar la concentración energética (NRC 2001), el total de nutrientes digestibles (TND) (Weiss *et al.* 1992) y se fraccionó la proteína por

medio de la metodología descrita por Licitra *et al.* (1996) y Chalupa y Sniffen (1996), para el cual se separaron las fracciones proteicas por medio de su capacidad de solubilización en diferentes medios acuosos.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de tipo Irrestricto al azar con un arreglo factorial. El modelo estadístico empleado, se describe mediante la siguiente ecuación:

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

Donde:

Y_{ij} = Observación de la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ = Efecto común a todas las observaciones

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

F_1 = 2 densidades

F_2 = 3 niveles de melaza

F_3 = cultivos microbiales

E interacciones

e_{ij} = Error experimental asociado a la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

Las comparaciones de los promedios se realizaron a través de la prueba de Waller-Duncan para determinar diferencias entre los tratamientos. Esto se realizó utilizando el programa SAS en su aplicación GLM (SAS 1985). Se trabajó con una probabilidad de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Características nutricionales de la asociación maíz-vigna

En el cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos con respecto a la composición nutricional y las características fermentativas de la asociación maíz-vigna. Información sobre las características agronómicas y nutricionales de esta asociación utilizada para la producción de ensilaje, hasta el momento no se ha publicado, por lo que para efectos de la presente investigación, los resultados obtenidos se compararán contra información descrita por otros autores para asociaciones de gramíneas y leguminosas en general.

Los valores de MS, para los distintos tratamientos, no sobrepasaron el 24%, indicando que es un material alto en humedad. El contenido óptimo de MS de un forraje que se desea ensilar, se encuentra entre 25% y 35% (Ashbell y Weinberg 2000), con esto se reduce el nivel de efluentes y las pérdidas de carbohidratos por esta vía (Vallejo 1995) y las pérdidas por respiración (McDonald 1981), este valor óptimo podría alcanzarse, según recomiendan Chaverra y Bernal (2000), mediante el marchitamiento o desecación del forraje al sol.

En cuanto al contenido de Ce, se observó un aumento en este parámetro, al incrementar el porcentaje de vigna en la asociación. Resultados similares obtuvo Nieto (2004), al incrementar el porcentaje de *Arachis pintoi* asociado con maíz.

Cuadro 4. Composición nutricional de la asociación maíz-vigna

	Densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna						Densidad de siembra 60% maíz: 40% vigna					
	0% melaza		2% melaza		4% melaza		0% melaza		2% melaza		4% melaza	
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
MS	21,88	21,67	23,46	22,91	21,70	14,50	19,32	19,85	20,95	22,07	21,84	22,39
PC	9,98	8,55	9,39	10,33	8,99	8,46	10,64	10,83	10,60	10,87	10,33	7,87
FDN	54,07	54,21	50,48	51,19	49,63	57,13	58,21	55,59	54,05	50,42	50,62	50,80
FDA	31,26	31,44	27,59	28,31	29,47	32,36	35,92	31,98	31,93	28,77	28,69	28,19
EE	1,33	1,56	1,37	1,26	1,02	1,34	1,47	1,69	1,16	1,42	1,36	1,26
Ce	5,44	5,83	6,04	6,07	5,77	5,19	6,36	6,54	6,97	6,79	6,88	7,09
DIVMS	78,42	73,02	70,93	77,75	80,37	73,80	78,04	70,62	75,85	79,33	76,83	79,74
pH	4,73	4,59	4,68	4,77	4,82	4,65	3,77	3,65	4,00	4,21	4,07	4,10
CB	16,72	13,13	16,37	12,76	19,90	12,94	18,36	24,75	21,14	17,14	20,21	19,12

S: Sin cultivos microbiales
 C: Con cultivos microbiales

Los valores de PC de la asociación maíz-vigna, se encuentran entre 7,87% y 10,87%, se puede observar un incremento de PC en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (60% maíz: 40% vigna), es decir que al aumentar el porcentaje de vigna en la asociación, aumentó a su vez el contenido proteico de la misma.

El promedio de PC fue de 9,73%, el cual es superior al obtenido por Jiménez *et al.* (2005) y Chaverra y Bernal (2000), para una asociación maíz-canavalia y un cultivo de maíz como forraje, cuyos resultados fueron de 8,68% y 6,9% de PC. Se evidencia de esta manera el aumento en el contenido proteico por parte de la vigna en un sistema de asocio.

En cuanto al EE, se presentan porcentajes entre 1,02% y 1,69%. El porcentaje mayor se obtuvo en el tratamiento con mayor cantidad de vigna, sin adición de melaza y con cultivos microbiales. Primeramente, se expone el efecto de dilución que provoca la melaza sobre algunos componentes nutricionales de la asociación, entre ellos el contenido de EE, por lo que evidentemente los porcentajes de EE mayores se encuentran en los tratamientos con menor contenido de melaza.

Segundo, se puede observar que en su mayoría los tratamientos con incorporación de cultivos microbiales, tuvieron mayor contenido de EE en comparación con aquellos a los cuales no se les aplicó. Sin embargo, este efecto no es de relevancia en este punto, ya que se está haciendo referencia, a los valores resultantes de una asociación y a que la incorporación de cultivos microbiales se emplea en el mejoramiento de la conservación del ensilado.

Los valores promedio de FDN y FDA en esta investigación, fueron de 53,03% y 30,49% respectivamente, éstos resultan inferiores a los alcanzados en un estudio realizado por Sandoval (2007) en una asociación entre maíz y mucuna (*Mucuna pruriens* (L.)) cosechada a los 75 días, para la cual informó valores promedio de 59,20% y 45,52% de FDN y FDA, respectivamente. Por lo que podría esperarse mejores respuestas en la digestibilidad y consumo de la asociación de maíz-vigna en comparación con la de maíz-mucuna.

Además, se encontró que los contenidos de FDN y FDA (73,82 y 48,75 respectivamente) de un forraje de maíz cosechado a los 84 días (Elizondo y Boschini 2001), resultaron superiores a los obtenidos en la presente investigación. Este mismo comportamiento fue observado por Nieto (2004), y lo atribuye a que la leguminosa, en este caso el *Arachis pinto* posee menores niveles de componentes fibrosos en la pared celular, diluyendo el contenido en la mezcla final de maíz y *Arachis pinto*.

En el presente estudio, todos los tratamientos presentaron valores entre 70,62 y 80,37% de DIVMS, lo que convierte a la asociación de maíz-vigna en un alimento altamente digestible. Al comparar estos resultados con la DIVMS del maíz asociado con canavalia, en una proporción de 70% maíz : 30% canavalia (63,21% de DIVMS) y el maíz como monocultivo (71,4% de DIVMS) (Jiménez *et al.* 2005), se observó que, la asociación maíz-canavalia posee una digestibilidad inferior y que el valor obtenido por dichos autores se encuentra en el límite inferior, dentro de lo estipulado para la asociación maíz-vigna.

Los resultados de DIVMS obtenidos en esta investigación son más altos a los descritos para las asociaciones de *Arachis pinto*-*Brachiaria humidicola* (Hess y Lascano 1997), *Arachis pinto*-*Brachiaria decumbens* (Romero y González 1999) y *Cynodon nlemfuensis*-*Arachis pinto* (González *et al.* 1996), de 60,3%, 62% y 58% de DIVMS, respectivamente.

La capacidad amortiguadora y el pH resultantes en los distintos tratamientos se presentan en el cuadro 4. Playne y McDonald (1966) atribuyen entre 10 y 20% de la capacidad buffer total, al contenido de proteína en el material. Por lo que se podría justificar de esta manera el aumento de la CB en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna. Por otro lado, Nieto (2004), obtuvo capacidades amortiguadoras mayores para la asociación entre maíz-*Arachis pinto*i. En cuanto al pH, se observó una disminución al pasar de los tratamientos de menor porcentaje de vigna a mayor porcentaje en la asociación.

2. Características nutricionales y fermentativas del ensilaje de maíz-vigna

Composición nutricional

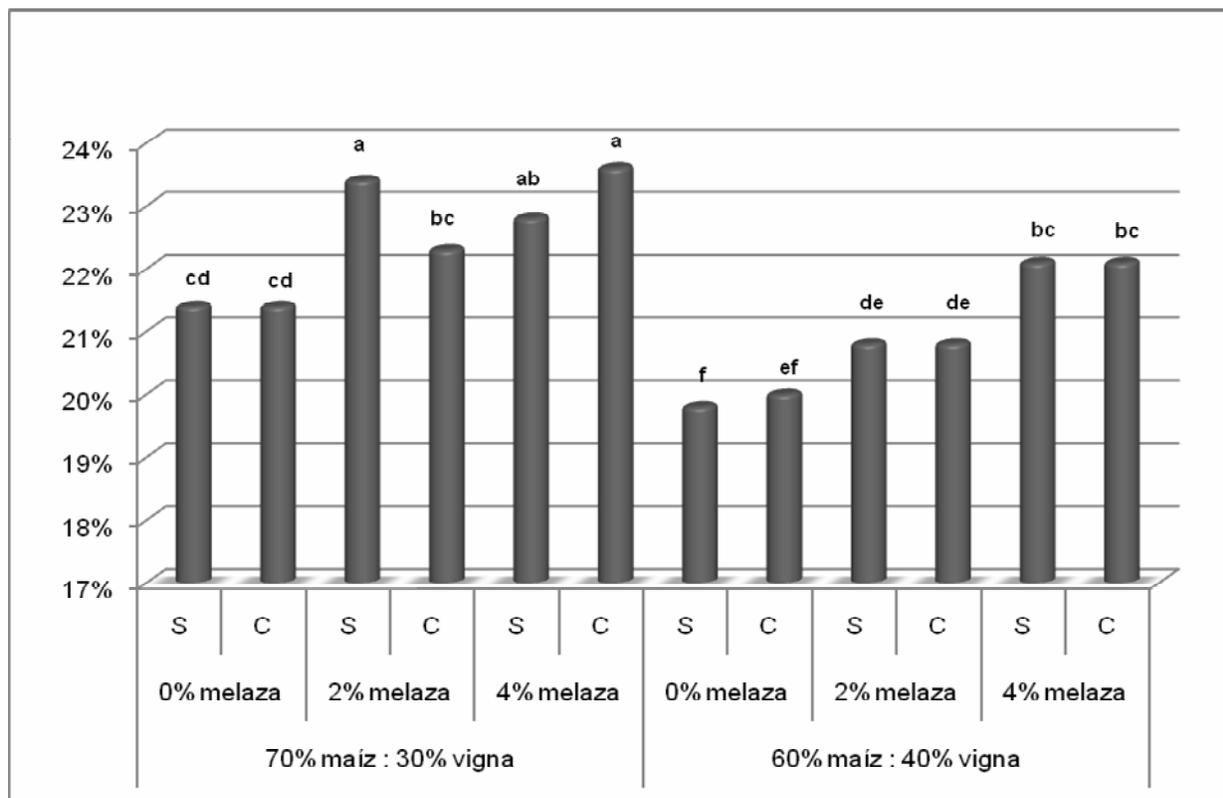
2.1. Materia Seca

De acuerdo a la clasificación sugerida por Boschini y Elizondo (2003) el ensilaje se clasifica de humedad alta, debido a que todos los tratamientos presentan valores de MS inferiores a 25%. Esto se debe al tipo de microsilo empleado, éste no permite la salida de efluentes, por lo que mantiene la humedad inicial (WingChing y Rojas 2006).

Se encontró que el contenido de MS es afectado por el nivel de inclusión de melaza y por la densidad de siembra ($p < 0,0001$). Los mayores contenidos de MS se encontraron en los tratamientos con niveles de inclusión de melaza de 2% y 4% (Figura 1) (Anexo 1).

Tobía *et al.* (2003) y Vallejo (1995), en ensilajes de soya y follaje de árboles y arbustos tropicales respectivamente, observaron una relación directamente proporcional entre el contenido de melaza adicionado a un material y el contenido de MS del mismo, al aumentar el primero, el segundo también lo hace. La melaza aporta gran contenido de MS, que provoca un aumento en el contenido total de la misma (Thomas 1978). Esto justifica el aumento en el contenido de MS en los tratamientos con mayor porcentaje de melaza.

Por otro lado, los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (60% maíz: 40% vigna) fueron los que presentaron los menores porcentajes de MS, esto podría estar indicando que la vigna aporta, hasta cierto punto, humedad al material, lo que provoca una disminución en el contenido de MS total.



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 1. Contenido de materia seca en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

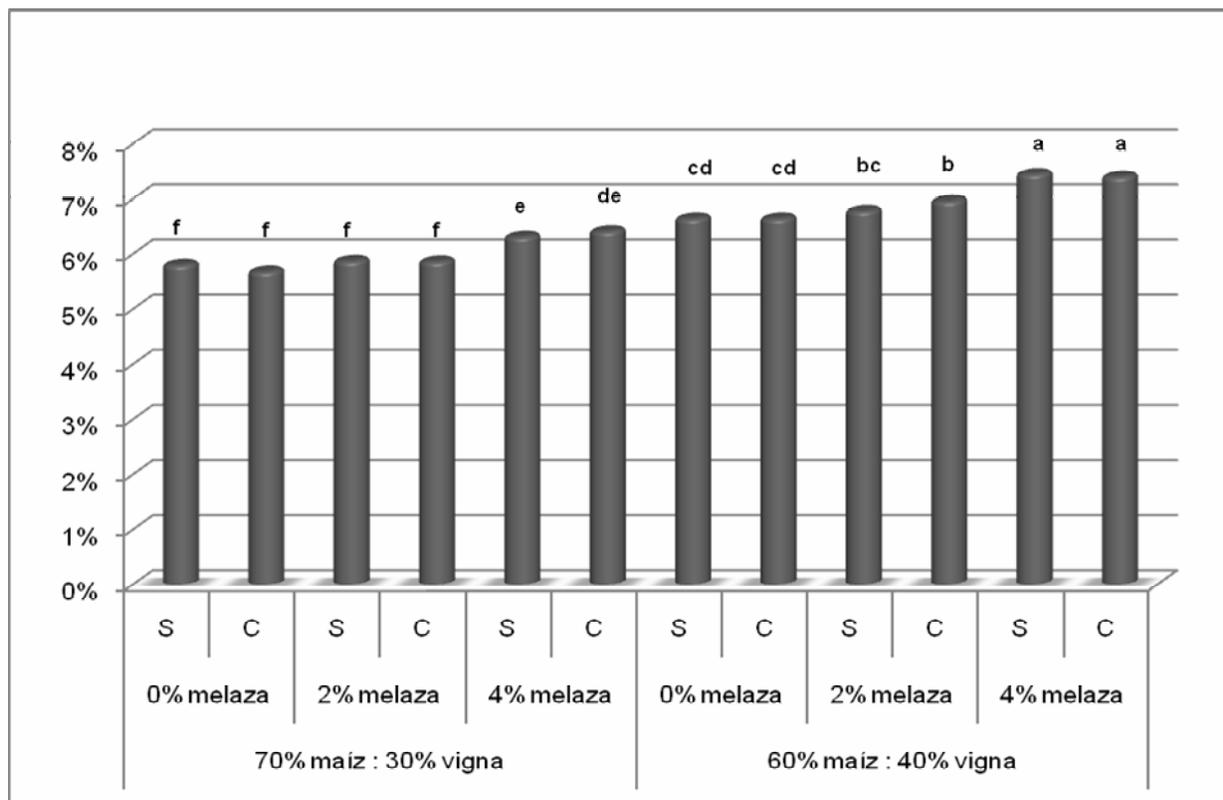
2.2. Cenizas

El contenido de ceniza para los distintos tratamientos fluctuó entre 5,53% y 7,76% de Ce. Chaverra y Bernal (2000) determinaron que contenidos superiores a 12% de Ce, se encuentran relacionados a contaminación con suelo, lo cual podría inducir ocasionalmente a fermentaciones secundarias y reducir el consumo. De aquí es posible deducir, que el material ensilado, no presenta problemas de contaminación.

Se encontró que el contenido de Ce fue afectado por la densidad de siembra y el nivel de inclusión de melaza de una manera altamente significativa ($p < 0,0001$). Asimismo fue posible observar una tendencia creciente en el contenido de cenizas, al incrementar la incorporación de viga y los niveles de melaza en el material. Por lo que, los valores más altos de cenizas fueron dados en los tratamientos con mayor incorporación de viga (60% maíz: 40% viga) y melaza (Figura 2).

Las cenizas representan la cantidad de materia inorgánica, es decir, los minerales contenidos en el material en análisis (García *et al.* 2005), se puede deducir, que el aumento en la concentración de cenizas en los tratamientos con mayor porcentaje de viga, es debido al efecto mineral de esta leguminosa, el cual, provoca un incremento significativo en el contenido de cenizas del material ensilado.

Simultáneo a esto, la melaza parece provocar el mismo efecto sobre la composición nutricional del material. La concentración de minerales en la melaza puede ser desde 9% (Fajardo y Sarmiento 2007) hasta 13,3% (NRC 2001), lo que podría explicar el aumento en el contenido total de cenizas en los tratamientos con mayor contenido de melaza. Resultados similares fueron encontrados por Ojeda y Montejo (2001) y Tobía (2004), para ensilajes de morera y soya, respectivamente.



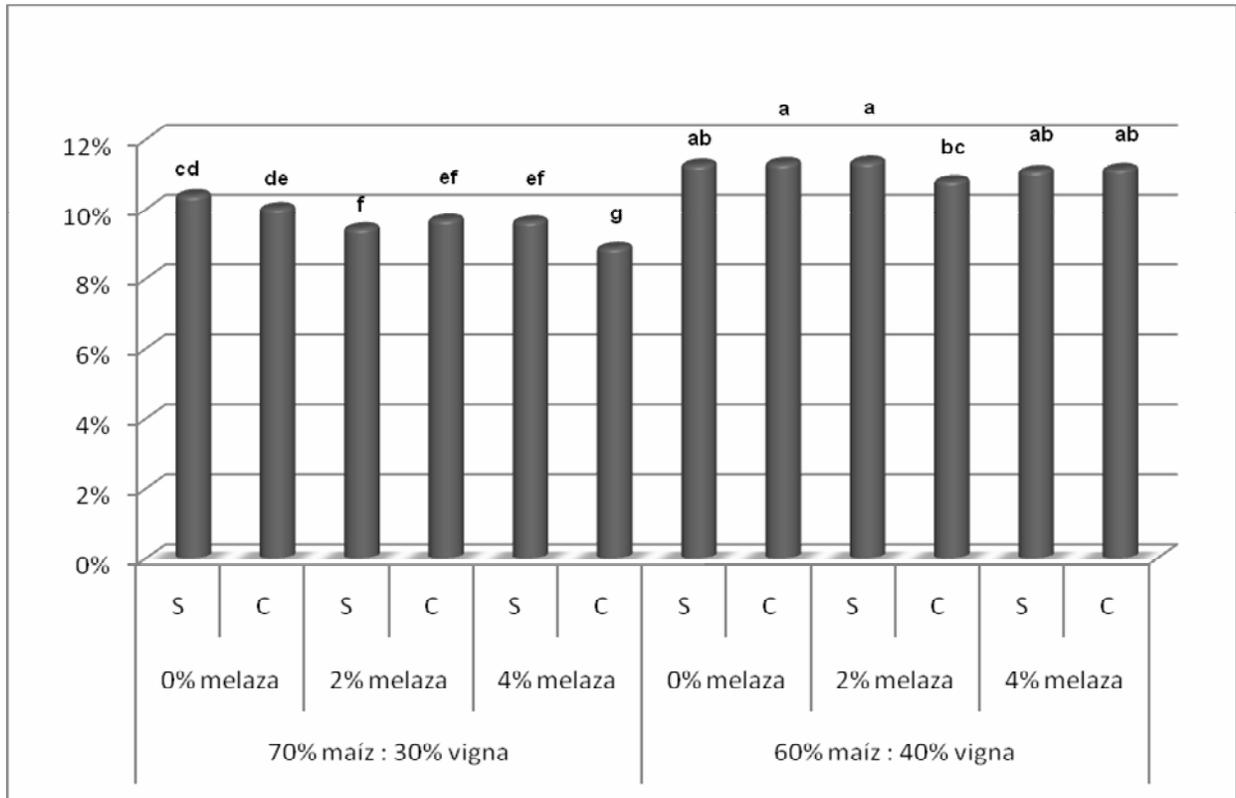
Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 2. Concentración de cenizas en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

2.3. Proteína Cruda

Se observa un aumento significativo en el contenido proteico del material, al incrementar el porcentaje de vigna en la asociación ($p < 0,05$) (Figura 3). Esto concuerda con Cárdenas *et al.* (2003), quienes encontraron una relación directamente proporcional entre el contenido de PC del ensilado de *Pennisetum purpureum* y el incremento en la incorporación de *Albizia lebeck* (una leguminosa arbustiva).



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 3. Concentración de proteína cruda en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

Además, el efecto de inclusión de melaza y la incorporación de cultivos microbiales sobre el contenido de PC de los ensilados, también fue significativo ($p < 0,05$). Sin embargo no se pudo observar una tendencial lineal en cuanto al efecto de la incorporación de los cultivos microbiales, que indique la manera en la que influyen éstos sobre la PC.

Por otro lado, en ambas densidades el valor más alto de PC se obtuvo en el tratamiento sin adición de melaza. Esto podría deberse a un efecto de dilución (Chacón 1987), la MS de la melaza aumenta el contenido de MS total, mas el contenido de proteína sigue siendo el mismo. Este mismo comportamiento fue observado por Betancourt *et al.* (2003) y por Tobía (2004), para un ensilaje de *Leucaena leucocephala* y soya, con niveles de inclusión de melaza de 0%, 2,5% y 5% y de 0%, 3%, 6% y 9%, respectivamente.

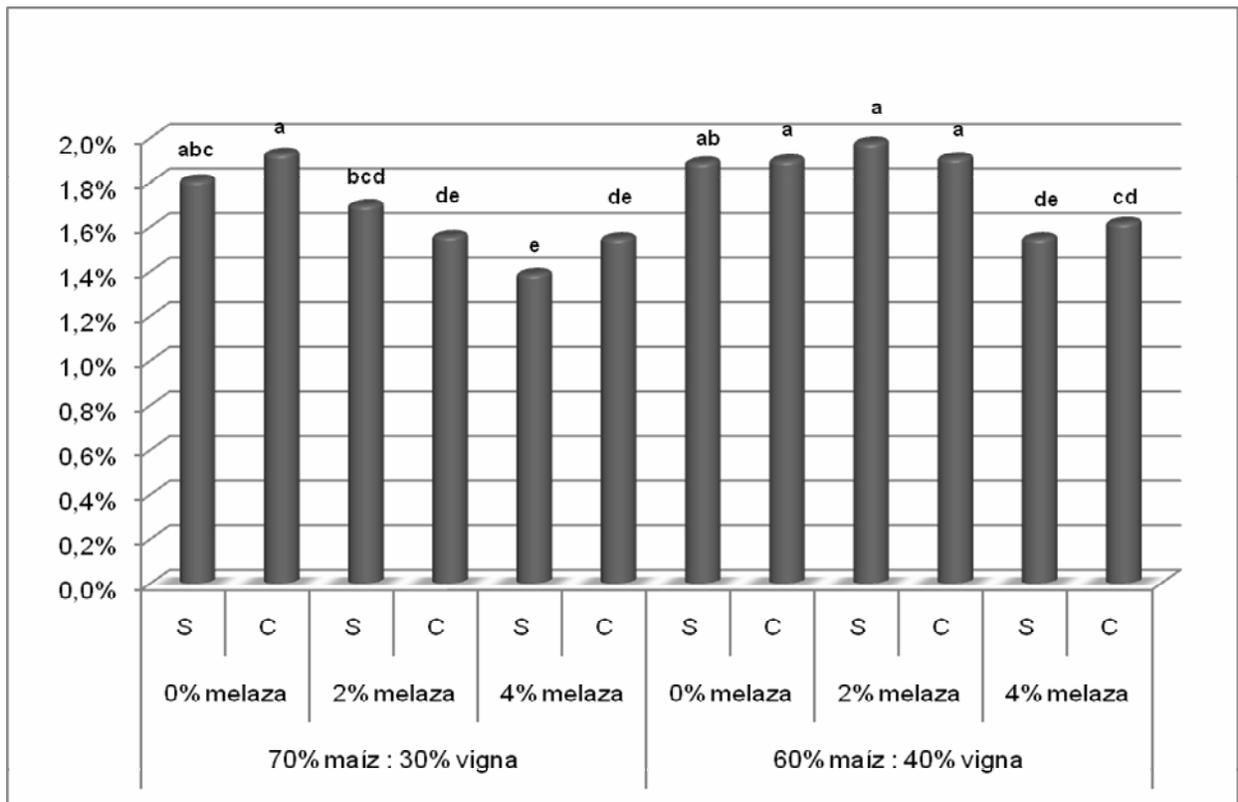
El promedio de PC alcanzado en esta investigación es de 10,42%. Al analizar la información presentada por Jiménez *et al.* (2005) para el ensilado de *Canavalia ensiformes* (una leguminosa) en asocio con maíz (8,68% PC) y los datos de Hazard *et al.* (2001) y Oramas y Vivas (2007), para ensilados de maíz (8,35% y 7,00% respectivamente), se demuestra la importancia de la incorporación de la vigna, en función del aumento del contenido proteico del material ensilado.

2.4. Extracto Etéreo

La densidad de siembra ($p < 0,0007$) y el nivel de inclusión de melaza ($p < 0,0001$) afectaron la concentración de EE significativamente. En su mayoría, los valores más elevados de EE están representados por los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (60% maíz: 40% vigna) (Figura 4).

Sumado a esto, se encontró diferencias significativas entre los 3 niveles de inclusión de melaza; al aumentar el porcentaje de inclusión de este aditivo, disminuye significativamente ($p < 0,05$) el porcentaje de EE. Esto podría tener semejanza a lo sucedido con el comportamiento de la PC ante el incremento en los niveles de inclusión de melaza.

Un comportamiento similar obtuvo Tobía (2004) para un ensilaje de soya; quien consiguió un promedio de 8,65% de EE, de igual manera WingChing (2006) para un ensilaje en *Arachis pinto* superó en 0,57 unidades porcentuales en contenido de EE del ensilaje en estudio (1,73%).



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

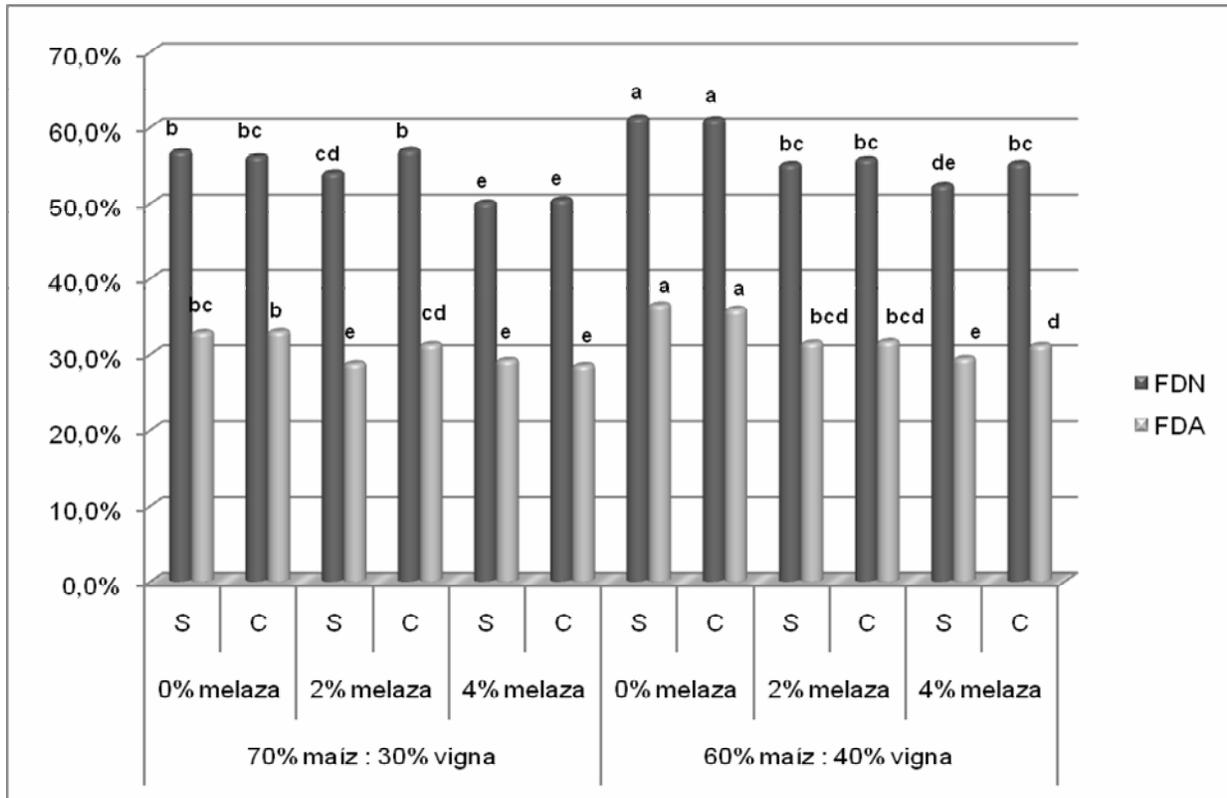
Figura 4. Concentración de extracto etéreo en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales

2.5. Fibra Detergente Neutro y Fibra Detergente Ácida

Tanto la concentración de FDN como la FDA fueron afectadas ante cambios en densidad de siembra y niveles de inclusión de melaza de una manera altamente significativa ($p < 0,0001$). Se encontró que a mayores contenidos de melaza disminuyeron los contenidos de FDN y FDA. Betancourt *et al.* (2002) lo atribuyen al efecto aditivo de componentes solubles de la melaza al contenido total del material. A su vez, se pudo observar que a mayores contenidos de vigna, aumentaron los porcentajes de FDN y FDA (Figura 5). Esto pudo deberse a una posible incorporación fibrosa por parte de las vainas de la vigna.

Sin embargo, se encontró que los valores de FDN y FDA (66,50% y 45,61%, respectivamente) para un ensilaje de maíz (Reyes *et al* 2006), resultaron por encima de los porcentajes obtenidos para los distintos tratamientos en la presente investigación (55,46% y 31,67%, respectivamente). Esto podría estar relacionado a la época de cosecha del material empleado en la elaboración del ensilaje (Johnson *et al.* 2002).

Además, fueron inferiores a los obtenidos por Nieto (2004) para un ensilaje de una asociación de maíz-*Arachis pinto* cosechada a 84 días (55,72% y 31,87% respectivamente), sin embargo, la variedad de maíz puede influir en el resultado de este parámetro. Los tratamientos con mayores contenidos de FDN y FDA para esta investigación (con densidad de siembra 60% maíz: 40% vigna y sin incorporación melaza), podrían traer como consecuencia un llenado físico, que limitaría la capacidad de consumo por parte del animal.



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 5. Concentración de fibra detergente neutro y fibra detergente ácida en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

Se sabe que el contenido de FDA comprende principalmente a la celulosa y la lignina del componente forrajero, lo que está relacionado estrechamente con la fracción no digestible del forraje (García *et al.* 2005), por lo que se esperaría encontrar una mayor digestibilidad en el tratamiento con menores contenidos de FDA.

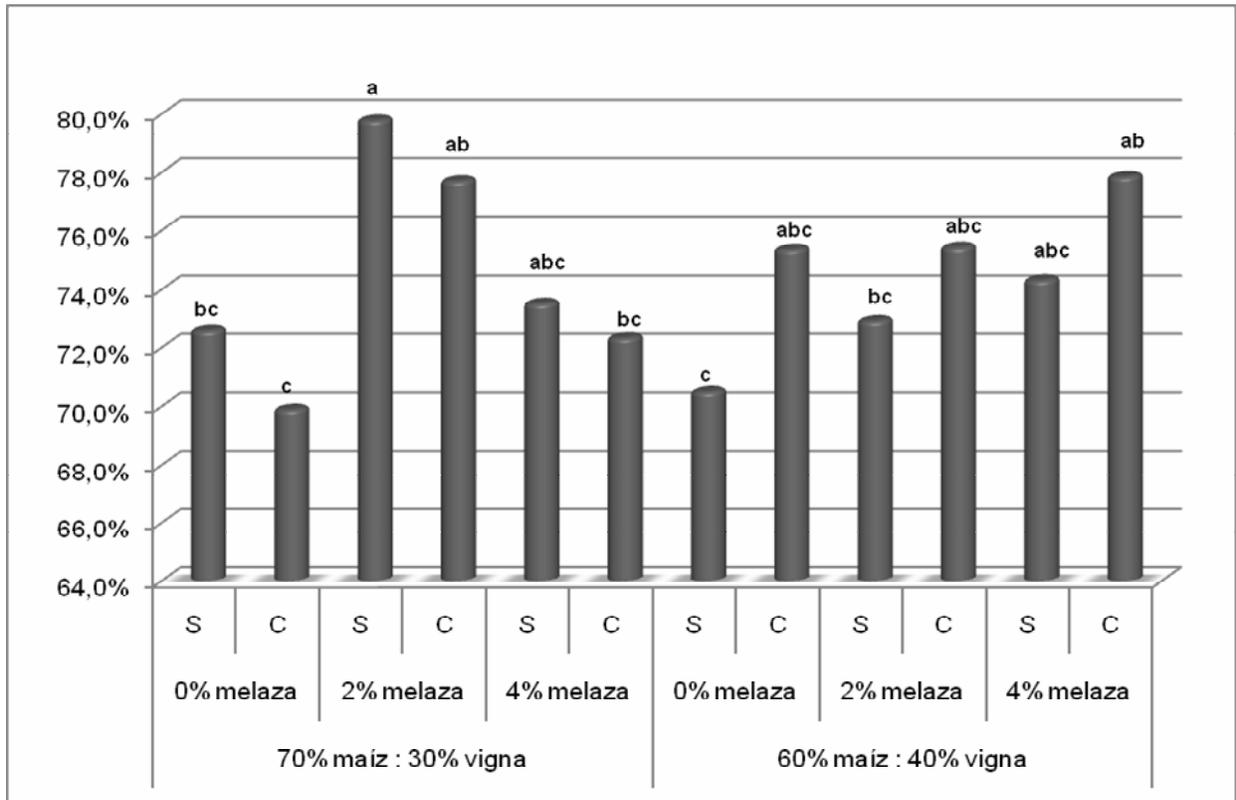
Por su parte la FDN comprende la celulosa, hemicelulosa y lignina; suministra una mejor estimación del contenido de fibra del alimento y está estrechamente relacionada con el consumo del mismo, siendo éstos inversamente proporcionales (García *et al.* 2005). Chaverra y Bernal (2000) añaden que, a medida que la concentración de FDN en la ración aumenta, la producción de leche se reduce. Sin embargo debe de existir una cantidad mínima de fibra (28% según NRC, 2001), para mantener entre otras cosas, la fermentación ruminal normal y un consumo de materia seca y energía adecuados (Van Soest 1994).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, los tratamientos con menores cantidades de FDN y que presentarían un mayor aprovechamiento por parte del animal, corresponden en este caso, a aquellos con densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna y con los mayores porcentajes de incorporación de melaza.

2.6. DIVMS

El promedio general de la DIVMS (74,3%) en la presente investigación resultó superior al obtenido por varios autores para diversos tipos de ensilajes (cuadro 3), lo cual puede estar relacionado, según comentan Oramas y Vivas (2007), a la madurez del cultivo y/o al contenido de carbohidratos estructurales (entre ellos la lignina), ya que un aumento en el contenido de éstos últimos, provoca una disminución en la DIVMS, puesto que los carbohidratos estructurales son menos digestibles que los componentes solubles de las plantas.

Además, es de importancia tomar en cuenta que porcentajes altos en la digestibilidad, como los obtenidos en la presente investigación, aumentan el consumo por parte de los animales (Chaverra y Bernal 2000), lo que favorecería por lo tanto su crecimiento y producción de leche o carne.



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 6. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

Por otro lado, la digestibilidad del material se vio afectada de manera significativa, únicamente, por la incorporación de melaza ($p < 0,01$). Se plantea que no existe una tendencia lineal en los porcentajes de DIVMS con respecto a los 3 niveles de inclusión de melaza (Figura 6).

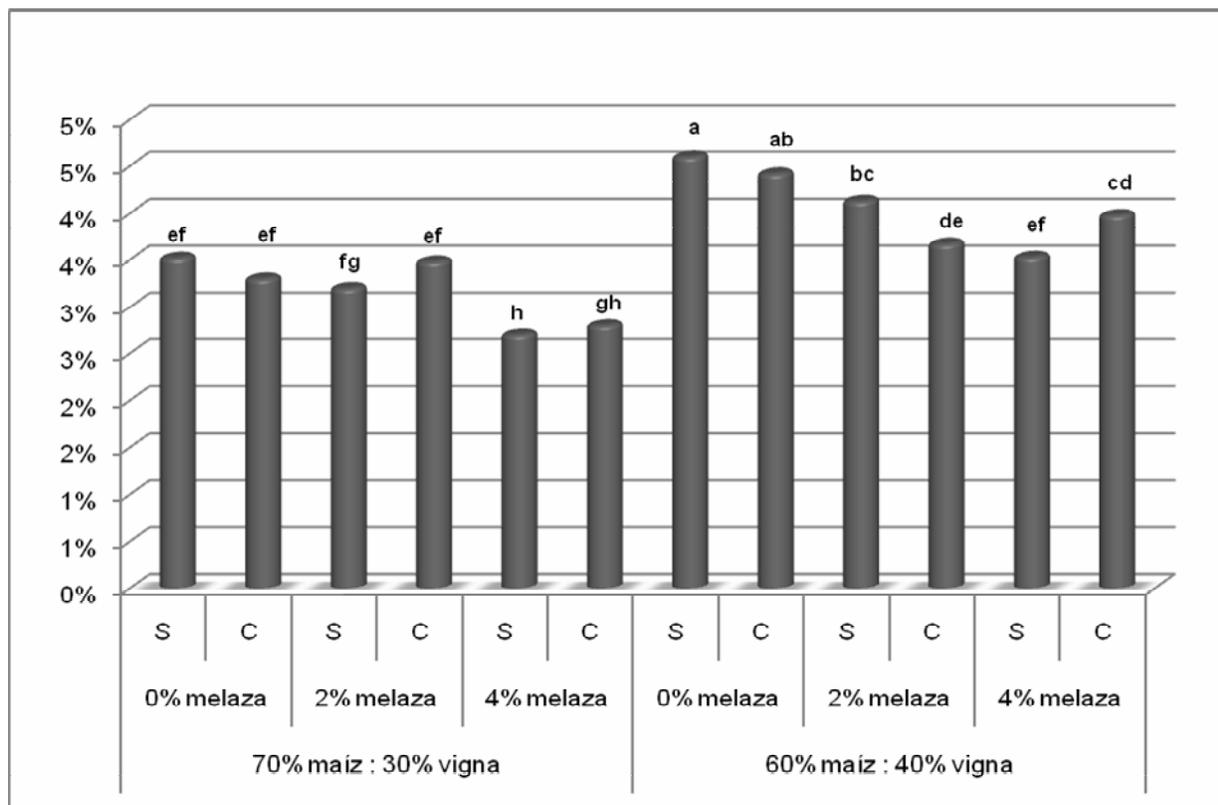
Contrario a esto, Chacón (1987) y Vallejo (1995), encontraron que al incrementar el porcentaje melaza, aumentaba la DIVMS, en un ensilaje de *Pennisetum purpureum* y ensilajes de follajes de árboles y arbustos tropicales, respectivamente.

Para efectos de la presente investigación, no existe significancia sobre la DIVMS, entre incluir o no cultivos microbiales al material. Esto contradice lo expuesto por Vieira *et al.* (2005), quienes comentan que la incorporación de cultivos microbiales promueve la reducción de los componentes fibrosos (FDN, FDA, celulosa y hemicelulosa), y por ende, afecta positivamente la DIVMS del material. Esta diferencia podría deberse, a que los cultivos microbiales empleados en esta investigación, no sean afines a los componentes fibrosos del material y por ende no se vea afectada la DIVMS.

2.7. Lignina

En el presente estudio, se puede observar que la densidad de siembra y el porcentaje incluido de melaza afectaron de una forma altamente significativa ($p < 0,0001$) el contenido de lignina del material ensilado. A su vez, el porcentaje más bajo de lignina se encontró en el tratamiento con 4% de melaza, densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna y sin incorporación de cultivos microbiales

Bach y Calsamiglia (2006), comentan que las leguminosas contienen más lignina que las gramíneas, por lo que se justifica de esta manera, el aumento en el contenido de lignina en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (Figura 7).



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 7. Concentración de lignina en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

La lignina es un componente casi indigerible para el animal rumiante, su presencia puede inhibir total o parcialmente la digestión de los otros constituyentes orgánicos. Por lo que podría esperarse que la digestibilidad sea afectada por un alto contenido de lignina y por la unión de la lignina con la celulosa y hemicelulosa, lo que impediría que éstas dos últimas fueran aprovechadas por el animal (Bertoia 2004).

Sin embargo, a nivel de la presente investigación, el contenido de lignina de los tratamientos, no es lo suficientemente alto como para afectar la digestibilidad de los mismos, incluso en los tratamientos con mayor incorporación de vigna, esto de acuerdo a los resultados obtenidos de DIVMS.

Boschini (2003) presenta valores de 5,81-7,09% de lignina, para ensilaje de morera mezclado con maíz cosechados a 120 y 135 días respectivamente; superiores a los conseguidos en el presente experimento (2,70-4,60%).

En este caso, es relevante el componente arbustivo de la morera, el cual acrecienta el porcentaje de lignina resultante. Por otro lado, Jiménez *et al.* (2005) informan porcentajes que se encuentran dentro del rango obtenido en la presente investigación, para ensilajes de maíz y maíz asociado con canavalia (*Canavalia ensiformes*), de 2,82% y 3,60%, respectivamente.

Características fermentativas

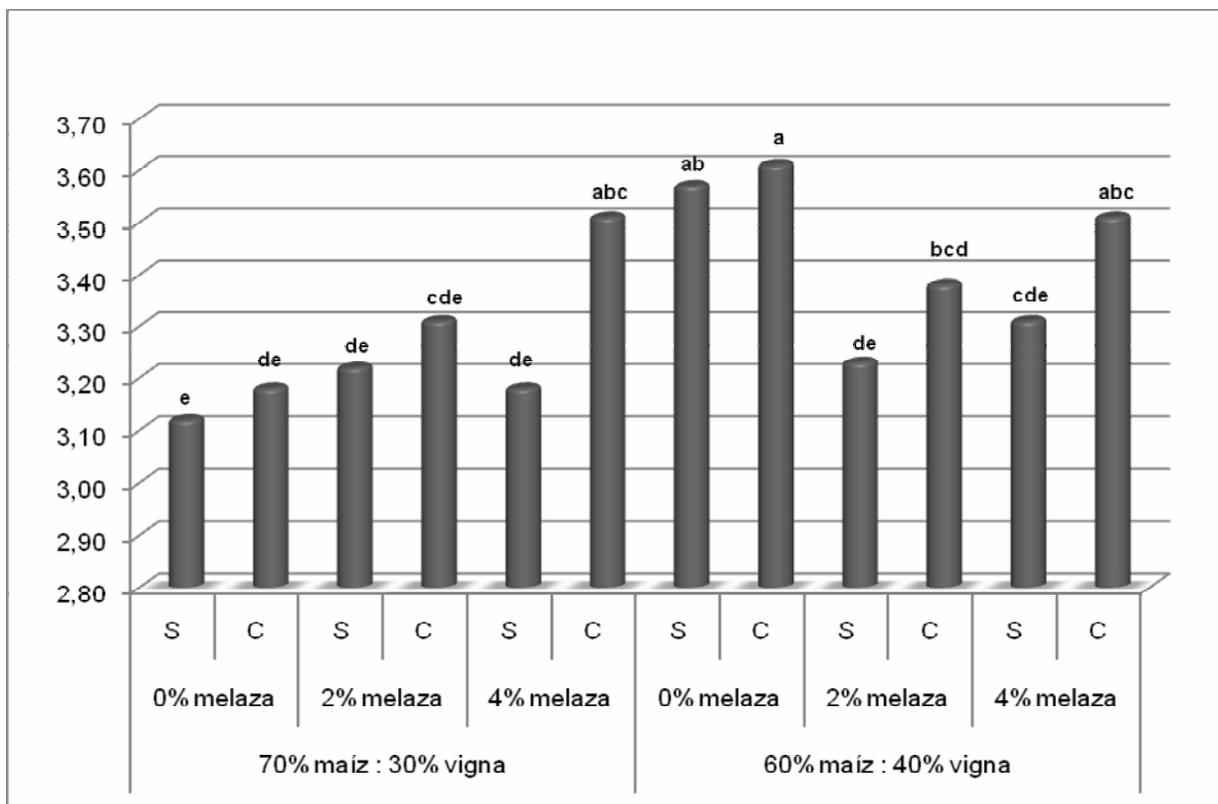
2.8. Grado de acidez (pH)

Los valores de pH obtenidos estuvieron entre 3,12 y 3,61. Resultando inferiores a los obtenidos por Oramas y Vivas (2007) para un ensilaje de maíz (3,72-3,77).

De acuerdo con el estudio de Mangado (2006), representado en el cuadro 2, se puede deducir que, la fermentación predominante fue la láctica y que el valor nutricional del ensilaje de la asociación maíz-vigna es alto.

Sandoval (2007) sugiere que, pH inferiores a 4,2 pueden estar relacionados a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV).

En la presente investigación, todos los tratamientos obtuvieron valores de pH por debajo de 4,2, por lo que podría esperarse una dominancia en la producción de ácido láctico y una adecuada conservación del material. Sin embargo, los valores más bajos podrían suponer dificultades en el consumo por parte de los animales (Chaverra y Bernal 2000).



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 8. Valor de pH en los ensilados de maíz-viña con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

En promedio, para la presente investigación se obtuvo un valor de pH de 3,34, inferior al obtenido por Nieto (2004), para un ensilaje de maíz-*Arachis pinto* (3,45) y uno de maíz como monocultivo (3,55). Esto pudo ser provocado por la presencia de mayor cantidad de ácido láctico, es decir por una mejor preservación del material.

En cuanto a los efectos principales, WingChing y Rojas (2006), encuentran una respuesta significativa en la disminución del pH a medida que se incrementa el porcentaje de inclusión de melaza (0%, 3% y 6%), en un ensilaje de *Arachis pinto*. Contrario a esto, en la presente investigación no existe una respuesta significativa ante el cambio en el nivel de inclusión de melaza.

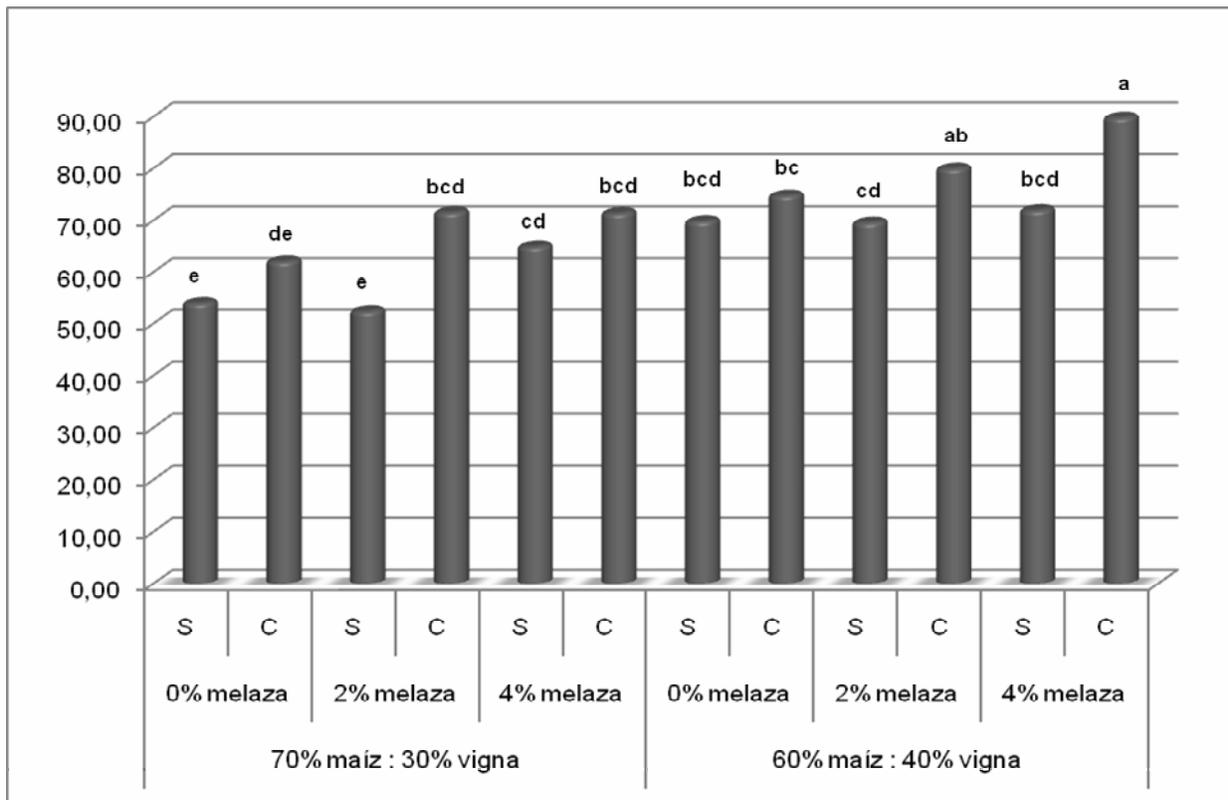
Por otro lado, Tobía (2004) encontró una relación directamente proporcional entre la incorporación de cultivos microbiales y una respuesta en la disminución del pH de la soya ensilada. Contrario a este y para efectos de la presente investigación, se observa que con la incorporación de cultivos microbiales, incrementa significativamente ($p < 0,002$) el pH del material.

2.9. Capacidad Buffer

McDonald (1981) define que la capacidad buffer del forraje fresco se incrementa de tres a cuatro veces durante el periodo en el cual el material se encuentra ensilado. De esta manera es posible justificar el incremento en la capacidad buffer del material después del proceso de ensilaje.

En cuanto a los efectos principales que afectaron significativamente ($p < 0,05$) la capacidad buffer del material se encuentran: la densidad de siembra, los niveles de melaza incluidos y la presencia (o ausencia) de cultivos microbiales.

La alta capacidad buffer que poseen las leguminosas influye en el proceso de ensilaje (Sandoval 2007). De aquí que se observen tendencias crecientes de la capacidad amortiguadora, ante incrementos en el porcentaje de vinya en la asociación (Figura 9).



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales

C= Con cultivos microbiales

Unidades= meq NaOH/100 g MS

Figura 9. Capacidad buffer de los ensilados de maíz-vinya con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

Por otro lado, la capacidad amortiguadora promedio del ensilaje maíz-vigna, resultó superior a la obtenida por Nieto (2004), quien obtuvo un promedio de 59,86 meq NaOH/100 g MS, para ensilajes de la mezcla forrajera de maní (*Arachis pintoï*) y maíz.

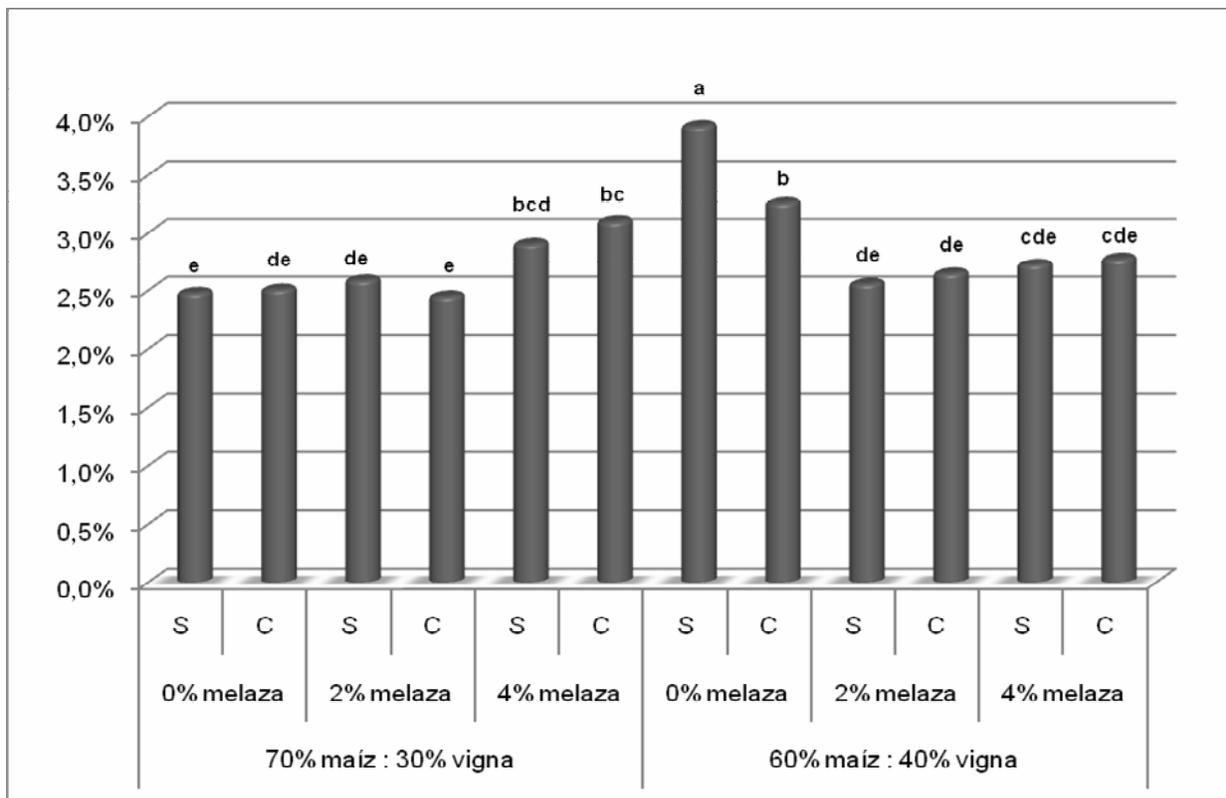
Sin embargo, Wilkings y Doyle (2001) argumentan que la elevada capacidad amortiguadora (buffer) de las leguminosas puede conllevar a una incorrecta fermentación durante el proceso de ensilaje y por ende a la producción de ácido butírico y acético, los cuales son productos indeseables en un sistema de ensilaje. No obstante, los resultados en la presente investigación indican lo contrario.

2.10. N-NH₃/N-total

Un parámetro de suma importancia a considerar en los ensilajes es el nitrógeno amoniacal en el material estabilizado. Este parámetro indica la proteólisis (destrucción de las proteínas del pasto) que se produjo durante la fermentación (Fernández 1999).

Según Ojeda *et al.* (1991), en un ensilaje bien conservado se considera como óptima una concentración menor de 7% de nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total. Por su parte, Westra (2000) relaciona el contenido de N-NH₃/N-total con la calidad nutricional del material ensilado, y estima que, materiales con valores inferiores al 10% de N-NH₃/N-total, pueden considerarse de alto valor nutricional. Sumado a esto, Chaverra y Bernal (2000), argumentan que ensilajes con contenidos bajos de nitrógeno amoniacal, son el resultado de una fermentación en la que predomina el ácido láctico.

De esta manera, en la presente investigación, el máximo valor de N-NH₃/N-total alcanzado fue de 3,92%. Por lo que es posible considerarlo, un ensilado preservado adecuadamente, de alta calidad nutricional y cuya fermentación predominante fue la láctica. Asimismo, este porcentaje fue inferior a los alcanzados por Hazard *et al* (2001) y Nieto (2004) para ensilajes de maíz en monocultivo, en los cuales se obtuvo valores promedio de 4,73% y 12,15%, respectivamente.



Nota: Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

S= Sin cultivos microbiales
C= Con cultivos microbiales

Figura 10. Concentración de nitrógeno amoniacal en los ensilados de maíz-vigna con tres niveles de inclusión de melaza y adición de cultivos microbiales.

Además, el contenido de nitrógeno amoniacal presentó variaciones altamente significativas ($p < 0,0001$) con respecto a la inclusión de melaza. Las tendencias obtenidas con respecto a la variación en el porcentaje de $N-NH_3/N$ -total provocada por la inclusión de melaza, en la presente investigación no concuerdan con lo observado por Chacón (1987), quien encontró que la adición de melaza en el ensilaje de *Pennisetum purpureum* indujo a una disminución del nitrógeno amoniacal.

Esta misma tendencia fue señalada por Betancourt *et al.* (2002), para un ensilaje de *Leucaena leucocephala* en el cual se probaron tres niveles distintos de inclusión de melaza (0%, 2,5% y 5%).

3. Caracterización del contenido energético y calidad de la proteína del ensilaje de maíz vigna

Por medio de los parámetros de calidad nutricional y capacidad fermentativa se estableció como mejor tratamiento al material proveniente de la densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna, con adición de melaza al 2% (p/p) y sin la aplicación de cultivos microbiales. A este material, se le estimó el contenido energético y se fraccionó el contenido de proteína, por medio de la solubilidad de cada fracción.

Contenido energético

En el cuadro 5 se detallan las estimaciones del contenido energético y los nutrientes digestibles totales del ensilaje de maíz-vigna. Los resultados obtenidos en la presente investigación son notoriamente similares a los encontrados por Nieto (2004), para un ensilaje maíz-*Arachis pintoi* (NDT= 63,36; ED = 2,79 Mcal/kg MS; EM=2,29 Mcal/kg MS; EN_m= 1,42 Mcal/kg MS; EN_g= 0,84 Mcal/kg MS; EN_l= 1,43 Mcal/kg MS). Superiores a los hallados, por este mismo autor para un ensilaje de maíz (NDT= 60,91; ED= 2,68 Mcal/kg MS; EM=2,20 Mcal/kg MS; EN_m= 1,34 Mcal/kg MS; EN_g= 0,76 Mcal/kg MS; EN_l= 1,37 Mcal/kg MS), por Conejo (2002) en pasto maní forrajero (*Arachis pintoi*).

Los valores de NDT obtenidos en la presente investigación resultaron superiores a los promediados por Villalobos (2006) (a tres veces mantenimiento) en pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) (61,95%) y Sánchez y Soto (1999) (a una vez mantenimiento) en pastos: San Juan blanco (*Setaria anceps*), San Juan morado (*Setaria anceps*), Brachiaria ruzi (*Brachiaria ruziziensis*), Estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*), King grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), (56,2; 52,8; 53,7; 53,8; 47,8 y 56,7 respectivamente).

Por lo tanto, el contenido energético y de NDT del ensilaje de maíz-vigna, resulta comparable e incluso superior al aportado por diversos forrajes y ensilados de forrajes empleados en la alimentación animal, en regiones templadas. Esto podría deberse al aporte nutricional por parte de la vigna, ya que cuando se cosechó el material había presencia de granos (en dichas plantas).

Cuadro 5. Nutrientes digestibles totales y contenido energético en términos calóricos del ensilaje de maíz-vigna

Parámetro	Promedio	Desviación estándar
NDT (%)	63,87	1,23
ED (Mcal/Kg MS)	2,82	0,05
EM (Mcal/Kg MS)	2,31	0,05
EN _m (Mcal/Kg MS)	1,44	0,04
EN _g (Mcal/Kg MS)	0,85	0,04
EN _l (Mcal/Kg MS)	1,45	0,03

NDT= Nutrientes digestibles totales, ED= Energía digestible, EM= Energía metabolizable, EN_m= Energía neta de mantenimiento, EN_g= Energía neta de ganancia, EN_l= Energía neta de lactancia

Fraccionamiento de proteína

El fraccionamiento de proteína se encuentra desglosado en el cuadro 6. La fracción A corresponde al nitrógeno no proteico (amoníaco, urea, nitritos, aminos, aminoácidos y péptidos menores a 10 aminoácidos), la degradabilidad y digestibilidad de esta fracción es instantánea. A su vez las fracciones B₁ (de rápida solubilidad), B₂ (solubilidad variable) y B₃ (de variable a lenta solubilidad) corresponden al nitrógeno proteico.

Por su parte, la fracción C, es el producto de reacciones Maillard, proteína ligada a la lignina y N-ligado a taninos, es completamente indegradable en el rumen e indigestible a nivel intestinal (Licitra *et al.* 1996).

En cuanto a la distribución de las fracciones, en relación al valor de proteína cruda (9,44%) se pudo observar que la fracción A correspondió a un 2,3%, las fracciones B₁, B₂ y B₃ representan un 0,18%, 2,65% y 2,38% respectivamente, y la fracción C un 1,93%, del contenido total de proteína cruda.

Cuadro 6. Fraccionamiento de proteína del ensilaje de maíz vigna

Fracción	Fracción proteica como porcentaje de la proteína total
A + B ₁	26,22
B ₂ + B ₃	53,31
C	20,48

Nota: La información de las fracciones proteicas se presenta en forma porcentual como contenido de proteína cruda y como porcentaje del contenido total de PC.

La fracción A + B₁ pertenece a la proporción soluble de proteína en el rumen, la cual es moderadamente alta para el ensilaje de maíz-vigna, por su parte B₂ + B₃ representan a la fracción insoluble aprovechable, corresponde a la vez, a la de mayor contenido en el ensilaje de maíz-vigna.

Por último la fracción C representa un 20% del contenido total de la proteína en el material, se puede por lo tanto observar que casi un 80% de la proteína, puede ser aprovechada de alguna manera, por el animal. Sin embargo este porcentaje es relativamente elevado y resulta superior al encontrado por Brito y Broderick (2006) para un ensilaje de maíz (2,10%). Esto podría deberse a que las leguminosas poseen un mayor contenido de lignina, por lo que se espera encontrar mayores contenidos de fracción C en ensilajes que integren leguminosas como es el caso del ensilaje de maíz-vigna con respecto al ensilaje de maíz en monocultivo. Esto convierte al ensilaje de maíz-vigna en un alimento que puede ser aprovechado en animales de mediana-alta producción.

Van Soest (1994), propone que el rango de N-ligado en fibra detergente ácida (N-FDA) para alimentos para animales debe ser entre 3% y 15%. De acuerdo con esto, se puede considerar que el ensilaje de maíz vigna contiene un valor adecuado de N-FDA. Además el ensilaje de maíz-vigna no presentó daño térmico en su contenido de proteína, esto, tomando en cuenta lo establecido por Mahanna (1997) quien propone como rango óptimo de N-FDA para ensilajes, valores entre 12% y 15%.

CONCLUSIONES

Sobre la asociación maíz-vigna:

Los valores elevados de humedad, podría traer como consecuencia a nivel práctico una gran cantidad de efluentes, lo cual induce una pérdida importante de nutrientes.

El contenido de cenizas fue elevado en todos los tratamientos, se observó un aumento en este parámetro, con el incremento en el porcentaje de vigna en la asociación, lo que podría estar indicando el aporte mineral por parte de la vigna en el sistema de alimentación en estudio.

La PC obtenida para todos los tratamientos, supera valores alcanzados por asociaciones de maíz-*Arachis pinto*i y maíz-canavalia, por lo que se concluye que la vigna hace una contribución al enriquecimiento proteico de un sistema de asocio con maíz.

La asociación maíz-vigna presentó valores aceptables de FDN y FDA, los cuales favorecerían un ambiente ruminal adecuado y una alta digestibilidad por parte del animal, lo cual está reflejado en la alta DIVMS que presentan los tratamientos en estudio.

Sobre el ensilaje de maíz-vigna:

La melaza juega un papel importante en el contenido nutricional y las características fermentativas del ensilado de maíz-vigna, esto justifica su uso y el porcentaje de inclusión que mejor balance entre componentes nutricionales dio, fue el de 2%, ya que un 4%, provoca disminuciones drásticas en el contenido de PC y EE.

Los cultivos microbiales influyeron significativamente sobre CB y el pH de ensilado de maíz vigna, sin embargo su efecto sobre las características fermentativas no es significativo, por lo que su implementación no es justificada en un sistema de ensilaje bajo estos parámetros.

A mayor proporción de vigna (densidad de siembra 60% maíz: 40% vigna), se obtuvo los contenidos de PC, EE y cenizas mayores, sin embargo, también aumentaron la FDN, FDA y lignina, lo que provoca resultados más bajos de digestibilidad de material ensilado, por lo que se considera como adecuada la densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna.

El ensilaje de maíz-vigna presentó un alto contenido energético y de NDT, comparable incluso, con diversos forrajes empleados en la alimentación animal, en regiones templadas. Por su parte la fracción aprovechable de la proteína total resultó ser de un 80%.

En general, el ensilaje maíz-vigna independientemente del uso de aditivos, presenta características fermentativas, que permiten la correcta preservación del material. La digestibilidad fue alta para la mayoría de los tratamientos, lo que convierte al ensilaje de maíz-vigna en un alimento de alto aprovechamiento por parte del animal, esto favorecería tanto su crecimiento, como producción de leche o carne. Además se encontró que, tanto el contenido proteico como el energético aportado por la vigna, son capaces de mejorar la composición nutricional de ensilajes de gramíneas en monocultivo. Por lo que el ensilaje de maíz-vigna podría ser empleado en la alimentación de animales de mediana-alta producción.

LITERATURA CONSULTADA

- ARGEL P.; VILLAREAL M. 1998. Nuevo maní forrajero perenne (*Arachis pintoi*) Krapovickis y Gregori. Cultivar Porvenir (CIAT 18744). Leguminosa herbácea para la alimentación animal, el mejoramiento y conservación del suelo y el embellecimiento del paisaje. Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (MAG). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Boletín Técnico. p. 32.
- ASHBELL G.; WEINBERG Z. 2000. Ensilaje de cereales y cultivos forrajeros en el trópico. FAO. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s09.htm#TopOfPage>
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. 1980. Methods of analysis. ed. Washington, D.C. E.E.U.U. Association of Oficial Agricultural Chemist. p. 1140.
- BACH A.; CALSAMIGLIA S. 2006. La fibra en los rumiantes: ¿Química o física?. XXII Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España. p. 99-112.
- BERNAL J.; CHAVERRA H.; ACEVEDO G.; ARCINIEGAS A.; ÁNGEL M. 2002. Ensilaje, heno y henilaje: Tipos, métodos y nuevas tecnologías. Ángel comunicaciones ed. CO. p.168.
- BERTOIA L. 2004. Algunos conceptos sobre ensilaje. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Argentina. Consultado el 15/01/08 en: <http://mejorpasto.com.ar/UNLZ/2004/TX3.htm>
- BETANCOURT M.; CLAVERO T.; RAZZ R. 2002. Características nutritivas del ensilaje de *Leucaena Leucocephala* con diferentes aditivos. Revista Científica 7(Supl 2): 502-504.
- BETANCOURT M.; MARTÍNEZ DE ACURERO M.; BRAVO J.; RAZZ R.; CLAVERO T. 2003. Efecto de la melaza, ácido fórmico y tiempo de fermentación sobre el contenido de proteína cruda y nitrógeno amoniacal en ensilaje de *Leucaena Leucocephala*. Zootecnia Tropical. 21(3): 289-300.

- BLANCO G.; ROSENDO D.; ARREAZA L.; REY A. 2005. Evaluación nutricional del ensilaje de *Sambucus peruviana*, *Acacia decurrens* y *Avena sativa*. Revista CORPOICA. 6(2):81-85. Consultado el 15/01/08 en: http://www.corpoica.org.co/Archivos/Revista/9_EvaluaNutricional_81-85_v6n2.PDF
- BOSCHINI C. 2003. Características físicas y valor nutritivo del ensilaje de morera (*Morus alba*) mezclado con forraje de maíz. Agronomía Mesoamericana. 14(1): 51-57.
- BOSCHINI C.; ELIZONDO J. 2003. Curso teórico y práctico de ensilaje de forrajes. Serie Agrotecnológica 1. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. p. 3-29.
- BRAVO E. 1965. Pruebas de henificación en Rabiza (*Vigna sinensis*) bajo condiciones naturales. Tesis presentada a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar al grado de Ingeniero Agrónomo. 86 p.
- BRITO A.; BRODERICK G. 2006. Effect of varying dietary ratios of alfalfa silage to corn silage on production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 3925-3938.
- BUSTAMANTE M. 1988. Extracción de almidón a partir del frijol mungo (*Vigna radiata*). Proyecto de graduación presentado a la Carrera Interdisciplinaria de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciada en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 90 p.
- CANELONES C.; CASTEJON M. 2006. Harinas de planta entera (*Vigna unguiculata*) y de mazorca de maíz (*Zea mays*) como suplemento para becerros antes del destete. Zootecnia Tropical. 24(3): 361-378.
- CÁRDENAS J.; SANDOVAL C.; SOLORIO F. 2003. Composición química de ensilajes mixtos de gramíneas y especies arbóreas de Yucatán, México. Técnica Pecuaria. 41(3): 283-294.

- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 2003. Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica. N° 333. Cali, Colombia. p. 56.
- CHACÓN H. 1987. Determinación de los cambios físicos-químicos durante la fermentación del pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en microsilos. Tesis presentada a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar el grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 72 p.
- CHALUPA W.; SNIFFEN C. 1996. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle today and tomorrow. *Animal Feed Science and Technology* 58: 65-75.
- CHAVERRA G.; BERNAL E. 2000. Ensilaje en la alimentación de ganado vacuno. IICA. Tercer Mundo Editores. Bogotá, Colombia. p. 65-123.
- CIPRES. 2007. Abono verde. Managua, Nicaragua. Consultado el 12/09/07 en: <http://www.cipres.org/cec/AbonoVerde/index.html>
- CLARO A.; RIVEROL M.; PORRAS P.; CABRERA E.; LLANES J.; HERNÁNDEZ J.; SOMOZA V. 1997. Las asociaciones maíz-leguminosas: su efecto en la conservación de la fertilidad de los suelos. *Agronomía Mesoamericana*. 8(1): 65-73.
- COBOS M. 1989. Técnicas de ensilaje y construcción de silos forrajeros. Ficha Técnica. Secretaria de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. p. 2.
- CONEJO A. 2002. Producción de biomasa y valor nutricional de la línea de maíz forrajero CIAT 18744A en la Zona Tropical Húmeda de Costa Rica. Tesis presentada para optar al grado de Licenciada en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 69p.
- DIAZ M.; PADILLA C.; GOZALEZ A.; MORA C. 2002. Producción y composición bromatológica de harinas de Vigna: de forrajes, integrales y de granos. *Agricultura Técnica*. 62(2): 266-274.

- DIAZ M.; GONZÁLEZ A.; PADILLA C.; CURBELO F. 2004. Comportamiento de variedades de *Vigna unguiculata* y *Glycine max* en producción de forrajes y granos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 38(1): 85-86.
- DUARTE J. 1991. Efectos de los cultivos de maíz (*Zea mays*) o vigna (*Vigna unguiculata* (L) Walp) sobre el crecimiento de tres gramíneas forrajeras cuando se establecen en asocio, en Turrialba, Costa Rica. Tesis sometida a la consideración del comité Técnico Académico del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas Y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de Magíster Scientiae. Turrialba, Costa Rica. 122 p.
- ELIZONDO J.; BOSCHINI C. 2001. Efecto de la densidad de siembra sobre el rendimiento y calidad del forraje de maíz. *Agronomía Mesoamericana*. 12(2): 181-187.
- FAJARDO E.; SARMIENTO S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. p. 24.
- FERNÁNDEZ A. 1999. El ensilaje y los procesos fermentativos. *Revista electrónica Producción Animal*. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Consultada el 15/01/08 en:
http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silo_s/01-el_silaje_y_los_procesos_fermentativos.htm
- GARCÍA A.; THIEX N.; KALSCHEUR K.; TJARDES K. 2005. Interpretación del análisis del ensilaje de maíz. College of Agriculture & Biological Sciences. South Dakota State University. E.E.U.U. Consultada el 22/04/08 en:
<http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4027S.pdf>
- GOERING H K.; VAN SOEST JP. 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications) *Agricultural Handbook* N° 379. ARS-USDA, Washington, D.C.
- GONZÁLEZ M.; VAN HEURCK L.; ROMERO F.; PEZO D.; ARGEL P. 1996. Producción de leche en pasturas de Estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) solo y asociado con *Arachis pintoi* o *Desmodium ovalifolium*. *Pasturas Tropicales*. 18 (1): 2-12.

- GUTIÉRREZ W.; MEDRANO C.; MATERAN M.; VILLALOBOS Y.; ESPARZA D.; BÁEZ J.; MEDINA B. 2001. Evaluación del rendimiento y nodulación del frijol *Vigna unguiculata (L.) Walp* bajo dos sistemas de labranza en las condiciones agro-ecológicas de la planicie de Maracaibo, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 18: 237-246.
- HAZARD S.; MORALES M.; BUTENDIECK N.; GÓMEZ P.; MARDONES P. 2001. Evaluación de la mezcla ensilaje de maíz con ensilaje de trébol rosado en diferentes proporciones, en la alimentación invernal de vacas lecheras en la Zona Sur. Agricultura Técnica. 61(3). Consultado el 15/01/08 en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-28072001000300006&script=sci_arttext
- HESS H.; LASCANO C. 1997. Comportamiento del consumo de forraje por novillos en pasturas de gramínea sola y asociada con una leguminosa. Pasturas Tropicales. 19(2): 12-20.
- HIGUERA A.; FONTALVO J.; NIÑO L.; SÁNCHEZ J.; DELGADO A.; VILLALOBOS R.; MONTIEL M. 2003. Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* o *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo de harina de semillas de frijol *Vigna unguiculata (L.) Walp.*, frijol chino (*Vigna radiata L.*) y quinchoncho (*Cajanus cajan (L.) Millsp.*). Ciencia. Maracaibo, Venezuela. 11(1): 14-21.
- INIFAP. 2002. Maíz asociado con mucuna. Excelente sistema de producción para el ganadero guerrerense. Folleto para productores. N° 8. Área agrícola. México. p. 3
- JANA C.; BARRIGA P.; KRARUP A.; FUENTES R. 2000. Eficiencia de la asociación maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*). Agro Sur. 28(1): 71-80.
- JIMÉNEZ C.; ROJAS W. 2002. Recomendaciones prácticas para la elaboración y uso de ensilajes. Segunda edición. Serie: Utilización de cultivos forrajeros. N° 3. Proyecto VAS-ED-59. Servicio Asistencia Técnica Forrajes. Escuela de Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- JIMÉNEZ P.; CORTÉS H.; ORTÍZ S. 2005. Rendimiento forrajero y calidad del ensilaje de canavalia en monocultivo y asociada con maíz. Acta Agronómica. 54(2). Consultado el 16/10/07 en: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/110/240

- JOHNSON L.; HARRISON J.; DAVIDSON D.; ROBUTTI J.; SWIFT M.; MAHANNA B.; SHINNERS K. 2002. Corn Silaje management II: Effects of hybrid, maturity, and mechanical processing on digestion and energy content. *Journal of Dairy Science* 85: 2913-2927.
- JORGENSEN N.; CROWLEY J. 1985. Ensilaje de maíz para el ganado. Editorial Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. p. 1-47.
- LICITRA G.; HERNÁNDEZ T.; VAN SOEST P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 57: 347- 358.
- LON-WO E.; RODRÍGUEZ B.; DIEPPA O. 2001. Evaluación económico-biológica de harina de vigna (*Vigna unguiculata*) en dietas isoprotéicas para pollos de engorde. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 35:25.
- LOPEZ A; VEGA I. 2004. Cultivos de cobertura para sistemas de cultivos perennes. Guía Técnica N° 3. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. p. 7-10.
- MACHADO R.; HERNÁNDEZ J. 1991. Evaluación inicial de variedades de *Vigna spp.* para la producción de forraje. *Pastos y forrajes*. 14(3): 199-207.
- MADRIZ P.; LUCIANI J. 2004. Caracterización agronómica de 20 cultivares de frijol mungo *Vigna radiata*(L.) *Wilczek*, en tres épocas de siembra, en Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela*. 21:19-35.
- MAHANNA B. 1997. Troubleshooting silage problems with “Seed to Feed” consideration in silage: Field to Feedbunk. *Proceedings of the silage: Field to Feedbunk. North American Conference: 346-382:NRAES Publication 99. Cooperative Extension, Ithaca, NY.*
- MANGADO J. 2006. Como realizar correctamente el ensilaje de maíz. *Revista AFIGRA*. N° 64. p 56-62.
- McDONALD P. 1981. *The biochemistry of silage*. John Willey and Sons, Ltd, New York. p. 226.

- MÉNDEZ M. 2000. Aprendamos sobre ensilajes. Núcleo de formación y servicios tecnológicos agropecuarios Subsector Zootecnia. Instituto Nacional de Aprendizaje (INA). Editorial INA. San José, Costa Rica. p. 1-10.
- MÜHLBACH P. 2000. Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales. FAO. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.fao.org/docrep/005/x8486s/x8486s0b.htm>
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. Ed. Washington D.C. National Academy Press. p. 381.
- NICOLÁS N.; URIBE S.; LÓPEZ E.; CAMACHO R.; TURRENT A. 1999. Sistema maíz-leguminosa-frijol y la fertilización mineral en terrazas de muro vivo. *Agronomía Mesoamericana*. 10(2): 59-67.
- NIETO J. 2004. Caracterización nutricional y productiva de material fresco y ensilado de maní forrajero (*Arachis pintoi*) cultivado en asocio con maíz (*Zea mays*), a tres densidades de siembra. Tesis presentada a la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales para optar al grado académico de Magíster Scientiae. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 68 p.
- OJEDA F. 2000. Técnicas de cosecha y ensilado. FAO. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s0a.htm#TopOfPage>
- OJEDA F.; CÁCERES C.; ESPERANCE M. 1991. Conservación de forrajes. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba. p.80.
- OJEDA F.; MONTEJO I. 2001. Conservación de la morera (*Morus alba*) como ensilaje. I. Efecto sobre los compuestos nitrogenados. *Pastos y forrajes* 24: 147-155.
- OLIVARES R.; KEES M. 2004. Técnicas de manejo y conservación de suelos y aguas para pequeños productores de la provincia de Chaco. Dirección de Suelos y Agua Rural. Subsecretaría de Recursos Naturales y Medio Ambiente. Secretaría de Producción Primaria. Ministerio de la Producción. Argentina. p. 12-14.

- ORAMAS C.; VIVAS N. 2007. Evaluación de dos híbridos y una variedad de maíz (*Zea mays*) en monocultivo y en asociación con frijol (*Phaseolus vulgaris*), para ensilaje. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 5(1): 34-35.
- OUDE S.; DRIEHUIS F.; GOTTSCHAL J.; SPOELSTRA S. 2000. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. FAO. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s04.htm>
- PELÁEZ N.; MALUENGA A.; MADRIZ P.; TRUJILLO A.; TORRES A. 2003. Fenología y evaluación de las estructuras reproductivas de cultivares de frijol mungo en dos localidades del estado Portuguesa, Venezuela. *Agronomía Tropical*. 53(1): 87-108.
- PEÑA R.; NÚÑEZ H. 2002. Potencial forrajero de poblaciones de maíz y relación entre atributos agronómicos con la calidad. Universidad Tecnológica Pecuaría de México. p 45-67.
- PLAYNE M.; McDONALD P. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *Journal Science Food Agriculture*. 17: 264-268.
- QUIRÓS A.; MARÍN D. 2003. Rendimiento en granos y eficiencia de una asociación maíz (*Zea mays*) y Quinchoncho (*Cajanus cajan*) con o sin fertilización. *Bioagro*. 15(2): 121-128.
- REYES W.; JIMÉNEZ C.; ROJO F.; FIGUEROA M.; HERNÁNDEZ J.; LANDEROS P.; LÓPEZ Y.; ISAÍAS V.; PALACIOS E.; JUÁREZ C. 2006. Evaluación de la calidad nutricional y contaminación por hongos y micotoxinas en el ensilado destinado al consumo animal. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*. Universidad de Gadalajara. México. p. 816.
- ROJAS A. 1985. Effect of rolled corn silage on digestion of nutrients and feed lot performance of growing steers. A thesis submitted to the graduate faculty in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. Iowa State University Ames, Iowa.
- ROMERO F.; GONZÁLEZ J. 1999. Produciendo más leche mediante pasturas asociadas con *Arachis pintoi*. *Tropileche*. Hoja informativa No. 6

- ROMERO L. 2004. Ensilaje de leguminosas con énfasis en alfalfa y soja. Revista Electrónica Producción Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Consultada el 15/01/07 en: http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/61-ensilaje_de_leguminosas.htm
- ROMERO L.; ARONNA S. 2003. Ensilaje de soja. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.elsitioagricola.com/articulos/romero/Ensilaje%20de%20Soja.asp>
- SANCHEZ J.; SOTO H. 1999. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. III. Energía para la producción de leche. Serie Técnica Nutrición Animal Tropical. Centro de Investigación en Nutrición Animal. 5(1): 31-49.
- SANDOVAL B. 2007. Características agronómicas y nutricionales de asociaciones de gramíneas y leguminosas tropicales. Tesis presentada como cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de Maestro en Ciencias en Agronomía. Universidad de Puerto Rico. 102 p.
- SANTIESTEBAN R.; ZAMORA A.; HERNÁNDEZ L.; ARMELA E.; GOMEZ E. 2001. Densidad de siembra en frijol (*Vigna radiata* (L)) en dos épocas, en suelos fluvisoles. Revista Electrónica Granma Ciencia. 5(2):1-4. Consultada el 12/09/07 en: http://www.grciencia.granma.inf.cu/vol5/no.2/art/2001_05_02_a03.pdf
- SAS. 1985. Statistical Analysis System. SAS User's Guide: Statistics (Version 5 Ed.) SAS Institute Inc. Cary, NC.
- SHONG S.; ALVES A. 2002. Comportamento de linhagens de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.) em Santa Catarina. Ciência rural. Universidad Federal de Santa Maria, Brazil. 32(4): 553-558.
- SOMARRIBAS M. 2007. Efecto de diferentes densidades de maíz y diferentes agotamientos del agua disponible en el suelo sobre la producción de forraje de maíz asociado con mucuna. Informe final del proyecto de graduación presentado a la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Desarrollo Integrado de Regiones Bajo Riego para optar al grado de Magíster. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 90 p.

- THOMAS J. 1978. Preservatives for conserved forage crops. *Journal of Animal Science*. 47(3): 721-735.
- TITTERTON M.; BAREEBA F. 2000. Ensilaje de gramíneas y leguminosas en los trópicos. FAO. Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. Consultado el 12/09/07 en:
<http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s06.htm#TopOfPage>
- TOBÍA C. 2004. Introducción del ensilaje de Soya en un sistema de producción Intensiva de leche en el Trópico Húmedo de Costa Rica. Tesis presentada al Programa de Doctorado en Sistemas de Producción Agrícola Tropical Sostenible para optar al grado de Philosophiae Doctor. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 120 p.
- TOBÍA C.; URIBE L.; VILLALOBOS E.; SOTO H.; FERRIS I. 2003. Aislamiento, selección y caracterización de bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya. *Agronomía Costarricense*. 27(2): 21-27.
- VALLEJO M. 1995. Efecto del premarchitado y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 117 p.
- VAN SOEST J.P. 1983. Nutritional ecology of the ruminant. Oregon, O & Books. p. 139-153.
- VAN SOEST J.P. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd. Ed. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York. p. 476.
- VAN SOEST J.P; ROBERTSON J. 1985. Analysis of forages and fibrous feeds. Cornell University. Ithaca, New York. p. 165.
- VIEIRA A.; GOMES O.; GARCIA R.; VALADARES S.; CECON P.; FORTES C. 2005. Composición bromatológica y Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca de ensilajes de maíz y sorgo tratados con inoculantes microbianos. *Revista Brasileña de Zootecnia*. 34(6): 1881-1890.

- VIEIRA M.; ESCOBAR J.; MEJÍA N. 2001. Cultivos para el mejoramiento y diversificación de los sistemas de producción. Requerimientos agro-ecológicos y aspectos productivos. Proyecto CENTA-FAO-Holanda. El Salvador. p. 29.
- VILLALOBOS L. 2006. Disponibilidad y valor nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) en las zonas altas de Costa Rica. Tesis presentada para optar por el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 127p.
- WEISS W.P.; CONRAD H.P; St. PIERRE N.R. 1992. A theoretically based model predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. Anim. Feed. Sci. Tech. 39:95-110.
- WESTRA R. 2000. El arte de ensilar. Revista electrónica Producción Animal. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Consultada el 15/01/08 en:http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/40-arte_de_ensilar.htm
- WILKINGS R.; DOYLE C. 2001. Legume silages for animal production. Increasing profits with forage legumes. Consultado el 15/01/08 en: <http://www.fao.org/ag/AGP/agpc/doc/silage/legume/english.pdf>
- WINGCHING R. 2006. Evaluación del proceso de ensilaje de *Arachis pintoii*. Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales para optar al grado de Magíster Scientiae en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales con énfasis en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 65 p.
- WINGCHING R.; ROJAS A. 2006. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. Agronomía Costarricense. 30(1): 87-100.

ANEXOS

Anexo 1. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de la asociación de maíz-vigna

	Densidad de siembra 70% maíz: 30% vigna									Densidad de siembra 60% maíz: 40% vigna									
	0% melaza			2% melaza			4% melaza			0% melaza			2% melaza			4% melaza			
	S	C		S	C		S	C		S	C		S	C		S	C		
MS	21,44 ^{cd}	21,45 ^{cd}	23,44 ^a	22,29 ^{bc}	22,77 ^{ab}	23,60 ^a	19,76 ^f	20,02 ^{ef}	20,78 ^{de}	20,84 ^{de}	20,78 ^{de}	22,14 ^{bc}	22,11 ^{bc}						
PC	10,39 ^{cd}	10,03 ^{de}	9,44 ^f	9,69 ^{ef}	9,64 ^{ef}	8,88 ^g	11,28 ^{ab}	11,32 ^a	11,36 ^a	11,36 ^a	10,80 ^{bc}	11,10 ^{ab}	11,16 ^{ab}						
FDN	56,85 ^b	56,16 ^{bc}	54,02 ^{cd}	57,03 ^b	50,10 ^e	50,50 ^e	61,26 ^a	61,04 ^a	55,12 ^{bc}	55,12 ^{bc}	55,80 ^{bc}	52,40 ^{de}	55,23 ^{bc}						
FDA	32,88 ^{bc}	33,01 ^b	28,76 ^e	31,31 ^{cd}	29,21 ^e	28,52 ^e	36,52 ^a	35,96 ^a	31,52 ^{bcd}	31,52 ^{bcd}	31,70 ^{bcd}	29,46 ^e	31,19 ^d						
EE	1,81 ^{abc}	1,93 ^a	1,70 ^{bcd}	1,56 ^{de}	1,39 ^e	1,55 ^{de}	1,89 ^{ab}	1,90 ^a	1,98 ^a	1,98 ^a	1,91 ^a	1,55 ^{de}	1,62 ^{cd}						
Ce	5,80 ^f	5,68 ^f	5,87 ^f	5,86 ^f	6,31 ^e	6,41 ^{de}	6,64 ^{cd}	6,64 ^{cd}	6,78 ^{bc}	6,78 ^{bc}	6,96 ^b	7,45 ^a	7,40 ^a						
DIVMS	72,58 ^{bc}	69,89 ^c	79,78 ^a	77,70 ^{ab}	73,51 ^{abc}	72,33 ^{bc}	70,50 ^c	75,35 ^{abc}	72,91 ^{bc}	72,91 ^{bc}	75,42 ^{abc}	74,32 ^{abc}	77,85 ^{ab}						
pH	3,12 ^e	3,18 ^{de}	3,22 ^{de}	3,31 ^{cde}	3,18 ^{de}	3,51 ^{abc}	3,57 ^{ab}	3,61 ^a	3,23 ^{de}	3,23 ^{de}	3,38 ^{bcd}	3,31 ^{cde}	3,51 ^{abc}						
CB	53,94 ^e	62,09 ^{de}	52,36 ^e	71,57 ^{bcd}	64,88 ^{cd}	71,43 ^{bcd}	69,85 ^{bcd}	74,79 ^{bc}	69,58 ^{cd}	69,58 ^{cd}	79,97 ^{ab}	71,98 ^{bcd}	89,83 ^a						
Lig.	3,52 ^{ef}	3,30 ^{ef}	3,20 ^{fg}	3,48 ^{ef}	2,70 ^h	2,80 ^{gh}	4,60 ^a	4,42 ^{ab}	4,13 ^{bc}	4,13 ^{bc}	3,67 ^{de}	3,53 ^{ef}	3,98 ^{cd}						
N-NH ₃ *	2,48 ^e	2,51 ^{de}	2,59 ^{de}	2,45 ^e	2,91 ^{bcd}	3,10 ^{bc}	3,92 ^a	3,26 ^b	2,56 ^{de}	2,56 ^{de}	2,65 ^{de}	2,73 ^{cde}	2,78 ^{cde}						

* N-NH₃/N-total

S: Sin cultivos microbiales

C: Con cultivos microbiales