

## Nota técnica

# VALOR NUTRICIONAL DEL ENSILAJE DE MAÍZ CULTIVADO EN ASOCIO CON VIGNA (*Vigna radiata*)<sup>1</sup>

Marianela Castillo Jiménez\*, Augusto Rojas-Bourrillón\*\*, Rodolfo WingChing-Jones<sup>2/\*\*</sup>

**Palabras clave:** Proteína cruda, nutrimentos digestibles totales, fibra detergente neutro, fraccionamiento de proteína, fríjol mungo, fríjol rabiza.

**Keywords:** Crude protein, total digestible nutrient, neutral detergent fiber, crude protein fraction, mung beans, rabiza beans.

Recibido: 11/11/08

Aceptado: 12/02/09

## RESUMEN

Se cuantificó la fermentabilidad y valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*) mediante la técnica de microsilos. Se trabajó con 2 densidades de siembra de maíz y vigna (70:30 y 60:40), 3 niveles de melaza (0, 2 y 4% p/p) e inóculo bacteriano (con o sin). El material se cosechó a 85 días de sembrado. Al material antes de ensilar y ensilado se le determinó 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), capacidad buffer (CB), pH, nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup>) y lignina. Al mejor tratamiento, se le fraccionó la PC y se estimó el contenido energético. La asociación maíz-vigna presentó un contenido de humedad, digestibilidad y Ce alto; PC y EE aceptables y contenidos de FDN y FDA bajos. En el material ensilado, la densidad de siembra afectó la MS, Ce, PC, EE, FDN, FDA, lignina, N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup>, CB y pH. La melaza modificó la composición nutricional y las características fermentativas de los tratamientos, excepto el pH. El inóculo bacteriano afectó la PC, CB y pH del material. La densidad de siembra 70:30, con adición de 2% de melaza y sin inóculo bacteriano presentó valores de DIVMS y PC altos, porcentajes de FDN y FDA bajos, N-NH<sub>3</sub> bajo y un pH inferior a 4,2. En este ensilaje se estimó un valor

## ABSTRACT

**Nutritional value of silage made with a mixture of corn and mung bean (*Vigna radiata*).** Two corn and mung bean intercropping densities (70:30 and 60:40), 3 molasses levels (0.2 and 4%) and bacterial inoculum (with or without) were used to determine the nutritive value of silage made out of corn and mung beans mixtures. The mixture crop was harvested at 85 days and ensiled in plastic bag microsiles. Dry matter content (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), in vitro dry matter digestibility (IVDMD), ash, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), buffer capacity (BC), pH, ammonia nitrogen (N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup>) and lignin were determined before and after silage. The CP fractions and the energy content were determined only in the best treatment. Moisture content, IVDMD and ash were high; CP and EE value were acceptable, but NDF and ADF were low in the fresh mixture. Dry matter, ash, CP, EE, NDF, ADF, lignin, N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup> content, BC and pH value in the silage material were affected by intercropping density. The silage nutritional composition and the fermentative characteristics were influenced by molasses, but the pH value was not. Crude protein, BC and pH were modified by bacterial inoculum. Silage made out of intercropping density of 70:30 plus 2% molasses, with no bacterial inoculum, presented the highest CP, IVDMD, the lowest

1 Este trabajo forma parte de la tesis de licenciatura de la primera autora. Licenciatura en ingeniería agronómica con énfasis en Zootecnia. Escuela de Zootecnia. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

2 Autor por correspondencia. Correo electrónico: rodolfo.wingching@ucr.ac.cr

\* Escuela de Zootecnia. Universidad de Costa Rica.

\*\* Escuela de Zootecnia. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica.

de NDT (1X) de 63,9% y de ED, EM, EN<sub>m</sub>, EN<sub>g</sub> y EN<sub>l</sub> de 2,8, 2,3, 1,4, 0,8 y 1,4 Mcal.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. La fracción proteica se separó en A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y C con valores de 2,3, 0,2, 2,6, 2,4 y 1,9% PC, respectivamente, donde el 24,4% de la PC es degradable en el rumen, lo cual podría limitar la síntesis de proteína microbiana.

NDF, ADF and low N-NH<sub>3</sub> contents and a pH lower than 4.2. In this silage, the TDN (1X) and DE, ME, NE<sub>M</sub>, NE<sub>G</sub>, NE<sub>L</sub> were 63.9%, 2.8, 2.3, 1.4, 0.8 and 1.4 Mcal.kg<sup>-1</sup> DM, respectively. Crude protein was separated into A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> and C fractions, and showed values of 2.3, 0.2, 2.6, 2.4 and 1.9% CP, respectively. Rumen degradable protein percentage was 24.4% of the CP, which could limit microbial protein synthesis.

## INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento de la población mundial, exige la implementación de sistemas agropecuarios productivos y eficientes, que satisfagan las demandas del mercado y las normativas internacionales de comercio. Así, en Costa Rica, el sector pecuario debe implementar estrategias que respondan a estas exigencias con miras a la expansión comercial. Sin embargo, 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. La disponibilidad del recurso forrajero se compromete durante los periodos de baja y alta precipitación, es en esta situación, cuando adquiere importancia la investigación dirigida a tecnologías que permitan la conservación de los forrajes, para suplir durante estos periodos las demandas de alimento, por lo que, la práctica del ensilaje se convierte en una técnica que permite la siembra de diversos cultivos y optimizar el uso de los recursos forrajeros producidos.

El maíz (*Zea mays*) es el cultivo más empleado como fuente de forraje en los sistemas de producción bovina mediante su conservación (ensilaje), debido a un alto rendimiento de biomasa área de 35-95 t.ha<sup>-1</sup> (Somarribas 2007), alto contenido de carbohidratos (Méndez 2000), los cuales favorecen el proceso fermentativo; sin embargo, el aporte proteico al sistema ruminal

es restringido. Recientemente, investigaciones dirigidas al establecimiento de asociaciones entre gramíneas y leguminosas, toman importancia, debido a que a través de esta técnica, se aumenta el aporte de proteína al sistema ruminal (Contrera-Govea et al. 2008) y a la vez se incrementa la variedad de productos cosechados por unidad de superficie (Quirós y Marín 2003), se optimiza el uso del suelo (Duarte 1991), se estimula la actividad biológica del suelo (Higuera et al. 2003), se reduce el desgaste del suelo provocado por el establecimiento de monocultivos (Nicolás et al. 1999), se logra fijar nitrógeno ambiental (Nieto 2004) y se reduce el uso de herbicidas (Quirós y Marín 2003). Con relación a las investigaciones sobre los cultivos asociados de maíz con especies leguminosas, se citan los casos de maíz en asociación con maní forrajero (*Arachis pintoi*) (Nieto 2004), maíz con fríjol vigna (*Vigna sinensis*) (Olivares y Kees 2004), maíz con frijol caupí (*Vigna unguiculata*) (Machado y Hernández 1991), maíz con frijol mucuna (*Mucuna derengianum*) (Nicolás et al. 1999), y más recientemente los trabajos de Contrera-Govea et al. (2008) que asocian el maíz con *Mucuna pruriens*, *Lablab purpureus* y *Phaseolus coccineus*.

La vigna o rabiza (*Vigna radiata*), como es conocida en Costa Rica, es una leguminosa que se emplea en la alimentación humana (Bustamante 1988) y de especies animales como los cerdos, becerros (Canelones y Castejon 2006), gallinas y

otras aves de corral (Lon-Wo et al. 2001), debido a su valor nutricional alto y concentración de factores antinutricionales bajos (Díaz et al. 2002), lo que optimiza su aprovechamiento. También se utiliza como forraje en pastoreo y conservado mediante las técnicas de henificación y ensilaje (Santiesteban et al. 2001).

En Costa Rica, las investigaciones sobre el empleo de la vigna o rabiza como fuente forrajera son escasas, principalmente si se ensila; esto debido a que se asocia el contenido de proteína cruda de las leguminosas con una mayor capacidad amortiguadora del material a mantener su pH inicial, proceso que puede aumentar las pérdidas de materia seca del maíz cuando este se conserva en asocio con la vigna o rabiza. Por tal motivo, el presente trabajo procura cuantificar la capacidad de fermentación y calidad nutricional del ensilaje del maíz cultivado en asocio con vigna (*V. radiata*), como alternativa de alimentación de rumiantes en condiciones tropicales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Características del forraje ensilado.** El material a ensilar provino de la asociación (p/p) de maíz forrajero híbrido (Cristian Bukard® H59) y vigna (*V. radiata*) sembrados en una finca en la zona de San Jorge de Upala, Alajuela, Costa Rica. Se empleó 2 densidades de maíz y vigna, 70:30% (D-1) y 60:40% (D-2), estimando una densidad de plantas totales de 80.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. Las semillas se mezclaron previo a la siembra, la cual se realizó con ayuda de una sembradora mecánica de 4 tolvas, a una distancia de 85 cm entre surcos. A la siembra, se aplicó 230 kg.ha<sup>-1</sup> de 10:30:10 (N: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: K<sub>2</sub>O), y entre los días 30 y 45, se aplicó 46 kg de urea (46% N) y 92 kg.ha<sup>-1</sup> de magnesamón (20% N, 6,3% MgO y 10% CaO), para completar la dosis de 100 kg.ha<sup>-1</sup>.año<sup>-1</sup> de N. La mezcla forrajera al momento de la cosecha (85 DDS) mantuvo las proporciones iniciales de maíz y vigna. Se utilizó una cosechadora New Holland de autopropulsión para realizar este proceso.

**Características de las mezclas a ensilar.** Se utilizó un diseño irrestricto al azar con arreglo

factorial, en donde se consideró como efectos principales, la densidad de siembra (2 densidades), los niveles de adición de melaza (0, 2 y 4% p/p) y la incorporación o no de inóculo bacterial (EM®, EARTH) a razón de 1,0 l.t<sup>-1</sup> de material fresco. Al combinar estos 3 factores se obtuvo 12 tratamientos, los cuales se repitieron 4 veces, para un total de 48 microsilos. El forraje cortado a 2,5 cm se mezcló con el nivel de melaza e inóculo bacterial (EM®, EARTH) correspondiente al tratamiento, luego se cuarteó para tomar 1 kg de material mezclado en forma aleatoria, para cada microsilo. Estas muestras se colocaron en bolsas de empaque al vacío con capacidad de 1 kg y 0,0063 mm de espesor. Durante la etapa del sellado, el aire del material se extrajo con ayuda de una bomba de succión y luego se selló con cinta adhesiva. Los microsilos se colocaron en un estante a temperatura ambiente durante 60 días. El día 0 (inicio del proceso) se tomó una muestra compuesta de cada tratamiento, a la cual se le realizó los análisis de materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (Ce), digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) (AOAC 1990), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA) (Van Soest y Robertson 1985), la capacidad buffer del material (CB) (McDonald 1981) y el pH (Rojas 1985). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica.

El proceso de ensilaje del material se interrumpió a los 2 meses. En cada microsilo se seleccionó y descartó el material en estado de putrefacción. El material en buen estado, se fraccionó en mitades, una de las cuales se utilizó para la medición del pH, N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup> (AOAC 1990) y capacidad buffer (McDonald 1981). Mientras que a la otra fracción se le realizó los análisis de composición nutricional previamente mencionados, más la determinación de lignina (Goering y Van Soest 1970). Luego de obtener los resultados respectivos, se estableció el mejor tratamiento. Este debe presentar un porcentaje de PC alto, niveles de FDN y FDA bajos, digestibilidad de la MS (DIVMS) alta, N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup>

<8% y un pH <3,9. A este tratamiento se le determinó los nutrientes digestibles totales a 1X (NDT<sub>1X</sub>) (Weiss et al. 1992), la concentración energética (NRC 2001), y se le caracterizó la proteína por medio de la metodología descrita por Licitra et al. (1996) y Chalupa y Sniffen (1996), para lo cual se separaron las fracciones proteicas de acuerdo a su capacidad de solubilización en diferentes medios acuosos.

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos se analizaron por medio del programa SAS en su aplicación PROC GLM (SAS 2003) para determinar la significancia de los efectos principales densidad de siembra, el nivel de melaza, la aplicación del inóculo y las interacciones respectivas. La comparación entre medias se realizó mediante la prueba de Waller-Duncan (SAS 2003).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Composición nutricional de la asociación maíz-vigna.** En el cuadro 1 se presenta los resultados obtenidos con respecto a la composición nutricional de la asociación maíz-vigna. Los valores de MS, fluctúan entre 14,5 y 23,5%, según la densidad de siembra, nivel de melaza y de inóculo bacteriana. Al comparar el contenido de MS del material a ensilar en fresco, este presenta rangos similares a los informados por Sánchez y Soto (1996) para forrajes de uso diario en sistemas de producción láctea, situación que potencia su uso como alimento en fresco para rumiantes. Por otro lado, este contenido de MS podría afectar el proceso fermentativo, debido a que se encuentra por debajo del rango de MS recomendado para materiales a ensilarse, donde se indica que entre 25 y 35% MS se reduce el nivel de efluentes (Ashbell y Weinberg 1999), las pérdidas de carbohidratos por esta vía (Vallejo 1995) y las pérdidas por respiración (McDonald 1981). Para incrementar el contenido de MS de un follaje, se recomienda el marchitamiento o desecación del forraje al sol antes de ser ensilado (Chaverra y Bernal (2000). En cuanto al contenido de Ce, se

observó un aumento, al incrementar el porcentaje de vigna en la asociación. Comportamiento similar obtuvo Nieto (2004) al incrementar el porcentaje de *Arachis pintoii* asociado con maíz, situación que mejora el aporte de minerales al sistema ruminal.

El contenido de PC aumenta según el porcentaje de vigna en la asociación (60:40). El promedio de PC obtenido es superior (9,7%) al informado por Jiménez et al. (2005) y Chaverra y Bernal (2000), para una asociación de maíz-canavalia (8,7%) y de maíz-forraje (6,9%), respectivamente; aunque con relación a los pastos tropicales su contenido es menor (Sánchez y Soto 1996), situación que podría comprometer la síntesis microbiana. Un comportamiento similar al de la proteína se obtiene al comparar el contenido de EE de la asociación maíz y vigna con pastos tropicales. Por otro lado, se presenta el efecto de dilución que provoca la melaza sobre el contenido de EE, ya que los porcentajes de EE mayores se encuentran en los tratamientos con contenido de melaza menor.

Los valores promedio de FDN y FDA en esta investigación, fueron de 53% y 30,5%, respectivamente, estos resultan inferiores a los alcanzados por Sandoval (2007) en una asociación entre maíz y mucuna (*M. pruriens*) cosechada a los 75 días (59,2% y 45,5% de FDN y FDA, respectivamente) y por Elizondo y Boschini (2001), para un forraje de maíz cosechado a los 84 días (73,8 y 48,7% de FDN y FDA, respectivamente). Tal situación podría favorecer el consumo de MS de las mezclas (maíz:vigna) en fresco, debido a su menor contenido de componentes de la pared celular. Además, todos los tratamientos presentaron valores entre 70,6 y 80,4% de DIVMS, lo que convierte a la asociación de maíz-vigna en un alimento altamente digestible, al compararse con la digestibilidad del maíz en monocultivo (71,4%) y al ensilaje de maíz-canavalia (63,2%) (Jiménez et al. 2005), al ensilaje de alfalfa (65,9%) (Nadeau et al. 2000), y al de soya en estado R<sub>6</sub> (59,2%) (Tobía y Villalobos 2004).

Cuadro 1. Composición nutricional de la materia fresca de la mezcla maíz-vigna; cultivada a 2 densidades de siembra y con la adición de 3 niveles de melaza y 2 de inóculo bacterial.

Variables	Densidad de Siembra												
	70:30						60:40						
	Melaza						Melaza						
	0		2		4		0		2		4		
		Inóculo bacterial						Inóculo bacterial					
	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	
Materia seca %	21,88	21,67	23,46	22,91	21,70	14,50	19,32	19,85	20,95	22,07	21,84	22,39	
Proteína cruda %MS	9,98	8,55	9,39	10,33	8,99	8,46	10,64	10,83	10,60	10,87	10,33	7,87	
Fibra detergente neutra %MS	54,07	54,21	50,48	51,19	49,63	57,13	58,21	55,59	54,05	50,42	50,62	50,80	
Fibra detergente ácida %MS	31,26	31,44	27,59	28,31	29,47	32,36	35,92	31,98	31,93	28,77	28,69	28,19	
Extracto etéreo %MS	1,33	1,56	1,37	1,26	1,02	1,34	1,47	1,69	1,16	1,42	1,36	1,26	
Cenizas %MS	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 %MS	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	
Capacidad buffer meq NaOH.100 g <sup>-1</sup> MS	16,72	13,13	16,37	12,76	19,90	12,94	18,36	24,75	21,14	17,14	20,21	19,12	

70:30=70% maíz:30% vigna, 60:40=60% maíz:40%vigna.

Los resultados de la capacidad amortiguadora y el pH en los distintos tratamientos fluctuaron entre 127,6 y 247,5 meq NaOH.kg<sup>-1</sup> MS y 3,65-4,82, respectivamente (Cuadro 1). Con relación al pH, se cuantificó valores que garantizan la conservación del ensilaje y se observó una disminución en su valor al pasar de menor a mayor porcentaje de vigna en la asociación. Según Playne y McDonald (1966) el contenido de proteína en el material, controla de 10-20% del valor total de la capacidad buffer, por lo que se justifica el aumento de la CB en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna.

### Composición nutricional del ensilaje de maíz-vigna

**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 <25%. Esto se debe al tipo de microsilo empleado, el cual, no permite la salida de efluentes, por lo que mantiene la humedad inicial (WingChing y Rojas 2006). Por otro lado, 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 contenidos de MS mayores se encontraron en los tratamientos con niveles de inclusión de melaza de 2 y 4%. La melaza aporta gran contenido de MS, lo que provoca un aumento en su contenido total (Thomas 1978). Similar conclusión obtuvieron Tobía et al. (2003) y Vallejo (1995) en ensilajes de soya, y follaje de árboles y arbustos tropicales, respectivamente, al aplicar melaza a las mezclas evaluadas. Esto justifica el aumento en el contenido de MS en los tratamientos con mayor porcentaje de melaza. Además, los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (60:40) presentan los menores porcentajes de MS, esto podría indicar que la vigna aporta a la mezcla humedad, lo que provoca una disminución en el contenido de MS total. Similar comportamiento en la reducción del contenido de MS informan Contrera-Govea et al. (2008b) al evaluar los ensilajes de maíz en asocio con *M. pruriens* (38,1%), *L. purpureum* (36,2%) y *P. coccineus* (38,3%), con respecto al ensilaje de

maíz (38,9%). En cambio, Contrera-Govea et al. (2008a), analizando ensilajes con diferentes densidades de siembra maíz:kudzú, no encontraron diferencias en el contenido de MS al pasar de una relación 60:80 a 60:40, donde se podría notar una respuesta diferente según el cultivo en asocio.

**Cenizas.** El contenido de cenizas para los distintos tratamientos fluctuó entre 5,8% y 7,5% (Cuadro 2). Contenidos mayores a 12% de Ce, son asociados a contaminación con suelo durante la cosecha o elaboración del ensilaje (Chaverra y Bernal 2000), lo que favorece la presencia de fermentaciones secundarias y reducción del consumo, situación que no sucede en el presente trabajo. El contenido de Ce se incrementó al aumentar la proporción de vigna y melaza en los ensilajes ( $p < 0,0001$ ). En el caso de la melaza, esta presenta una concentración de minerales que va 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 aplicación de melaza. Aunque, en este trabajo no se determinó el contenido de Ce de la vigna cultivada en monocultivo, este podría provocar un efecto similar al de la melaza sobre el contenido de Ce de las mezclas evaluadas, por consiguiente en su aporte de minerales al sistema ruminal (Maynard et al. 1989).

**Proteína cruda.** Se observó un aumento significativo en el contenido proteico del material, al incrementar el porcentaje de vigna en la asociación ( $p < 0,05$ ) (Cuadro 2). Lo que concuerda con Cárdenas et al. (2003), quienes determinaron un incremento del contenido de PC en el ensilado de *Pennisetum purpureum* al incorporar follaje de *Albizia lebbek*, una leguminosa arbustiva. Además, el efecto de inclusión de melaza y la incorporación de inóculo bacterial sobre el contenido de PC de los ensilados, como la interacción densidad de siembra, nivel de melaza y nivel de inóculo, también fue significativa ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, no se observa una tendencia en cuanto al efecto de la incorporación de inóculo bacterial, que indique la manera en la que influyen estos

Cuadro 2. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de la mezcla de maíz-vigna cultivado a 2 densidades de siembra y con la adición de 3 niveles de melaza y 2 de inóculo bacterial.

Variables	Densidad de Siembra											
	70:30						60:40					
	0		2		4		0		2		4	
	Melaza						Melaza					
	Inóculo bacterial						Inóculo bacterial					
	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con	Sin	Con
Materia seca %	21,44 <sup>cd</sup>	21,45 <sup>cd</sup>	23,44 <sup>a</sup>	22,29 <sup>bc</sup>	22,77 <sup>ab</sup>	23,60 <sup>a</sup>	19,76 <sup>f</sup>	20,02 <sup>ef</sup>	20,84 <sup>de</sup>	20,78 <sup>de</sup>	22,14 <sup>bc</sup>	22,11 <sup>bc</sup>
Proteína Cruda %MS	10,39 <sup>cd</sup>	10,03 <sup>de</sup>	9,44 <sup>f</sup>	9,69 <sup>ef</sup>	9,64 <sup>ef</sup>	8,88 <sup>g</sup>	11,28 <sup>ab</sup>	11,32 <sup>a</sup>	11,36 <sup>a</sup>	10,80 <sup>bc</sup>	11,10 <sup>ab</sup>	11,16 <sup>ab</sup>
Fibra detergente neutra %MS	56,85 <sup>b</sup>	56,16 <sup>bc</sup>	54,02 <sup>cd</sup>	57,03 <sup>b</sup>	50,10 <sup>e</sup>	50,50 <sup>e</sup>	61,26 <sup>a</sup>	61,04 <sup>a</sup>	55,12 <sup>bc</sup>	55,80 <sup>bc</sup>	52,40 <sup>de</sup>	55,23 <sup>bc</sup>
Fibra detergente ácida %MS	32,88 <sup>bc</sup>	33,01 <sup>b</sup>	28,76 <sup>e</sup>	31,31 <sup>cd</sup>	29,21 <sup>e</sup>	28,52 <sup>e</sup>	36,52 <sup>a</sup>	35,96 <sup>a</sup>	31,52 <sup>bcd</sup>	31,70 <sup>bcd</sup>	29,46 <sup>e</sup>	31,19 <sup>d</sup>
Lignina %MS	3,52 <sup>ef</sup>	3,30 <sup>ef</sup>	3,20 <sup>fg</sup>	3,48 <sup>ef</sup>	2,70 <sup>h</sup>	2,80 <sup>gh</sup>	4,60 <sup>a</sup>	4,42 <sup>ab</sup>	4,13 <sup>bc</sup>	3,67 <sup>de</sup>	3,53 <sup>ef</sup>	3,98 <sup>cd</sup>
Extracto etéreo %MS	1,81 <sup>abc</sup>	1,93 <sup>a</sup>	1,70 <sup>bcd</sup>	1,56 <sup>de</sup>	1,39 <sup>e</sup>	1,55 <sup>de</sup>	1,89 <sup>ab</sup>	1,90 <sup>a</sup>	1,98 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	1,55 <sup>de</sup>	1,62 <sup>cd</sup>
Cenizas %MS	5,80 <sup>f</sup>	5,68 <sup>f</sup>	5,87 <sup>f</sup>	5,86 <sup>f</sup>	6,31 <sup>e</sup>	6,41 <sup>de</sup>	6,64 <sup>cd</sup>	6,64 <sup>cd</sup>	6,78 <sup>bc</sup>	6,96 <sup>b</sup>	7,45 <sup>a</sup>	7,40 <sup>a</sup>
DIVMS %MS	72,58 <sup>bc</sup>	69,89 <sup>c</sup>	79,78 <sup>a</sup>	77,70 <sup>ab</sup>	73,51 <sup>abc</sup>	72,33 <sup>bc</sup>	70,50 <sup>c</sup>	75,35 <sup>abc</sup>	72,91 <sup>bc</sup>	75,42 <sup>abc</sup>	74,32 <sup>abc</sup>	77,85 <sup>ab</sup>
pH	3,12 <sup>e</sup>	3,18 <sup>de</sup>	3,22 <sup>de</sup>	3,31 <sup>cde</sup>	3,18 <sup>de</sup>	3,51 <sup>abc</sup>	3,57 <sup>ab</sup>	3,61 <sup>a</sup>	3,23 <sup>de</sup>	3,38 <sup>bed</sup>	3,31 <sup>cde</sup>	3,51 <sup>abc</sup>
Capacidad buffer meq NaOH.100 g <sup>-1</sup> MS	53,94 <sup>e</sup>	62,09 <sup>de</sup>	52,36 <sup>e</sup>	71,57 <sup>bcd</sup>	64,88 <sup>cd</sup>	71,43 <sup>bcd</sup>	69,85 <sup>bcd</sup>	74,79 <sup>bc</sup>	69,58 <sup>cd</sup>	79,97 <sup>ab</sup>	71,98 <sup>bcd</sup>	89,83 <sup>a</sup>
N-NH <sub>3</sub> -N-total <sup>1</sup>	2,48 <sup>e</sup>	2,51 <sup>de</sup>	2,59 <sup>de</sup>	2,45 <sup>e</sup>	2,91 <sup>bcd</sup>	3,10 <sup>bc</sup>	3,92 <sup>a</sup>	3,26 <sup>b</sup>	2,56 <sup>de</sup>	2,65 <sup>de</sup>	2,73 <sup>cde</sup>	2,78 <sup>cde</sup>

70:30=70% maíz:30% vigna, 60:40=60% maíz:40%vigna.

sobre la PC. Según Cubero (2008), la respuesta de los inóculos bacteriales sobre el contenido de PC, varía según la variedad de forraje empleado, tipo de inóculo aplicado, edad de cosecha del material y las condiciones que prevalecen durante la elaboración del ensilaje. 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), ya que la MS de la melaza aumenta el contenido de MS total, aunque el contenido de proteína sigue siendo el mismo. Un comportamiento similar fue observado por Betancourt et al. (2002) y por Tobía (2004) en ensilajes de *Leucaena leucocephala* y de soya CIGRAS 06, respectivamente, con niveles crecientes de melaza.

El promedio de PC alcanzado en esta investigación fue de 10,4%, valor superior al obtenido por Jiménez et al. (2005) para el ensilado de *Canavalia ensiformes* (una leguminosa) en asocio con maíz (8,7% PC), los valores informados por Contrera-Govea et al. (2008b) al evaluar los ensilajes de maíz en asocio a las leguminosas *M. pruriens* (8,2%), *L. purpureum* (7,8%) y *P. coccineus* (7,1%); y los datos de Hazard et al. (2001) y Oramas y Vivas (2007), para ensilados de maíz (sembrado en monocultivo) (8,3% y 7%, respectivamente). En el caso de este trabajo, la asociación maíz: vigna, mejora el contenido de proteína en el ensilaje en 24,3% (PC en el ensilaje de maíz en monocultivo=8,4% MS), lo que podría favorecer un mejor aprovechamiento del contenido ruminal, por una mejor relación energía:proteína.

**Extracto etéreo.** La densidad de siembra ( $p < 0,0007$ ) y el nivel de melaza ( $p < 0,0001$ ) afectan la concentración de EE significativamente. En su mayoría, los valores más elevados de EE están representados en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna (60:40), tal comportamiento se relaciona con la presencia de vainas en la vigna al momento de la cosecha. Se encontró diferencias significativas entre los 3 niveles de inclusión de melaza; al aumentar este aditivo en la mezcla, el porcentaje de EE disminuye ( $p < 0,05$ ). Esto es semejante a lo sucedido con el comportamiento

de la PC ante el incremento en los niveles crecientes de melaza.

**Fibra detergente neutro y Fibra detergente ácido.** Tanto la concentración de FDN como la FDA fueron afectadas significativamente por la densidad de siembra y los niveles de inclusión de melaza (Cuadro 2). En cambio, el contenido de FDN fue afectado significativamente por la adición del inóculo bacteriano y la interacción densidad de siembra y nivel de melaza. Se encontró que a mayores contenidos de melaza, los contenidos de FDN y FDA disminuyen. Betancourt et al. (2002) lo atribuyen al efecto aditivo de componentes solubles de la melaza al contenido total del material. A su vez, se observa que a mayores contenidos de vigna, los porcentajes de FDN y FDA aumentan, debido a una posible incorporación fibrosa por parte de las vainas de la vigna. Por este comportamiento, se espera que los tratamientos con densidades de siembra de 70:30 y niveles de melaza altos presenten un aprovechamiento mayor a nivel ruminal, debido a los contenidos de FDN y FDA menor; ya que, el contenido de FDN y el consumo por parte del animal son inversamente proporcionales, mientras que el contenido de FDA y lignina se correlacionan con la fracción no digestible del material, lo que provoca un efecto de llenado (Holland y Kezar 1995).

**Lignina.** La densidad de siembra y el porcentaje de inclusión de melaza afectó el contenido de lignina del material ensilado ( $p < 0,0001$ ). Aunque en este trabajo, no se evaluó el contenido de lignina de la vigna como monocultivo, las leguminosas por su naturaleza contienen más lignina que las gramíneas (Bach y Calsamiglia 2006), por lo que se justifica, el aumento en el contenido de lignina en los tratamientos con mayor porcentaje de vigna. Por otro lado, los resultados obtenidos en la presente investigación son similares a los informados por Jiménez et al. (2005) para ensilajes de maíz y maíz asociado con canavalia (2,8% y 3,6%, respectivamente) e inferiores a los obtenidos por Boschini (2003) para ensilaje de

morera mezclado con maíz cosechados a 120 y 135 días, respectivamente. En este caso, se debe de tomar en cuenta la edad de cosecha y el componente arbustivo de la morera, el cual acrecentó el porcentaje de lignina resultante.

**Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS).** El valor promedio de la DIVMS en la presente investigación (74,3%) resultó superior al obtenido por diversos autores para ensilajes de alfalfa y soya (Romero 2004), de maíz (Peña et al. 2002) y de una asociación canavalia-maíz (Jiménez et al. 2005), cuyos promedios en orden respectivo, fueron de 59,5%, 60%, 72,4% y 63,2%. En cambio, al compararlos con los resultados informados por Contrera-Govea et al. (2008b) al evaluar los ensilajes de maíz en asocio con *M. pruriens* (79,4%), *L. purpureum* (79,6%) y *P. coccineus* (82,3%) los valores obtenidos en esta investigación son inferiores. Tal comportamiento, podría deberse a la variedad empleada, edad de cosecha y a la leguminosa en asocio. Además, porcentajes en la digestibilidad altos, como los obtenidos en la presente investigación, aumentan el consumo por parte de los animales (Chaverra y Bernal 2000), lo que favorece el aporte de nutrimentos para el crecimiento de los animales y mejora los niveles de producción de leche o carne. Por otro lado, la digestibilidad del material se vio afectada de manera significativa, únicamente, por la incorporación de melaza; situación que podría ser explicada por el efecto de reducción que presentó sobre el contenido de lignina y la FDA en los materiales evaluados, las cuales se relacionan directamente con la digestibilidad del material (Holland y Kezar 1995).

**Contenido energético y fraccionamiento proteico del ensilaje de maíz y vigna.** De acuerdo con la evaluación de los parámetros de valor nutricional y capacidad fermentativa se estableció la densidad de siembra de 70:30 maíz-vigna (p/p), con adición de 2% de melaza (p/p) y sin inóculo bacteriano como el tratamiento mejor. Por tal razón este tratamiento fue sujeto de análisis adicionales,

donde se fraccionó la PC y se estimó el contenido energético.

**Fraccionamiento de proteína.** Se obtuvo que el 26,3% de la proteína cruda total se degrada en el rumen, el 53,3% es insoluble aprovechable, y con características indegradables e indigeribles el 20,4% restante. Este valor de proteína indigerible es muy superior al informado por Brito y Broderick (2006) para ensilaje de maíz de 13,1% PC total, tal comportamiento se relaciona con el aporte de la leguminosa a esta fracción. El resultado preliminar del comportamiento de la proteína, indica que este ensilaje podría provocar déficit de N a nivel ruminal por su valor de proteína soluble bajo, mientras que el aporte de N con características de sobrepaso, podría ayudar a satisfacer las necesidades de animales con potencial productivo alto (leche o carne). Ligado a esta información, el contenido de N no proteico (Fracción A) fue de 2,3%, mientras que la concentración de proteína verdadera, medida por la sumatoria de las fracción B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> se valoró en 0,2%, 2,6% y 2,4%, respectivamente. Por último, el contenido de la proteína dañada por reacciones Maillard, ligada a la lignina y a los taninos de la planta fue de 1,9% de PC (Fracción C). Según Mahanna (1997) este valor de N dañado es superior al rango óptimo para ensilajes de 12-15 % y al rango indicado por Van Soest (1994) en alimentos para animales (3-15%).

**Contenido energético.** El contenido de nutrimentos digestibles totales del mejor ensilaje de maíz-vigna fue 63,87±1,23%. Este valor estimado a 1X resulta superior a los informados por Villalobos (2006) (3X) en pasto Ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) (61,9%) y Sánchez y Soto (1999) (1X) 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). Mientras que las estimaciones del contenido energético,

descritas por la energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta para mantenimiento ( $EN_m$ ), energía neta de ganancia ( $EN_g$ ) y energía neta de lactancia ( $EN_l$ ) se promediaron en  $2,82 \pm 0,05$ ,  $2,31 \pm 0,05$ ,  $1,44 \pm 0,04$ ,  $0,85 \pm 0,04$  y de  $1,45 \pm 0,03$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. Los resultados obtenidos en la presente investigación son similares a los encontrados por Nieto (2004), para un ensilaje de maíz-*Arachis pintoi* (NDT=63,4; ED=2,8 Mcal.kg<sup>-1</sup> MS; EM=2,3 Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_m=1,4$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_g=0,8$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_l=1,4$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS), superiores a los descritos por este mismo autor para un ensilaje de maíz (NDT=60,9; ED=2,7 Mcal.kg<sup>-1</sup> MS; EM=2,2 Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_m=1,3$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_g=0,8$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS;  $EN_l=1,4$  Mcal.kg<sup>-1</sup> MS); y por Salazar (2007) y Conejo (2002) para forrajes de pasto Estrella Africana y en maní forrajero, 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 (incremento del extracto etéreo).

### Características fermentativas del ensilaje maíz-vigna

**Grado de acidez (pH).** El pH resultante para los distintos tratamientos fue inferior a 4,2, el cual fue afectado significativamente por la densidad de siembra y por la aplicación del inóculo ( $p < 0,001$ ). Valores tan bajos, permiten inferir una dominancia en la producción de ácido láctico y una adecuada conservación del material (Mangado 2006). Sin embargo, estos valores, podrían afectar el consumo por parte de los animales (Chaverra y Bernal 2000). Con relación a la densidad de siembra, la alta concentración de almidones que presenta el maíz, sustrato para el desarrollo del proceso fermentativo (Mc Donald

1981) permite obtener un pH más bajo en la densidad de siembra de 70:30.

Con relación a la aplicación de inóculo bacterial, Cubero (2008) demuestra, que la adición de inóculos bacteriales al ensilaje de maíz en niveles crecientes, beneficia el proceso fermentativo, lo que redujo las pérdidas por descomposición anaeróbica. Similar conclusión, obtuvo Tobía (2004) el cual encontró una relación directa y proporcional entre la incorporación de inóculo bacterial y la respuesta en la disminución del pH en ensilajes de soya.

**Capacidad buffer.** McDonald (1981) indica que la capacidad buffer del forraje fresco se incrementa de 3 a 4 veces durante el periodo en el cual el material se encuentra ensilado. De esta manera, se justifica el incremento en la capacidad buffer del material después del proceso de ensilaje, debido a la producción de los ácidos orgánicos. En cuanto a los efectos principales que alteran significativamente la capacidad buffer del material se encuentran: la densidad de siembra, los niveles de melaza y de inóculo bacterial, no así sus respectivas interacciones. La alta capacidad buffer que poseen las leguminosas, relacionada con su contenido de proteína (Playne y McDonald 1966), influye en el proceso de ensilaje (Sandoval 2007); por tal motivo, se observan tendencias crecientes de la capacidad amortiguadora, ante incrementos en el porcentaje de vigna en la asociación.

Wilkins (2001) argumenta que la elevada capacidad 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 fermentaciones no deseadas durante el proceso. No obstante, los resultados en la presente investigación indican lo contrario, lo que permite inferir, que las densidades empleadas no comprometen la estabilidad del ensilado.

**Nitrógeno amoniacal.** En la presente investigación, el valor de  $N-NH_3.N$ -total<sup>-1</sup> máximo fue de 3,9%, el cual fue afectado por la densidad de siembra y la adición de melaza, no así por sus inte-

raciones, ni el nivel de inóculo aplicado. Estos valores bajos, indican que la proteína presente en el ensilado se preservó, siendo menor en la densidad 70:30. Acorde con los criterios de Ojeda et al. (1991), en general los ensilajes de maíz-vigna analizados se clasifican de calidad nutricional alta y se asume que predominó la fermentación láctica (Chaverra y Bernal 2000). 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 4,7% y 12,1%, respectivamente. La tendencia obtenida con respecto a la variación en el porcentaje de N-NH<sub>3</sub>-N-total<sup>-1</sup> provocada por la inclusión de melaza (p<0,0001) en la densidad 70:30, en la presente investigación, no concuerdan con lo observado por Chacón (1987), quien encontró que la adición de melaza en el ensilaje de *P. purpureum* indujo a una disminución del contenido de N-NH<sub>3</sub>. Esta misma tendencia fue señalada por Betancourt et al. (2002), para un ensilaje de *L. leucocephala* en el cual se evaluó 3 niveles crecientes de melaza (0, 2,5 y 5%).

### CONCLUSIONES

Los valores elevados de humedad en la asociación maíz:vigna, podrían generar a nivel de campo una gran producción de efluentes, lo cual induce a una pérdida importante de nutrimentos del ensilado. Pero si esta es empleada como forraje en fresco, presenta un perfil nutricional similar o superior a los principales forrajes empleados en la producción de rumiantes.

En la densidad de siembra de 70:30 maíz -vigna, con adición de 2% de melaza (p/p) y sin la aplicación de inóculo bacteriano fue donde se obtuvo los mejores parámetros de valor nutricional y capacidad fermentativa.

Los valores de FDN y FDA de la asociación maíz:vigna favorecen un ambiente ruminal adecuado y una tasa alta de aprovechamiento del material por parte del animal, lo cual se refleja en la DIVMS que presentan los tratamientos en estudio.

El ensilaje de maíz-vigna presentó un contenido energético y de NDT alto, comparable con diversos forrajes empleados en la alimentación animal, en regiones templadas. Otro aspecto importante, es el alto aprovechamiento de la proteína presente en el material.

### LITERATURA CITADA

- ASHBELL G., WEINBERG Z. 1999. Ensilaje de cereales y cultivos forrajeros en el trópico, pp.111-120. In: L. Mannelje. Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos. 1 de setiembre al 15 de diciembre 1999. Serie Estudio FAO. Producción y Protección Vegetal.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> ed. Arlington V.A. USA. Association of Official Agricultural Chemist. 1140 p.
- BASH A., CALSAMIGLIA S. 2006. La fibra en los rumiantes: ¿Química o física? XXII Curso especialización FEDNA. Barcelona, España. p. 99-112.
- BETANCOURT M., CLAVERO T., RAZZ R. 2002. Características nutritivas del ensilaje de *Leucaena leucocephala* con diferentes aditivos. Revista Científica 7(Supl 2):502-504.
- 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.
- BRITO A., BRODERICK G. 2006. Effect of varying dietary rations 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*). Tesis de Licenciatura. 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.
- CHACÓN H. 1987. Determinación de los cambios físico-químicos durante la fermentación del pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en microsilos. Tesis de Licenciatura. 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.
- CONEJO A. 2002. Producción de biomasa y valor nutricional de la línea de maní forrajero CIAT 18744A en la zona tropical húmeda de Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 69 p.
- CONTRERA-GOVEA F., MUCK R., ARMSTRONG K., ALBRECHT K. 2008a. Fermentability of corn-lablab bean mixture from different planting densities. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.05.009.
- CONTRERA-GOVEA F., MUCK R., ARMSTRONG K., ALBRECHT K. 2008b. Nutritive value of corn silage in mixture with climbing beans. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.07.001.
- CUBERO F. 2008. Comparación del efecto de inóculos comerciales y artesanales sobre el proceso fermentativo del ensilaje de maíz (*Zea mays*). Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 60 p.
- DIAZ M., PADILLA C., GONZALEZ A., MORA C. 2002. Producción y composición bromatológica de harinas de vigna: de forrajes, integrales y de granos. *Agricultura Técnica* 62(2):266-274.
- 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 de Maestría. CATIE, Cartago, 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. 24 p.
- GOERING H.K., VAN SOEST J.P. 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications) *Agricultural Handbook* N° 379. ARS-USDA, Washington, D.C.
- 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 Chile* 61(3):306-318.
- 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.
- HOLLAND C., KEZAR W. 1995. The Pioneer forage manual. A nutritional guide.
- Pioneer Hi bred International, Inc, Des Moines, Iowa, USA. 55 p.
- 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). Universidad Nacional de Colombia ISSN: 0120-2812 Colombia. Consultado el 16/10/07 en: [http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/110/240](http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/110/240).
- 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.
- MACHADO R., HERNANDEZ J. 1991. Evaluación inicial de variedades de *Vigna spp.* para la producción de forraje. *Pastos y forrajes* 14(3):199-207.

- MAHANNA B. 1997. Troubleshooting silage problems with "Seed to feed" consideration in silage: Field to Feedbunk, pp. 346-382. In: Proceedings of the silage: Field to Feedbunk. North American Conference. NRAES Publication 99. Cooperative Extension, Ithaca, NY.
- MANGADO J. 2006. Como realizar correctamente el ensilaje de maíz. Revista AFIGRA 64:56-62.
- MAYNARD L., LOOSLI F., HINTZ W., WARNER W. 1989. Nutrición animal. 7ª ed. Mac Graw Hill. México D.F. 640 p.
- McDONALD P. 1981. The biochemistry of silage. John Wiley and Sons, Ltd, New York. 226 p.
- 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.
- NADEAU E., BUXTON D., RUSSELL J., ALLISON M., YOUNG J. 2000. Enzyme, bacterial inoculant and formic acid effects on silage composition of Orchardgrass and Alfalfa. J. Dairy Sci. 83:1487-1502.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> ed rev. Washington D.C. National Academy Press. 381 p.
- 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 de maestría. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 68 p.
- OJEDA F., CÁSERES C., ESPERANCE M. 1991. Conservación de forrajes. Editorial Pueblo y Educación. La Habana. Cuba 80 p.
- 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. 12-14 p.
- 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.
- PEÑA A., NÚÑEZ G., GONZALEZ F. 2002. Potencial forrajero de poblaciones de maíz y relación entre atributos agronómicos con la calidad. Técnica Pecuaria en México 40(3):215-228.
- 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.
- ROJAS A. 1985. Effect of rolled corn silage on digestion of nutrients and feed lot performance of growing steers. Tesis de maestría. Ames, Iowa. USA. 93 p.
- ROMERO L. 2004. Ensilaje de leguminosas con énfasis en alfalfa y soja. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Argentina. In: Producción y manejo de forrajes conservados: Silo. Sitio argentino de producción animal@. Consultado el 1 de octubre de 2008, en el sitio: [www.produccionbovina.com](http://www.produccionbovina.com).
- SALAZAR S. 2007. Disponibilidad de biomasa y valor nutricional del pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfluensis*) en el distrito de Quesada, cantón de San Carlos. Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 96 p.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1996. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. I. Materia seca y componentes celulares. Serie Técnica. Nutrición animal tropical 3(1):3-18.
- 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 de maestría. 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.
- SAS 2003. SAS 9.1.3 for Windows. Service Pack 4. Win\_Pro plataforma. Copyright © 2002-2003 by SAS Institute Inc. Cary, NC. USA.
- 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. Tesis de maestría. 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.
- TOBIA 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.
- TOBÍA C. 2004. Introducción del ensilaje de soya en un sistema de producción intensiva de leche en el trópico húmedo de Costa Rica. Tesis de doctorado. Universidad de San José, Costa Rica. 120 p.
- TOBIA C., VILLALOBOS E. 2004. Producción y valor nutricional del forraje de soya en condiciones tropicales adversas. *Agronomía Costarricense* 28(1):17-25.
- 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 de maestría. CATIE, Turrialba, Cartago, Costa Rica. 117 p.
- VAN SOEST J.P. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant* 2<sup>nd</sup> ed. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York, 476 p.
- VAN SOEST J.P., ROBERTSON J. 1985. *Analysis of forages and fibrous feeds*. Cornell University. Ithaca, New York. 165 p.
- VILLALOBOS L. 2006. Disponibilidad y valor nutricional del pasto Ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) en las zonas altas de Costa Rica. Tesis de licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 127 p.
- 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.
- WILKINS R. 2001. Legume silages for animal production. Increasing profits with forage legumes. *Projet LEGSIL 1997:2001. FAIR/SW/FAL/SAC/IGER*. 20 p.
- WINGCHING R., ROJAS A. 2006. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. *Agronomía Costarricense* 30(1):87-100.