

CONSERVACIÓN DEL FORRAJE DE *Lupinus rotundiflorus* M. E. Jones Y

Lupinus exaltatus Zucc. MEDIANTE ENSILAJE

José María Herrera-Velazco, María de Lourdes Isaac-Virgen, Ramón Rodríguez-Macías, Juan Francisco Zamora-Natera, Mario Alberto Ruíz-López y Pedro Macedonio García-López

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad de conservación de forraje de *Lupinus exaltatus* y *L. rotundiflorus* mediante ensilaje. Plantas de ambas especies en etapa de desarrollo de vainas, fueron picadas en trozos de 2-4cm, y mezclados con rastrojo de maíz (RM), melaza e inóculo. Las mezclas depositadas en frascos plásticos (microsilos), se distribuyeron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 3x3, proporciones de forraje de lupino:RM de 100:0, 75:25 y 50:50, y periodos de fermentación de 6, 12 y 20 días, con tres repeticiones. Se determinó la composición química, FDN y FDA, nitrógeno amoniacal (NH₃-N), ácido láctico y pH en los ensilados. Aunque el periodo de fermentación no afectó la composición

química de los ensilados, el aumento en la proporción de RM incrementó el contenido de materia seca en los ensilados de *L. exaltatus* de 29 a 51,7% y en *L. rotundiflorus* de 25,2 a 51,4%. Una tendencia similar fue observada en el contenido de FDN y FDA. El porcentaje de proteína cruda disminuyó de 16,2% a 11,0% en *L. exaltatus* y de 13,9% a 7,5% en *L. rotundiflorus* al incrementar el RM. El pH <4,2 en los ensilados se relacionó con un aumento en concentración de ácido láctico, con valores de 8,4 y 6,28% en los ensilados de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* (100:0), respectivamente. El descenso de pH, bajo contenido de NH₃-N y la producción de ácido láctico indican que el forraje de lupinos puede ser conservado mediante ensilaje.

Introducción

El ensilaje es un método de conservación de forrajes u otros alimentos basado en la fermentación de los carbohidratos solubles mediante bacterias, para producir ácido láctico en condiciones anaeróbicas (McDonald *et al.*, 1991; Garcés *et al.*, 2004; Sánchez, 2005). Este método, generalmente de bajo costo, tiene como objetivo conservar forrajes con un mínimo de pérdidas de materia seca y nutrientes durante el almacenamiento, para posteriormente utilizarlos en épocas críticas de escasez de pastos (Tobía *et al.*, 2003; Blanco *et al.*, 2005).

Las gramíneas tales como el maíz y el sorgo son las especies más utilizadas en esta práctica de conservación de forraje, ya que el alto contenido (>10%) de carbohidratos solubles, materia seca de 30%, bajo contenido de proteína bruta y reducida capacidad amortiguadora favorecen su ensilaje (McDonald *et al.*, 1991).

En los últimos años el método de ensilado también ha sido utilizado para la conservación de forrajes de leguminosas, con alto contenido en proteína y minerales. En general, las leguminosas son difíciles de ensilar; y al contrario de las gramíneas presentan bajo

contenido de carbohidratos solubles, alta capacidad amortiguadora y bajo contenido de materia seca (Kaldmäe *et al.*, 2003; Vasiljević *et al.*, 2009).

Por la importancia nutricional que muestra el forraje de leguminosas, con 14-23% de proteína cruda, varios estudios han demostrado que la inclusión de aditivos al material por ensilar, tales como melaza, ácido fórmico y bacterias ácido lácticas, entre otros, es una opción interesante para facilitar el proceso de ensilaje y aumentar el valor nutritivo de los ensilados (Tobía *et al.*, 2003; Vicente *et al.*, 2008; Vasiljević *et al.*, 2009).

En regiones donde las condiciones de suelo y clima no son favorables para el establecimiento de las especies leguminosas de mayor importancia forrajera, tales como el trébol o la alfalfa, se utiliza el follaje de leguminosas arbóreas silvestres como *Leucaena leucocephala*, *Piscidia piscipula*, *Lysiloma latifolium*, *Albizia lebbek* y *Acacia farnesiana*, y la práctica de ensilar permite conservar estas alternativas forrajeras (Alcántara *et al.*, 1986; Cárdenas *et al.*, 2003; Phiri *et al.*, 2007). Sin embargo, este método es poco aceptado por algunos productores debido a que para manejar estas especies en un sistema

PALABRAS CLAVE / FDA / FDN / Forraje / Leguminosas / Microsilo / Periodo Fermentativo /

Recibido: 10/05/2010. Modificado: 21/06/2010. Aceptado: 24/06/2010.

José María Herrera-Velazco. Médico Veterinario Zootecnista, Maestría en Ciencias de la Nutrición Animal y Candidato a Doctor en Ciencias en Biosistemática, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas, Universidad de Guadalajara (UdG), México. Dirección: Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, UdG. Carretera Guadalajara Nogales Km 15.5 las Agujas, Nextipac Zapopan

Jalisco CP. 45101, México e-mail: jherrer@ucba.udg.mx
María de Lourdes Isaac-Virgen. Química Farmacobióloga, Médica Veterinaria Zootecnista, Maestría en Ciencias de la Nutrición Animal y Doctora en Ciencias Pecuarías, UdG, México. Profesora-Investigadora, UdG, México.
Ramón Rodríguez-Macías. Ingeniero Agrónomo, UdG, México. Maestría, Universidad de Autónoma de Nuevo León

(UANL) México. Doctor en Ciencias Agrícolas, Colegio de Posgraduados (COLPOS), México. Profesor-Investigador, UdG), México.
Juan Francisco Zamora-Natera. Ingeniero Agrónomo, UdG, México. Maestría, UANL, México. Doctor en Ciencias Agrícolas, COLPOS, México. Profesor-Investigador, UdG, México.
Mario A. Ruíz-López. Licenciado en Biología y Maestría

en Nutrición Animal, UdG, México. Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor-Investigador, UdG, México.
Pedro Macedonio García-López. Médico Veterinario Zootecnista, UdG, México. M.Sc. en Nutrición Animal, University of Delaware, EEUU. Profesor-Investigador, UdG, México.

CONSERVATION OF *Lupinus rotundiflorus* Y *Lupinus exaltatus* FORAGE VIA SILAGE

José María Herrera-Velazco, María de Lourdes Isaac-Virgen, Ramón Rodríguez-Macías, Juan Francisco Zamora-Natera, Mario Alberto Ruiz-López and Pedro Macedonio García-López

SUMMARY

The objective of this work was to determine the efficiency of conservation of *Lupinus exaltatus* and *L. rotundiflorus* forage via silage. Plants of both species, during the seed development phase, were diced (2-4cm) and mixed with maize forage (RM), molasses and inoculum. The mixtures were placed into plastic bottles (micro silages) and were randomly assigned to a two-factor 3x3 design with three replicates. Three lupin:RM forage mixtures (100:0, 75:25 and 50:50) and fermentation periods of 6, 12 and 20 days were evaluated. Chemical composition, fiber fractions (NDF and ADF), ammonia nitrogen (NH_3-N), lactic acid, and pH were determined. Although silage time did not have a significant effect on the chemical composition, increasing

the quantity of corn straw resulted in higher dry matter (DM) in *L. exaltatus* (29 to 51.7%) and in *L. rotundiflorus* (25.2 to 51.4%). Similar increases were found in FDN and FDA content. Conversely, the percentage of crude protein decreased as RM was increased. The RM decreased PC from 16 to 11.0% in *L. exaltatus* and from 13.9 to 7.5% in *L. rotundiflorus*. The pH <4.2 was related with an increase in lactic acid concentration of 8.4 and 6.28% in *L. exaltatus* and *L. rotundiflorus* silages (100:0), respectively. The decrease in pH and ammonia nitrogen and the increase in lactic acid content indicate the lupin forage can be preserved in the form of silage.

CONSERVAÇÃO DE FORRAGEM DE *Lupinus rotundiflorus* E *Lupinus exaltatus* MEDIANTE ENSILAGEM

José María Herrera-Velazco, María de Lourdes Isaac-Virgen, Ramón Rodríguez-Macías, Juan Francisco Zamora-Natera, Mario Alberto Ruiz-López e Pedro Macedonio García-López

RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar a capacidade de conservação de forragem de *Lupinus exaltatus* e *L. rotundiflorus* mediante ensilagem. Plantas de ambas espécies em etapa de desenvolvimento de bainhas, foram cortadas em pedaços de 2-4cm, e misturadas com bagaço de milho (RM), melado e inóculo. As misturas depositadas em embalagens plásticas (microsilos), foram distribuídas em um desenho completamente aleatório com arranjo fatorial de 3x3, proporções de forragem de lupino: RM de 100:0, 75:25 e 50:50, e períodos de fermentação de 6, 12 e 20 dias, com três repetições. Determinou-se a composição química, FDN e FDA, nitrogênio amoniacal (NH_3-N), ácido láctico e pH nos ensilados. Embora o período de fermentação não afete

ou a composição química dos ensilados, o aumento na proporção de RM incrementou o conteúdo de matéria seca nos ensilados de *L. exaltatus* de 29 a 51,7% e em *L. rotundiflorus* de 25,2 a 51,4%. Uma tendência similar foi observada no conteúdo de FDN e FDA. A porcentagem de proteína crua diminuiu de 16,2% a 11,0% em *L. exaltatus* e de 13,9% a 7,5% em *L. rotundiflorus* ao incrementar o RM. O pH <4,2 nos ensilados foi relacionado com um aumento em concentração de ácido láctico, com valores de 8,4 e 6,28% nos ensilados de *L. exaltatus* e *L. rotundiflorus* (100:0), respectivamente. O descenso de pH, sob conteúdo de NH_3-N e a produção de ácido láctico indicam que a forragem de lupinos podem ser conservadas mediante ensilagem.

de corte y acarreo se requiere de trabajo y mano de obra extra, lo cual representa una desventaja económica (Cárdenas *et al.*, 2003).

Ante esta situación, los sistemas productivos agropecuarios han optado por la introducción de cultivos de leguminosas herbáceas como *Vigna radiata*, *Arachis pintoi* y *Lupinus angustifolius*, entre otras, con potencial para producir altos rendimientos de materia seca, así como para conservar su forraje mediante el método de ensilaje (Castillo *et al.*, 2009; WingChing y Rojas, 2007; Fraser *et al.*, 2005a).

Con respecto a las especies del género *Lupinus*, éstas se caracterizan por presentar en el forra-

je, contenidos de materia orgánica, proteína bruta y fibra bruta que fluctúan entre 57,97-91,27%, 16,13-21,43% y 16,88-38,10% respectivamente, según la especie y el estado de desarrollo de la planta (Ruiz *et al.*, 2000; Fraser *et al.*, 2005a, b).

En relación a las especies domesticadas con potencial forrajero como *L. albus* y *L. angustifolius*, cuyo origen es el área del Mediterráneo, estudios de Fraser *et al.* (2005a, b) indican la factibilidad de conservar su forraje mediante la técnica de ensilaje. En México no se cultivan estas especies del género *Lupinus*; sin embargo, se conocen más de 100 especies silvestres distribuidas en más de 20 estados, las cuales

representan una fuente potencial alternativa de forraje en regiones templadas del país (Ruiz *et al.*, 2006).

Particularmente en el estado de Jalisco *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*, son plantas anuales que crecen en claros de bosques de coníferas, a orillas de caminos y zonas de cultivo a 1400-2200msnm son las especies con mayor distribución, según McVaugh (1987) y Dunn (2001). Aunque solo se conoce el contenido de proteína en el forraje de *L. exaltatus*, que varía entre 17-23% (Ruiz *et al.*, 2006), ambas especies se caracterizan por su capacidad para producir materia seca aún en épocas de sequía y bajas temperaturas.

Debido a estas características, y como una forma alternativa de aprovechar los recursos vegetales silvestres locales, se realizó un experimento con el objetivo de determinar la eficiencia del ensilaje en la conservación del forraje de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* en combinación con rastrojo de maíz. Así como conocer la composición química y las características fermentativas del material ensilado.

Materiales y Métodos

Ubicación del experimento

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y el Campo Agrícola del Centro Universitario de

Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, municipio de Zapopan, Jalisco, México. La precipitación y temperatura media anual informada para la zona es de 906mm y 23°C, respectivamente (Estación Meteorológica 15^{va} Zona Militar, Zapopan, Jalisco).

Origen de las semillas

Las semillas de *Lupinus exaltatus* y *Lupinus rotundiflorus* se obtuvieron de vainas maduras colectadas de poblaciones silvestres localizadas en el nevado de Colima y Chiquilistlán, Jalisco, en el año de 2007.

Material vegetal

En noviembre de 2007 se estableció un cultivo de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* en un terreno de ~100m² para cada especie. Las semillas utilizadas en el establecimiento del cultivo fueron escarificadas con ácido sulfúrico concentrado durante 60min antes de su siembra. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones de riego, sin aplicación de fertilizantes y pesticidas. Al momento de cortar, a los cinco meses después de la siembra, el 80% de las plantas de *L. exaltatus* se encontraban en una etapa de formación y crecimiento de vainas, mientras que las de *L. rotundiflorus* se hallaban al fin de floración e inicio de formación de vainas. Posteriormente las plantas fueron picadas manualmente en trozos de 2-4cm y, antes de preparar las mezclas para ensilar, se tomó una muestra simple del forraje de ambas especies de lupino, así como del rastrojo de maíz (RM) sin mazorca, para determinar su composición química (Tabla I) mediante las técnicas de la AOAC (2000).

Preparación de microsilos

El material vegetal picado de las dos especies de lupinos, y con un contenido de humedad promedio de 75%

se mezcló por separado con RM en las proporciones de 75:25 y 50:50 (peso/peso) con el propósito de reducir el contenido de humedad y aumentar el contenido de materia seca en la mezcla. Así mismo se realizó un tratamiento con forraje de lupino solamente (100:0). Para uniformizar el contenido de carbohidratos solubles, en todos los tratamientos se agregó melaza como aditivo a razón de 10% (peso/peso) y, además, se inoculó con bacterias ácido lácticas de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* a una concentración de 10⁶UFC·g⁻¹ de materia fresca.

Después de mezclar el forraje de lupino con RM, melaza y bacterias ácido lácticas, se procedió a ensilar el material. Este proceso se llevó a cabo en frascos de plástico pet de boca ancha con capacidad de 1 litro (microsilos), a los que se adaptó una válvula bunsen en la tapa, a manera de trampa de escape para los gases producidos por la fermentación. Se llenaron los microsilos con el material a ensilar según el tratamiento, se compactaron, se cerraron y se almacenaron a temperatura ambiente (media de 20°C).

Tratamientos y diseño experimental

Por cada especie de lupinos los microsilos de distribuyeron bajo un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 3×3. Se evaluaron nueve tratamientos para cada especie, por la combinación de tres proporciones de forraje fresco de lupinos:RM (100:0, 75:25 y 50:50, peso/peso) y tres niveles de tiempo de apertura de los silos (6, 12 y 20 días). Por cada tratamiento se prepararon tres microsilos (repeticiones), resultando un total de 27 microsilos por cada especie de lupino. En los tiempos correspondientes de apertura se procedió a romper la masa ensilada y se extrajo una muestra que fue

almacenada a -20°C hasta su análisis. Antes de iniciar el proceso de ensilaje en los microsilos también se tomó una muestra por triplicado de cada una de las mezclas lupinos:RM para su análisis.

Variables en estudio

El contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas, fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) en el material por ensilar y ensilado se determinó mediante las técnicas descritas por la AOAC (2000) y van Soest *et al.* (1991). Las variables fermentativas del material ensilado, pH, nitrógeno amoniacal N-NH₃ (% N total) y ácido láctico fueron determinadas de acuerdo a los métodos descritos por Kung *et al.* (2003). Así mismo, y de acuerdo a la calificación de indicadores sensoriales en ensilados propuesta por Ojeda (1991) se registró el olor, color, consistencia y presencia de hongos en los ensilados obtenidos.

Las variables en estudio se sometieron a un análisis de varianza mediante el programa estadístico SPSS, seguido de una comparación de promedios mediante la prueba de Tukey (p<0,05).

Resultados y Discusión

El análisis de varianza para el contenido de MS, cenizas, PC, FDN y FDA no mostró diferencias significativas entre los tratamientos por el factor tiempo de fermentación (tiempo de apertura de los microsilos). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas por efecto de la proporción de forraje fresco de lupinos:RM, cuyos valores se presentan en la Tabla II. Considerando que el periodo de fermentación no afectó la composición química, solo se presentan los valores del material en fresco y ensilado a los 20 días de fermentación. La escasa variación en la composición nutricional

entre el material por ensilar con sus respectivas proporciones y el material ensilado después de 20 días de fermentación indica que no hubo pérdidas ni incrementos considerables de MS y nutrientes en los ensilados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas en este estudio debido a la rápida estabilización del ensilado, la cual ocurrió en un periodo máximo de 12 días. Resultados inversos a éstos pero a periodos más largos de fermentación informaron WingChing y Rojas (2007) en ensilados de maní forrajero y en maíz-*Acacia boliviana* (Pihiri *et al.*, 2007), donde se determinaron pérdidas en el contenido de PC y MS. En contraste, Castillo *et al.* (2009) reportaron incrementos de proteína en ensilados de *Vigna radiata* y maíz en mezcla. Estas diferencias con respecto a los resultados de este estudio podrían estar relacionadas con mayores tiempos de estabilización de los ensilados, tipo de material vegetal y concentraciones de aditivos usados para mejorar el proceso fermentativo.

Con respecto al efecto del factor proporción de forraje de lupinos:RM sobre la composición química de los ensilados, los análisis de varianza mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (p≤0,05), por lo que a continuación se realiza la descripción y discusión de cada variable estudiada.

Contenido de materia seca

Al inicio del experimento el contenido de materia seca (MS) en los tratamientos a base de forraje de lupino (100:0) fue de 30,6% para *L. exaltatus* y de 26,1% para *L. rotundiflorus*; sin embargo, se observó un aumento significativo (p<0,05) en el contenido de MS conforme se incrementó la proporción de RM en las mezclas (75:25 y 50:50 peso/peso) en ambas especies. El valor máximo de MS alcanzado con la proporción 50:50 fue de 52,3 y

52,9%, respectivamente. Este incremento estuvo relacionado directamente al alto contenido de MS del RM (90,2%).

A los 20 días de fermentación (fin del experimento) los ensilados con forraje de *L. exaltatus* (100:0) mostraron mayor contenido de MS que los de *L. rotundiflorus*, con 29,4 y 25,2%, respectivamente. Esta variación en el contenido de MS entre el material ensilado de las dos especies está directamente relacionado con la diferencia en sus contenidos de MS al momento de cortar el forraje y antes de iniciar el experimento. Así mismo, el incremento de MS también está relacionado con la diferencia en la relación hoja:tallo y el estado de maduración en las especies (Kaldmäe *et al.*, 2003; Zamora *et al.*, 2009). Esto está relacionado con su fenología, ya que aunque ambas especies de lupino se sembraron y cosecharon en la misma fecha, mostraron un patrón de crecimiento y desarrollo diferente. *L. exaltatus* presenta un solo tallo principal con ramificaciones laterales, mientras que *L. rotundiflorus* presenta 5-8 tallos que se originan desde la base.

El contenido promedio de MS en ensilados de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* (100:0) fue superior al contenido de MS (16,2-19,0%) informado por Fraser *et al.* (2005b) al ensilar forraje de *Lupinus albus* cosechado en diferentes estadios de desarrollo e inoculado con bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*).

En otro estudio, realizado por el mismo grupo Fraser *et al.* (2005a) pero con forraje de *L. angustifolius* variedad "Bordako" se obtuvo un ensilado con un valor de MS del 50,0%, casi el doble al encontrado en *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*. Esta diferencia en el contenido de MS, se debe a que el material de *L. angustifolius* se ensiló en una etapa avanzada de desarrollo (fructificación o llenado de grano) mientras el forraje utilizado en este estudio se

cortó y se ensilo en una etapa más temprana (formación de vainas).

En ensilados mixtos de leguminosas (*Vigna radiata*, *Gliciridia sepium*, *Piscidia piscipula*) y gramíneas tales como *Zea maiz*, *Pennisetum purpureum*, *Digitaria decumbens* y *Setaria sphacelata* en diferentes proporciones se registraron valores de MS variables pero en algunos casos inferiores a los encontrados en este estudio (Cárdenas *et al.*, 2003; Tjandraatmadja *et al.*, 1993, Castillo *et al.*, 2009). Estas diferencias en el contenido de MS se deben al bajo contenido de humedad en el RM (8,8%) utilizado en este experimento, ya que de acuerdo a Cárdenas *et al.* (2003) las variaciones en el contenido de MS de los ensilados dependen principalmente del contenido de MS de las especies que se utilicen en la elaboración de la mezcla a ensilar.

Prácticamente en ambas especies de *Lupinus* las mezclas con la proporción 100:0 y 75:25 presentaron el rango óptimo de MS que debe tener un material a ensilar (30-45%), ya que menores niveles podrían dificultar la acidificación del forraje por ensilar, al favorecer la fermentación butírica. Mientras que un forraje seco, con niveles superiores de MS a los registrados en la proporción 50:50 podrían dificultar la correcta fermentación debido a una mala compactación y eliminación inadecuada de aire en la masa por ensilar en un silo convencional (McDonald *et al.*, 1991).

Por otra parte, la inclusión de RM al 25% en el forraje fresco de lupinos o de alguna otra leguminosa representa una opción para incrementar los contenidos de MS sin necesidad de deshidratar al sol antes de ensilar (marchitamiento). Además, el incremento de MS y reducción en el contenido de agua permite disminuir los niveles de efluentes o lixiviados, y por lo tanto las pérdidas de carbohidratos y otros nu-

trientes por esa vía al ensilar este tipo de mezclas en silos convencionales (Vallejo, 1995; McDonald *et al.*, 1991). Finalmente, el incremento de MS por la adición del RM al forraje de leguminosas con contenidos de proteína >17% puede disminuir la proteólisis y la generación de amoníaco durante el proceso fermentativo (Cárdenas *et al.*, 2003; Clavero y Razz, 2008).

Proteína cruda

Se encontró que al incrementarse el contenido de MS respecto al forraje de lupinos el porcentaje promedio de proteína cruda (PC) en las mezclas disminuyó significativamente ($p < 0,05$) debido a un efecto de dilución por la adición gradual de RM. En *L. exaltatus* el contenido de PC en la proporción 100:0 fue de 16,2% y disminuyó hasta 11,0% en la proporción 50:50, mientras que en *L. rotundiflorus* la reducción fue de 13,97 a 7,6%.

Contrario a lo encontrado en este estudio, Cárdenas *et al.* (2003) informan que al ensilar mezclas de forraje de la gramínea *Pennisetum purpureum* con forraje de diferentes leguminosas arbóreas (*Piscidia piscipula*, *Lysiloma latisiliquum*, *Albizia lebbek*) hasta un nivel de inclusión del 45%, observaron un incremento de los valores de proteína de 7,2% hasta un 9,9 % en los ensilados. Sin embargo estos valores de proteína son inferiores a los registrados en el ensilado con forraje de *L. exaltatus* en las mezclas 75:25 y 50:50, debido al contenido de proteína en la planta de lupinos. Por otra parte, en el estudio anterior al incluir el forraje de las leguminosas en un 15% se encontró el menor valor de PC (7,2%), similar al que encontrado en *L. rotundiflorus* en la proporción 50:50. Estas variaciones en el contenido final de proteína en las mezclas lupinos:RM están relacionadas con el contenido de proteína en la planta de lupinos.

Pihiri *et al.* (2007) determinaron valores de proteína de 15,6 y 14,1%, respectivamente, en una mezcla de forraje de maíz-*Acacia boliviana* y forraje de maíz-*Leucaena leucocephala* en partes iguales. Esos valores son superiores a los encontrados en los ensilados de forraje de lupinos:RM en la proporción 50:50 debido a las diferencias en el contenido de proteína del material utilizado en la preparación de las mezclas en ambos estudios.

Sin embargo, al ensilar una mezcla de la leguminosa *Vigna radiata* con maíz fresco en proporciones de 70:30 y 60:40, y con adición de melaza al 4%, los contenidos de proteína en los ensilados fueron de 9,6 y 11,1%, respectivamente (Castillo *et al.*, 2009). Estos valores son inferiores a los encontrados en este estudio con *L. exaltatus* en las proporciones 70:25 y 50:50, pero son superiores a los de *L. rotundiflorus* en la proporción 50:50. Por otra parte Tobía *et al.* (2007), en un ensilado preparado con una mezcla soya-maíz en proporción 50:50, registraron 16,9% de proteínas, valor superior al encontrado en todos los ensilados de forraje de lupinos:RM.

Las variaciones observadas en el contenido de proteína de los ensilados de mezclas gramíneas:leguminosas a diferentes proporciones se deben al contenido inicial de proteínas en el material sometido al proceso de ensilaje.

El mayor porcentaje de PC (15,7 y 14,%) se encontró en *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*, respectivamente, en la proporción 100:0. Sin embargo, estos valores son inferiores a los de ensilados de *L. albus* y *L. angustifolius*, con contenidos de proteína superiores al 19% (Fraser *et al.*, 2005a, b). Esta diferencia está influenciada por el contenido de PC en el material inicial de las especies por ensilar; así por ejemplo, el contenido de PC en el forraje de *L. albus* y *L. angustifolius* antes de ensilar fluctúa entre 17

y 30%, dependiendo de la etapa de crecimiento y desarrollo. En este ensayo los valores iniciales estuvieron entre 16 y 17% (Fraser *et al.*, 2005a, b).

El incremento en el porcentaje de inclusión de RM al forraje de lupino hasta un 50% disminuyó de forma significativa el contenido de proteínas en los ensilados por efecto de la dilución. Sin embargo, la inclusión de RM en una proporción $\leq 25\%$ al forraje de *Lupinus exaltatus* o *L. rotundiflorus*, además de resultar en un ensilado con adecuados contenidos de MS, permite una buena compactación del material a ensilar y una reducción en pérdidas por fermentación, oxidación y efluentes. Además, un contenido de humedad adecuado disminuye la respiración de los tejidos vegetales, pérdida de azúcar e hidrólisis de proteínas en un ensilado mixto RM-leguminosas (van Soest, 1994), tal y como se observó en este estudio.

Cenizas

El contenido de cenizas en cada una de las mezclas por ensilar y ensiladas es similar en ambas especies de *Lupinus*. El contenido de cenizas en el ensilado a base de forraje de *L. exaltatus* fue de 9,4%, mientras que en *L. rotundiflorus* fue 10,7%, no siendo significativa ($p < 0,05$) la diferencia. En general, estos valores se encuentran dentro de los rangos informados para otros silos de leguminosas forra-

TABLE I
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FORRAJE DE LUPINOS Y RASTROJO DE MAÍZ, CON ADICIÓN DE 10% DE MELAZA E INÓCULOS BACTERIALES (% EN BASE SECA)*

	<i>L. rotundiflorus</i>	<i>L. exaltatus</i>	Rastrojo de maíz
MS	24,23 \pm 0,681	26,13 \pm 0,874	90,21 \pm 0,813
PC	16,81 \pm 0,619	17,38 \pm 0,567	4,05 \pm 0,638
EE	1,26 \pm 0,088	1,35 \pm 0,096	1,53 \pm 0,069
Cenizas	11,26 \pm 0,212	10,78 \pm 0,189	6,87 \pm 0,230
FDN	51,50 \pm 0,90	55,38 \pm 0,597	89,01 \pm 1,005
FDA	37,67 \pm 0,972	39,66 \pm 1,160	57,26 \pm 1,861

* Los valores están expresados como media \pm desviación estándar (n=3). MS: materia seca, PC: proteína cruda, EE: extracto etéreo, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido.

jas (Kaldmäe *et al.*, 2003; WingChing y Rojas, 2006). En un estudio con forraje de *Lupinus angustifolius* cortado en diferentes etapas de crecimiento y ensilado durante

90 días se informan de valores de cenizas entre 4,4 y 7% (Fraser *et al.*, 2005a), inferiores a los encontrados en el presente estudio. El contenido de cenizas en el material ensilado con sus respectivas proporciones mostró una variación de 6,9 a 9,4% en *L. exaltatus* y de 7,9 a 10,7% en *L. rotundiflorus*. Estos valores son superiores a los obtenidos por otros investigadores en ensilados de gramíneas y leguminosas en mezcla, ya que se han descrito valores

de cenizas $< 7\%$ (Muhamad *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2009). Valores de cenizas $> 14\%$ son asociados a contaminación del suelo durante la cosecha o elaboración del silo, lo que favorece la presencia de fermentaciones secundarias y reducción del consumo (Chaverra y Bernal, 2000). El incremento de rastrojo de maíz en las mezclas antes y después de ensilar mostro una tendencia a disminuir los contenidos de cenizas, sin embargo solo con la proporción 50:50 se registró un descenso significativo ($p < 0,05$), lo que se relaciona al bajo contenido de cenizas en el RM utilizado en este experimento (Tabla I).

Fibra detergente neutra y fibra detergente acida

Los contenidos promedio de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente acida (FDA) en los ensilados de ambos lupinos se incrementaron al aumentar la proporción de RM en las mezclas, tendencia que se mantuvo hasta el final del experimento (Tabla II). El incremento de FDN y FDA en los ensilados está relacionado con el alto contenido de estas fracciones de fibra en el RM. Utilizando una mezcla de maíz fresco: *Vigna radiata* (40:60) se observó las mismas tendencias (Castillo *et al.*, 2009), pero con valores de FDN y FDA inferiores a los obtenidos en este estudio. En otras especies no leguminosas como *Morus alba* también se registran incrementos de FDN y FDA (hasta 60,8 y 41,8%) al incorporar maíz fresco a diferentes niveles de inclusión (Boschini, 2003; Castillo *et al.*, 2009).

Los dos ensilados de lupinos en la relación 100:0 presentaron los menores contenidos de FDN y FDA. Es de esperarse que estos ensilados presenten un mayor aprovechamiento a nivel ruminal, ya que el contenido de FDN y el consumo por parte del animal son inversamente proporcionales, mientras que

TABLE II
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS MEZCLAS DE FORRAJE DE LUPINOS Y RASTROJO DE MAÍZ, CON ADICIÓN DE 10% DE MELAZA E INÓCULOS BACTERIALES EN FRESCO Y ENSILADO A LOS 20 DÍAS DE FERMENTACIÓN

Variables (%)	Proporción de forraje de <i>L. exaltatus</i> : Rastrojo maíz		
	100:0	75:25	50:50
Materia seca			
En fresco	30,6 a	44,1 b	52,3 c
Ensilado	29,4 a	46,8 b	51,7 c
Proteína cruda			
En fresco	15,7 b	13,3 ab	12,4 a
Ensilado	16,2 c	13,6 b	11,0 a
Cenizas			
En fresco	9,7 c	9,7 b	7,2 a
Ensilado	9,4 c	8,9 b	6,9a
FDN			
En fresco	49,8 a	54,9 b	62,7 c
Ensilado	48,1 a	55,5 b	63,2 c
FDA			
En fresco	37,7 a	40,6 b	42,8 c
Ensilado	38,0 a	39,5 b	44,0 c
	Proporción de forraje de <i>L. rotundiflorus</i> : rastrojo maíz		
	100:0	75:25	50:50
Materia seca			
En fresco	26,1 a	31,7 b	52,9 c
Ensilado	25,2 a	33,9 b	51,4 c
Proteína cruda			
En fresco	14,0 c	10,93 b	7,05 a
Ensilado	13,97 c	11,8 b	7,58 a
Cenizas			
En fresco	10,6 c	9,1 b	7,1 a
Ensilado	10,7 c	10,0 b	7,9 a
FDN			
En fresco	36,5a	45,6 b	60,0 c
Ensilado	38,0a	46,8 b	61,3 c
FDA			
En fresco	31,9 a	34,8 a	48,9 b
Ensilado	33,6 a	36,2 a	47,1 b

Valores promedio con diferente letra por filas son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$).

el contenido de FDA y lignina se correlacionan con la fracción no digestible del material, lo que provocan un efecto de llenado (Holland y Kezar, 1995).

Los menores contenidos de FDN y FDA en los ensilados con proporciones 100:0 y 75:25 favorecen el consumo de MS de mayor digestibilidad debido a su menor contenido de componentes de la pared celular, mientras que los altos valores de FDN y FDA del material fresco en las proporciones 50:50 mostrarían un menor consumo y pobre digestibilidad del mismo.

Características fermentativas

En la Tabla III se presentan los valores de pH, nitrógeno amoniacal y contenido de ácido láctico en las diferentes mezclas estudiadas y tiempos de fermentación. Los análisis de varianza mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en todos estos parámetros por efecto del tiempo de fermentación y de la proporción de forraje de lupinos:rastrojo de maíz.

pH

El pH en todos los ensilados con sus distintas proporciones mostró una tendencia a disminuir en relación al tiempo de ensilaje ($P < 0,05$). Esta tendencia al aumento de la acidez observada en este estudio durante el proceso de fermentación es similar a la descrita para ensilajes de leguminosas mezcladas con gramíneas (Cárdenas *et al.*, 2003; Muck, 1988; Vicente *et al.*, 2008).

Independientemente de las proporciones estudiadas, después de 20 días de iniciado el proceso de fermentación (final del experimento) los valores de pH registrados en los silos se encuentran por

TABLA III
VARIABLES FERMENTATIVAS DEL ENSILAJE DE LUPINOS Y RASTROJO DE MAÍZ, CON ADICIÓN DE 10% DE MELAZA E INÓCULOS BACTERIALES

Especie	Proporción	Variables	Fermentación (días)			
			Material fresco	6	12	20
<i>L. exaltatus</i>	100:0	pH	6,2 a	4,4 b	4,0 c	3,9 c
		Ácido láctico	0,0 a	5,73 b	8,09 c	8,4 c
		N-NH ₃	1,63 c	1,57 b	1,06 a	1,25 a
	75:25	pH	6,7 a	4,5 b	4,0 c	4,0 c
		Ácido láctico	0,0 a	3,27 b	4,48 bc	5,4 c
		N-NH ₃	1,26 a	0,98 a	1,17 a	2,16 b
50:50	pH	6,7 a	4,5 b	4,0 c	3,9 c	
	Ácido láctico	0,0 a	1,23 b	2,13 b	2,8 c	
	N-NH ₃	1,46 b	1,38 a	1,46 b	1,25 a	
<i>L. rotundiflorus</i>	100:0	pH	6,0 a	4,0 b	3,9 b	3,8 b
		Ácido láctico	0,0 a	5,5 b	5,7 b	6,28 c
		N-NH ₃	2,0 b	1,49 a	1,65 a	1,62 a
	75:25	pH	5,9 a	4,1 b	4,0 b	4,0 b
		Ácido láctico	0,0 a	4,6 b	4,3 b	4,9 b
		N-NH ₃	2,18 a	1,79 b	1,95 b	1,89 b
50:50	pH	6,5 a	4,6 b	4,3 c	4,2 c	
	Ácido Láctico	0,0 a	1,8 b	2,25 c	2,3 c	
	N-NH ₃	1,71 a	2,66 c	2,96 b	3,50 c	

Valores con diferente letra entre promedios por filas son estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

debajo de 4,2, valor recomendado como aceptable en un proceso de ensilaje (Ojeda *et al.*, 1991). Cabe señalar que la acidificación ocurrió de forma rápida en todas las proporciones estudiadas y en ambas especies de lupinos, ya que a los 6 días de haber iniciado el proceso de ensilaje se observó un descenso significativo del pH con respecto al tiempo 0, mientras que a los 12 y 20 días se observó poca variación del pH, indicando una adecuada estabilización de los ensilados. De lo anterior se puede deducir que la concentración de azúcares solubles (melaza) y bacterias ácido lácticas adicionadas al material vegetal por ensilar en este estudio fue suficiente para acelerar el descenso significativo del pH durante la etapa inicial de fermentación. De acuerdo con Muck (1988) un descenso rápido del pH durante el proceso de ensilaje garantiza un hábitat desfavorable para la proliferación de microorganismos indeseables como *Clostridium*, reduciendo y/o evitando la proteólisis del

forraje ensilado.

En un estudio durante un periodo de fermentación de 21 días de una mezcla de *Sorghum alnum* (gramínea) y *Centrocrema pasourum* (leguminosa) o de *Sorghum alnum* y *Arachis hypogea* (leguminosa) en proporciones de 20 y 40%, respectivamente, se registraron valores de pH entre 5,3 y 5,7 en los ensilados, que son mayores a los obtenidos en este estudio (Muhammad *et al.*, 2008). El escaso descenso del pH o mayor resistencia a la acidificación de estos silos comparados con los de este estudio, se debe que no se adicionó melaza como fuente de carbohidratos solubles.

Además de los bajos valores de pH encontrados, la adición de melaza en todos los ensilados confirmó un olor agradable (láctico) y una textura bien definida de acuerdo a la escala propuesta por Ojeda *et al.* (1991) para indicadores sensoriales en microsilos. Cabe destacar que los ensilados a base de 100% forraje de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* resultaron ser de mejor cali-

dad que los microsilos de soja obtenidos por Tobía *et al.* (2003), ya que se informa de valores de pH de 5,8 y un olor poco agradable (putrefacto) en el silo. La pobre calidad de los silos de soja se debió probablemente a que no se adicionó al forraje fuente alguna de carbohidratos. Sin embargo, a los ensilados de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* de este estudio se les adicionó 10% de melaza como fuente de carbohidratos hidrosolubles, lo cual facilitó la fermentación láctica. Al generarse ácido láctico el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la formación de microorganismos que inducen la putrefacción (McDonald *et al.*, 1991). En microsilos con 100% de forraje de *L. albus*

variedad Arthur pero abiertos a los 90 días, Fraser *et al.* (2005b) informan de valores de pH de 3,47-3,8, ligeramente inferiores a los obtenidos en los microsilos con 100% de forraje de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*.

Ácido láctico

El contenido de ácido láctico en los ensilados varió de 1,2 a 8,4% de la MS, con una tendencia a incrementarse en todas las mezclas estudiadas conforme transcurrieron los días de fermentación. Estas variaciones se encuentran dentro de los intervalos establecidos en otros ensilados de leguminosas y mezclas de gramíneas-leguminosas (Sánchez, 2005). A los 20 días de fermentación el mayor contenido de ácido láctico se encontró en el ensilado de *L. exaltatus* 100:0 con 8,4% MS, seguido del ensilado de *L. rotundiflorus* 100:0 con 6,2%. Estos contenidos de ácido láctico fueron superiores a los obtenidos por WingChing y Rojas, (2007) y por Imura

et al. (2001) en un ensilado de maní forrajero (3,7%) y un ensilado de *Macroptilium lathyroides* (< 1%) a los 60 y 100 días de fermentación, respectivamente. Sin embargo, son similares a los informados por Fraser et al. (2005a) en un ensilado de *L. angustifolius* cosechado en un estado de formación de vainas y llenado de grano durante un periodo de 90 días.

Aunque los contenidos de ácido láctico en la proporción 75:25 son menores a los encontrados en la proporción 100:0 (5,4% en *L. exaltatus* y 4,9% en *L. rotundiflorus*), estos contenidos de ácido láctico se encuentran dentro los valores considerados adecuados en ensilados de excelente calidad de conservación (>3%; Sánchez, 2005). Los ensilados con la proporción 50:50 en ambas especies de *Lupinus* fueron los que registraron los valores más bajos de ácido láctico, lo que indica predominio de fermentación láctica durante el ensilaje.

Nitrógeno amoniacal

El contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en los ensilajes representa un índice del catabolismo de las proteínas (proteólisis) y aminoácidos. Los ensilados con una concentración <7% de N-NH₃ se consideran bien conservados. En este sentido, en N-NH₃ los ensilados de *L. exaltatus* el intervalo encontrado de N-NH₃ fue de 0,98 a 2,16%, donde la mayor concentración corresponde al material fresco y con tendencia a disminuir o mantenerse a través de los días de fermentación. La misma tendencia presentaron los microsilos de *L. rotundiflorus* en las proporciones de 100:0 y 75:25 (1,49 a 2,18%). Sin embargo en la proporción 50:50 de *L. exaltatus* se observó un aumento en N-NH₃ total a través del tiempo de fermentación; no obstante, este incremento se mantuvo dentro del valor óptimo

recomendado en ensilados de buena calidad. El rápido descenso del pH por la adición de bacterias homolácticas y así como la inclusión de RM al forraje de lupinos en los ensilados probablemente favoreció la inhibición del crecimiento de bacterias proteolíticas y por consecuencia llevó a un menor contenido de N-NH₃ (Whiter y Kung, 2001).

Cabe mencionar que las concentraciones de N-NH₃ total registrados en los ensilajes de *L. exaltatus* y de *L. rotundiflorus* en las diferentes proporciones de lupino:RM al término del periodo experimental, se sitúan en los niveles más bajos e incluso inferiores a las concentraciones informadas para ensilados de otras especies de lupinos. Así, por ejemplo Fraser et al. (2005a, b) describen niveles de 2,8 a 7,6% de N-NH₃ en ensilados de *L. albus* y *L. angustifolius* en diferentes etapas de maduración, adicionados con bacterias ácido lácticas y un periodo de 97 y 90 días de fermentación, respectivamente.

Conclusiones

Los valores de proteína cruda y fracciones de fibra, FDN y FDA de las mezclas en fresco (100:0, 75:25 y 50:50) de ambas especies de lupinos indican que la mezcla 100:0 podría ser la de mejor calidad nutricional para rumiantes.

El alto contenido de ácido láctico (>6%), un pH <4,5 y el bajo contenido de N-NH₃ (<3,6%) en los ensilados obtenidos indican que el forraje de lupinos, solo o mezclado con rastrojo de maíz en las proporciones estudiadas (75:25 y 50:50), adicionando inóculo y una fuente de carbohidratos solubles, puede ser conservado mediante ensilaje. Sin embargo, proporciones de rastrojo de maíz >25% en las mezclas afectan negativamente el contenido de proteína cruda, cenizas FDN y FDA en los ensilados.

REFERENCIAS

- Alcántara SE, Ochoa ES, Aguilera B A, Pérez GRF (1986) Ensilado de Huizache (*Acacia farnesiana*, L. Willd) como recurso potencial en la alimentación de cabras. *Arch. Latinoam. Nutr.* 36: 135-151.
- AOAC (2000) *Official Methods of Analysis of AOAC*. 17ª ed. Gaithersburg, MD, EEUU.
- Belteky B, Kovacs I (1984) *Lupin the new break*. In: Edwards JG (eds): Panagry Press, Bradford on Avon, England
- Blanco GM, Chamorro DR, Arreaza LC, Rey AM (2005) Evaluación nutricional del ensilaje de *Sambucus peruviana*, *Acacia decurrens* y *Avena sativa*. *Rev. Caproica* 6: 81-85.
- Boschini C (2003) Características físicas y valor nutritivo del ensilaje de morera (*Morus alba*) Mezclado con forraje de maíz. *Agron. Mesoam.* 14: 51-57.
- Cárdenas MJV, Sandoval CCA, Solorio SFJ (2003) Composición química de ensilajes mixtos de gramíneas y especies arbóreas de Yucatán, México. *Téc. Pec. Méx.* 41: 283-294.
- Castillo JM, Rojas BA, WingChing JR (2009) Valor Nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). *Agron. Costarric.* 33: 133-146.
- Clavero T, Razz R (2008) Dinámica de la fermentación inicial sobre los compuestos nitrogenados en ensilajes de *Acacia mangium*. *Zootecn. Trop.* 26: 253-255.
- Chaverra G, Bernal E (2000) *Ensilaje en la Alimentación de Ganado Vacuno*. IICA. Tercer Mundo Editores. Bogotá, Colombia. 153 pp.
- Dunn DB (2001) *Lupinus*. En Calderón G, Rzedowski J (Eds.) *Flora Fanerogámica del Valle de México*. 2ª ed. Instituto de Ecología. Pátzcuaro, México. pp 326-333.
- Fraser MD, Fychan R, Jones R (2005a) Comparative yield and chemical composition of two varieties of narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius*) when harvested as whole-crop, moist grain and dry grain. *Anim. Feed Sci. Tech* 120: 43-50.
- FEDNA (1999) *Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos*. C. de Blas, G.G. Mateos y P.Gª. Rebollar (Eds.) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España.
- Fraser MD, Fychan R, Jones R (2005a) The effect of harvest date and inoculation on the yield and fermentation characteristics of two varieties of White lupin (*Lupinus albus*) when ensiled as a whole-crop. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119: 307-322.
- Fraser MD, Fychan R, Jones R (2005b) Comparative yield and chemical composition of two varieties of narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius*) when harvested as whole-crop, moist grain and dry grain. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120: 43-50
- Garcés MAL, Berrio RL, Ruiz AS, Serna de León JG, Builes AAF (2004) Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Rev. Lasall. Inv.* 1: 66-71.
- Holland C, Kezar W (1995) *The Pioneer Forage Manual. A Nutritional Guide*. Pioneer Hi bred International. Des Moines, IA, EEUU. pp. 55-56.
- Imura Y, Namihira T, Kawamoto Y (2001) Fermentation quality of phasey bean and guinea grass silages. En Gomide JA, Soares Mattos WR, da Silva SC (Eds.) *Proc. 19th Int. Grasslands Congress*. Piracicaba, SP, Brazil. pp. 784-785
- Kaldmäe H, Vadi M, Kirsell R, Olt A (2003) Effect of growth stage of legumes on silage digestibility. *Vet. Zootech.* 2: 49-52.
- Kung LJr, Taylor CC, Lynch MP, Neylon JM (2003) The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 336-343.
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991) *The Biochemistry of Silage*. 2ª ed. Wiley. Chichester, RU. 340 pp.
- McVaugh R (1987) *Lupinus*. En *Flora Novogaliciana. A Descriptive Account of the Vascular Plants of Western Mexico*. Vol. 5. Leguminosae. University of Michigan Press. Ann Arbor, MI, EEUU. pp. 580-599.
- Muck R (1988) Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Sci.* 71: 2992-3002.
- Muhammad LR, Baba M, Mustapha A, Ahmad MY, Abdurrahman LS (2008) Use Legumes in the improvement of silage quality of Columbus grass (*Sorghum alatum* Parodi). *Res. J. Anim. Sci.* 2: 109-112.
- Ojeda F, Díaz D (1991) Ensilaje de gramíneas y leguminosas para la producción de leche. I. *Panicum maximum* cv. Likoni y *Lablab purpureus* cv. Rongai. *Pastos Forrajes* 14: 175-184.

- Pihiri MS, Ngongoni NT, Maasdorp BV, Titterton M, Mupangwa JF, Sabata A (2007) Ensiling characteristics and feeding value of silage made from browse tree legume-maize mixtures. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 7: 149-156.
- Ruiz MJJ, Ruiz LMA, Zamora NJF (2000) The genus *Lupinus*: taxonomy and distribution in Jalisco, Mexico. En van Santen E, Wink M, Roemer P (Eds.) *Lupin, an Ancient Crop for the New Millennium. Proc. 9th VIII Int. Lupin Conference.* Klink/Müriz, Alemania, 24-24/06/1999. pp 297-300.
- Ruiz LMA, Rodríguez MR, Navarro PS (2006) Evaluación químico-nutricional de *Lupinus exaltatus* Zucc, del Nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31: 758-761.
- Sánchez, ML (2005) Estrategias modernas para la conservación de forrajes en sistemas de producción bovina tropical. *Rev. Corpoica* 6: 69-80.
- Tjandraatmadja M, Macrae IC, Norton BW (1993) Effect of the inclusion of tropical tree legumes, *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocephala*, on the nutritive value of silages prepared from tropical grasses. *J. Agric. Sci.* 120: 397-406.
- Tobía C, Uribe L, Villalobos E, Soto H, Ferris I (2003) Aislamiento, selección y caracterización de bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya. *Agron. Costarric.* 27: 21-27.
- Tobia C, Sequera C, Villalobos E, Cioffi R, Escobar O (2007) Experiencias en la elaboración de silaje maíz-soya en dos sistemas de producción bovina en Venezuela. En Trejos R, Zambrano C, García W, Tobía C, Mancilla L, Valbuena NJ, Ramírez F (Eds.) *XI Seminario Sobre el Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal.* Barquisimeto, Venezuela. pp. 78-87.
- Vallejo M (1995) *Efecto del Premarchitamiento y la Adición de Melaza sobre la Calidad del Ensilaje de Diferentes Follajes de Árboles y Arbustos Tropicales.* Tesis. CATIE. Turrialba Costa Rica. 117 pp.
- Van Soest PJ (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminant.* 2^a ed. Cornell University Press. Ithaca, NY, EEUU. pp. 216-217.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Vasiljević S, Milić D, Mikić A (2009) Chemical attributes and quality improvement of forage legumes. *Biotech. Anim. Husb.* 25: 493-504.
- Vicente E, Scollo D, Mora V, Giraud M, Ramírez E, Rechimont R (2008) Estudio de la aplicación de inoculantes para ensilado de forrajes. II. Efecto de la adición de un coadyuvante. *Rev FAVE-Cienc. Agr.* 7: 67-73.
- Whiter AG, Kung LJr (2001) The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 84: 2195-2202.
- WingChing JR, Rojas BA (2006) Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. *Agron. Costarric.* 30: 87-100.
- WingChing JR, Rojas BA (2007) Dinámica fermentativa y fraccionamiento proteico durante el ensilaje. *Agron. Mesoam.* 18: 55-53.
- Zamora NJF, García LPM, Ruíz LMA, Rodríguez MR, Salcedo PE (2009) Composición y concentración de alcaloides en *Lupinus exaltatus* Zucc. durante su crecimiento y desarrollo. *Interciencia* 34: 672-676.