



EFFECTO ADITIVO DE ENSILADOS DE POLLINAZA, CERDAZA Y UREA MEZCLADOS CON MELAZA DE CAÑA Y SUBPRODUCTO DE PANADERÍA EN DIETAS PARA CORDEROS †

[ADDITIVE EFFECT OF SILAGES MADE OF POULTRY LITTER, SWINE MANURE AND UREA MIXED WITH SUGAR CANE MOLASSES AND BAKERY BY-PRODUCT ON LAMB DIETS]

S.S. González-Muñoz¹, I.A. Domínguez-Vara², J.L. Bórquez-Gastelum², J.M. Pinos-Rodríguez³, J.E. Ramírez-Briebesca¹, and D. Trujillo-Gutiérrez^{4*}

¹IREGEP-Ganadería, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Estado de México, México. Email: ssgonzal45@hotmail.com, efrenrb@colpos.mx

²Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México.

Email: igy92@hotmail.com, jlborquez@yahoo.com.mx

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, México. Email: jpinos70@hotmail.com

⁴Centro de Estudios Profesionales, Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, México. Email: danieltg_dan@yahoo.es

*Corresponding author

SUMMARY

Background: The use of silages from non-conventional sources of nitrogen and soluble carbohydrates in feeding lambs is controversial in terms of nutrient supply; due to the minimum number of studies reported to date of *in vitro* evaluations that allow measuring its nutritional value in ruminants. **Objective:** To evaluate the additive effect and fermentation potential of silages plus concentrates in diets for lambs on the *in vitro* gas production kinetics. **Methodology:** Six diets (silage + concentrate) were evaluated in a factorial arrangement of 3 N sources (dried poultry litter, fresh swine manure, agricultural urea) × 2 carbohydrate sources (sugar cane molasses, bakery by-product). The diets contained: a) silage (400 g/kg DM) and b) concentrates (600 g/kg DM) based on soybean meal, ground corn, wheat bran, corn stover, fish meal, and vitamin and mineral premix. Average gas production data were analyzed with PROC MIXED and the gas production curves were fitted into the Exponential Logistic model with PROC NL MIXED. **Results:** The PO+MC (151.87 mL/gas MS) and CF+MC (153.12 mL/gas MS) treatments had higher average gas production during incubation. An additive effect was observed on the maximum asymptote of gas production in the CF+MC (+ 4.26%) and PO+MC (+ 3.75%) diets ($P < 0.01$). Diets based on PO or CF combined with MC and SPP had higher IVDMD, IVOMD, and IVNDFD than the control treatment (UR). **Implications:** The inclusion in diets for growing lambs of corn stover silage based on rapidly fermentable carbohydrate sources with non-protein nitrogen from pig and poultry excreta in diets for growing lambs has associative effects on nutrient degradability and its fermentation potential in small ruminant feed. **Conclusions:** The PO+MC treatment has a higher potential for gas production due to the associative effect of its components.

Keywords: livestock excreta; *in vitro* gas production; non-protein nitrogen; agro-industrial wastes.

RESUMEN

Antecedentes: El uso de ensilados de insumos no convencionales de nitrógeno y carbohidratos solubles en la alimentación de corderos, es controversial en términos del aporte de nutrientes; debido a la mínima cantidad de estudios reportados a la fecha de evaluaciones *in vitro* que permitan medir su valor alimenticio en rumiantes. **Objetivo:** Evaluar el efecto aditivo y potencial de fermentación de ensilados más concentrados en dietas para corderos sobre la cinética de producción *in vitro*. **Metodología:** Seis dietas se evaluaron en un arreglo factorial de 3 fuentes de N (pollinaza, cerdaza y urea agrícola) × 2 fuentes de carbohidratos solubles (melaza de caña y subproducto de panadería). El contenido de las dietas fue: a) ensilado (400 g/kg MS) y b) suplemento concentrado (600 g/kg MS) a base de pasta de

† Submitted August 31, 2021 – Accepted June 1, 2022. <http://doi.org/10.56369/tsaes.3938>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

Authors ORCID = S.S. González-Muñoz: 0000-0001-9251-0582; I.A. Domínguez-Vara: 0000-0001-9718-8318; J.L. Bórquez-Gastelum: 0000-0002-2627-0362; J.M. Pinos-Rodríguez: 0000-0002-1348-0336; J. E. Ramírez-Briebesca: 0000-0002-2549-3353; D. Trujillo-Gutiérrez: 0000-0002-6048-8939.

soya, grano de maíz, salvado de trigo, rastrojo de maíz, harina de pescado y premezcla de vitaminas con minerales. La producción de gas promedio fue analizada con PROC MIXED y las curvas de degradación se ajustaron al modelo Logístico Exponencial con PROC NLMIXED. **Resultados:** Las dietas PO+MC (151.87 mL/gas MS) y CF+MC (153.12 mL/gas MS) tuvieron alto promedio de producción de gas durante la toda la incubación. Un efecto aditivo se observó en la asíntota máxima de producción de gas en las dietas CF+MC (+ 4.26%) y PO+MC (+ 3.75%) ($P < 0.01$). Las dietas a base de PO o CF combinadas con MC y SPP tuvieron mayor DIVMS, DIVMO y DIVFDN que los tratamientos control (UR). **Implicaciones:** La inclusión en las dietas para corderos en crecimiento de ensilados de rastrojo de maíz a base de fuentes de carbohidratos rápidamente fermentables con nitrógeno no proteico de excretas de cerdo y ave tienen efectos asociativos sobre la degradabilidad de nutrientes y su potencial de fermentación en la alimentación de pequeños rumiantes. **Conclusiones:** El tratamiento PO+MC tiene mayor potencial de producción de gas debido al efecto asociativo de sus componentes.

Palabras clave: excretas pecuarias; producción de gas *in vitro*; nitrógeno no proteico; desperdicios agro industriales.

INTRODUCCIÓN

Los subproductos agro industriales y las excretas pecuarias son un problema global debido a su efecto contaminante en suelo, agua, aire, y al riesgo latente sobre la salud humana (Manyi-Loh *et al.*, 2016). No obstante, los subproductos agroindustriales son una fuente potencial de energía (Olivo *et al.*, 2017) y nitrógeno (Jayathilakan *et al.*, 2012) en dietas para rumiantes. En la producción pecuaria, la contribución nutricional de los subproductos de caña de azúcar (Mordenti *et al.*, 2021) y pollinaza (Bolan *et al.*, 2010) es valiosa debido a su aporte de energía y proteína. La sustitución de grano de maíz en la alimentación de vacas lecheras con subproducto de panadería beneficia el aumento en consumo voluntario de materia seca y estabilidad del pH ruminal (Kaltenegger *et al.*, 2020). En la fermentación de ensilados de pasto, la adición de melaza de caña (MC) disminuye pH (4.2) y aumenta N-NH₃ (92 g/kg N total) (Keady, 1996). En ensilados de maíz aumenta N-NH₃ (>9.07% N-NH₃, % del total N) en el tercer día posterior al inicio de la fermentación, y en ensilados con 135 d de preservación, aumenta la concentración de lactato (>3.51% MS) (Huisden *et al.*, 2009). Pero en ambos estudios la adición de MC a los ensilados no afectó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca. Además, las excretas de cerdo son altas en nitrógeno no proteico (NNP) y minerales, pero contienen alta carga patógena microbiana y parasitaria, ambos factores de riesgo en alimentación de rumiantes (Figueroa y Sánchez, 1997). Sin embargo, la acidificación láctica durante el proceso de ensilaje reduce el número de hongos (Serrano-García *et al.*, 2008) y levaduras, y mejora la estabilidad aeróbica de las excretas de cerdos (López-Garrido *et al.*, 2014). Por lo tanto, la inclusión de ensilados de excretas con subproductos ricos en energía en dietas para rumiantes es segura y reduce costos de alimentación (Seok *et al.*, 2016). Corderos alimentados con base a estos ensilados, obtienen ganancias de peso de 116.3 a 175 g/d y grados de conformación de las canales de regular a buenas (Bórquez-Gastelum *et al.*, 2018), caracterizadas por perfiles rectilíneos a convexos y buen desarrollo muscular. Pero corderos alimentados solo con ensilado de excretas de pollo y

Sorghum bicolor x *S. bicolor* var. en relación 1:1 sin concentrado, disminuyen la digestibilidad aparente (g/kg) de materia seca (MS, 511.1), materia orgánica (MO, 588.0) y fibra detergente neutro (FDN, 511.7) (Chaudhry *et al.*, 1997). Lo anterior está relacionado con la insuficiente disponibilidad de nutrientes de la dieta y con el balance de ingredientes con distinto potencial de degradación y energía, esto último esencial en la fermentación microbiana.

La contribución nutricional de dietas a base de ensilados de excretas más concentrado muestra diferencias en el perfil de la fermentación de gas *in vitro* de 265 hasta 288 mL/g MS de gas (Trujillo *et al.*, 2014), lo cual refleja variabilidad en la tasa de fermentación y punto de inflexión de la curva. En el ajuste de curvas de degradación, estas variables están estrechamente relacionadas con la degradación de los nutrientes por la microbiota ruminal (Dhanoa *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2011) y en consecuencia con su impacto sobre el rendimiento productivo. En rumiantes, la digestibilidad de la MO depende de los nutrientes insolubles embebidos en la pared celular (Nousiainen *et al.*, 2004) y de la digestión de la FDN (Van Soest, 1994). En la evaluación *in vitro* de dietas para pequeños rumiantes a base de ensilado de excretas pecuarias y residuos altos en carbohidratos solubles, el potencial máximo de producción de gas y el efecto de interacción de nutrientes e ingredientes con diferente tasa de degradación es poco estudiada. En la evaluación de la fermentación de dietas en la alimentación pecuaria, el efecto de la inclusión de ingredientes no debe ser vista de manera aislada, sino como la interacción asociativa de estos insumos (Rosales *et al.*, 1998; Gandarillas *et al.*, 2021). En esta investigación se postuló que la combinación de dos fuentes de nitrógeno soluble de origen pecuario con dos fuentes altas en energía rápidamente fermentable en ensilados de rastrojo, aumentará la degradabilidad y potencial de fermentativo *in vitro* de sus componentes en dietas para rumiantes. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto asociativo y potencial de fermentación *in vitro* de la inclusión de ensilados de excretas más dos fuentes de carbohidratos solubles en dietas para corderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Los ensilados se realizaron en bolsas de plástico (70 kg) a base de rastrojo de maíz, melaza (MC), subproducto de panadería (SPP), pollinaza (PO), cerdaza fresca (CF), urea (UR) y agua (Bórquez *et al.*, 2009), las mezclas fueron puestas bajo sombra durante 30 d. Al cabo de ese tiempo fueron abiertos y muestreados para medir, pH, características de fermentación y composición química (Tabla 1). El pH se midió en extracto acuoso (20 g muestra más 200 mL de agua destilada) de ensilados con pH metro (Benchtop Cole Parmer 05669-20, Vernon Hills, IL, USA) según Shaver *et al.* (1984). Para la preparación de los ensilados se usaron

subproductos altos en N soluble y carbohidratos rápidamente fermentables en rumen más rastrojo (Tabla 1). Los tratamientos a base de UR fueron considerados controles debido al aporte de nitrógeno no proteico con ausencia de minerales y factores de crecimiento de las excretas. Además, los ingredientes fibrosos de estos ensilados con bajo contenido de carbohidratos solubles, son candidatos ideales para examinar los efectos de la adición de fuentes de carbohidratos altamente fermentables como la melaza de caña (Huisden *et al.*, 2009) y subproductos de panadería.

La composición química (Tabla 1 y 2) de la MS (método 937.18), cenizas (942.05), PC (954.01) se analizaron de acuerdo con la AOAC (1997). La determinación de la fibra detergente neutro, fibra

Tabla 1. Composición y análisis químico de ensilados a base de excretas y subproductos ricos en carbohidratos fermentables.

	Tratamientos					
	PO		CF		UR	
	MC	SPP	MC	SPP	MC	SPP
Ingredientes, g/kg MS						
Rastrojo de maíz	384.60	384.60	294.10	294.10	630.00	630.00
Cerdaza fresca	-	-	529.40	529.40	-	-
Pollinaza	384.60	384.60	-	-	-	-
Urea agrícola	-	-	-	-	30.00	30.00
Melaza de caña	230.80	-	176.50	-	340.00	-
Subproducto de panadería	-	230.80	-	176.50	-	340.00
Análisis químico, g/kg MS						
Materia seca	431.00	416.00	369.00	342.00	388.00	422.00
Proteína cruda	164.50	170.30	118.80	131.20	150.80	160.00
Energía metabolizable (MJ/kg MS) *	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
Fibra detergente neutro	421.80	456.60	405.90	442.40	462.90	460.00
Fibra detergente ácido	290.40	214.47	200.77	197.62	249.59	236.83
Lignina detergente ácido	61.26	59.90	43.74	44.05	52.41	48.45
Cenizas	109.80	111.20	96.30	77.10	91.10	73.00
pH	4.17	4.30	3.98	4.05	4.38	4.48
Características de fermentación						
Color	3	3	3	3	3	3
Olor	12	12	12	12	11	12
Textura	5	5	5	5	5	5
Desperdicio, %	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0
Calificación	20	20	20	20	19	20

PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola; MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería. *Valor calculado con base en la producción de gas *in vitro* (Menke y Staingass, 1988).

La metodología de Frankel (1984) se utilizó para: Olor 0 – 12 (0 desagradable – 12 muy agradable), Textura 0 – 5 (0 poco compacto – 5 muy compacto), Color 0 – 3 (0 malo – 3 bueno). La escala para la calificación total fue; 18 – 20 Muy bueno, 10 – 17 Satisfactorio, 4 – 9 Malo a regular, 0 – 3 Muy malo. El % de desperdicio se estimó como: peso total de ensilado – peso total de desperdicio/peso total del ensilado.

Tabla 2. Composición química (g/kg MS) de ingredientes usados en ensilados y concentrados.

Ingredientes	MS	PC	EM	FDN	FDA	LDA	Hemi*	MO
Ensilados								
Rastrojo de maíz	887.00	36.00	7.53	700.00	440.00	154.50	260.00	948.70
Melaza de caña	760.00	60.00	11.30	0.00	0.00	0.00	0.00	880.00
Subproducto de pan	890.00	123.50	13.80	120.20	50.70	0.00	69.50	959.40
Cerdaza fresca	278.00	125.20	6.70	333.60	126.10	45.46	207.50	874.00
Pollinaza	880.40	280.00	5.90	383.30	146.60	42.94	236.70	782.80
Urea agrícola	1000.00	**2875.00	-	-	-	-	-	-
Salvado de trigo	900.30	152.70	10.50	394.00	116.30	31.94	277.70	949.30
Pasta de soya	917.00	447.10	12.60	168.30	76.20	18.61	92.10	930.10
Grano de maíz molido	887.40	90.00	13.40	166.60	38.60	10.10	127.90	848.70
Harina de pescado	946.00	621.70	11.30	373.30	3.69	7.00	369.90	843.40

MS, materia seca; PC, proteína cruda; EM, energía metabolizable (MJ/kg MS); FDN, fibra detergente Neutro; FDA, fibra detergente ácido; Cen, Cenizas; MO, materia orgánica; *Hemicelulosa = FDN – FDA; ** Valores de tablas (NRC, 2007).

detergente ácido y lignina detergente ácido (973.18) se analizó según Van Soest *et al.* (1991); con el analizador de fibras ANKOM200 (ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY, USA) y alfa amilasa en muestras de dietas y suplementos concentrados. La cantidad de hemicelulosa fue calculada como: FDN-FDA. Los valores de la composición química de los ingredientes (Tabla 1) y ensilados (Tabla 2) fueron reportados por Bórquez-Gastelum *et al.* (2018).

Los suplementos concentrados (Tabla 3) se calcularon para proveer energía, proteína, fibra, vitaminas y minerales en dietas para corderos en crecimiento.

Las dietas (tratamientos, Tabla 4) fueron compuestas de ensilados y concentrados con contenido similar de PC (145 ± 1.10 g/kg MS) y energía metabolizable (10.3 ± 0.06 MJ/kg MS) para corderos en finalización (NRC, 2007) con ganancia esperada de 250 g/d de ganancia

diaria de peso. Los concentrados y ensilados de cada tratamiento se evaluaron, y los tratamientos con urea agrícola fueron los testigos.

La degradabilidad *in vitro* y la cinética de producción de gas de las seis dietas, seis concentrados y seis ensilados se evaluaron por 72 h, con nueve repeticiones cada uno más un blanco y tres estándares (paja de trigo) en dos corridas. El fluido ruminal se obtuvo a las 08:30 h de dos vacas Holstein (600 kg de peso vivo con cánula en rumen) alimentadas con una dieta (g/kg MS): heno de alfalfa (400), heno de avena (300) y concentrado comercial (300). Las fases sólidas y líquidas se separaron a través de cuatro capas de manta de cielo y se llevaron al laboratorio donde se colocaron en baño de agua a 39 °C con flujo continuo de CO₂ bajo condiciones estériles. Botellas serológicas (125 mL) se utilizaron con 1000 mg de muestra más una solución de elementos principales (13.2 g CaCl₂ • H₂O, 10 g MnCl₂ • H₂O, 1 g CoCl₂ • 6H₂O, 0.8 g FeCl₂ • 6H₂O

Tabla 3. Composición de los suplementos concentrados de cada tratamiento.

Tratamientos	PO		CF		UR	
	MC	SPP	MC	SPP	MC	SPP
Ingrediente, g/kg MS						
Pasta de soya	84.30	50.70	163.20	135.0	44.60	25.20
Rastrojo de maíz	167.60	167.60	167.80	226.40	298.50	167.50
Salvado de trigo	50.30	50.30	50.30	83.90	83.80	50.30
Harina de pescado	16.600	16.60	16.60	16.60	16.60	16.60
Maíz grano molido	643.9	677.50	564.80	500.80	519.20	703.10
Vitaminas y minerales*	37.30	37.30	37.30	37.30	37.30	37.30

PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola; MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería. *Contenido de premezcla mineral: P no menos de 6.0 %; Ca no más de 16 %; Na, 10 %; K, 0.2 %; Zn, 0.3 %; Cu, 0.06 %; Fe, 0.18 %; S, 0.4 %; Mg, 0.2 %; Mn, 0.2 %; I, 20 ppm; Co, 6 ppm; Se, 12 ppm; vitamina A, 50 000 UI/kg; vitamina D, 10 000 UI/kg; vitamina E, 250/UI kg.

Tabla 4. Proporción ensilado – suplemento, niveles de inclusión y análisis químico de tratamiento.

Tratamientos	PO		CF		UR	
	MC	SPP	MC	SPP	MC	SPP
Composición de las dietas, g/kg MS						
Ensilado	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
Suplemento concentrado	600.00	600.00	600.00	600.00	600.00	600.00
Composición química de las dietas, g/kg MS						
Proteína cruda	146.24	145.56	144.44	143.62	143.74	143.73
Proteína digestible en rumen*	100.74	102.16	95.94	97.52	112.74	109.93
Fracción soluble en agua, g	164.42	170.08	211.17	165.43	169.21	178.27
Fibra detergente neutro	305.97	372.92	316.9	354.98	418.47	415.66
Fibra detergente ácido	152.20	189.97	159.82	184.53	215.89	232.94
Lignina detergente ácido	43.25	44.46	29.73	40.45	46.04	44.51
Energía metabolizable (MJ/kg MS)	10.16	10.33	10.25	10.25	10.25	10.33
Calcio	12.10	11.50	11.70	10.6	7.00	7.60
Fósforo	6.20	6.30	6.40	6.70	3.50	3.30

PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola; MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería. *Valores estimados (NRC, 2007).

y 100 mL H₂O), solución amortiguadora (35 g NaHCO₃, 4 g (NH₄) HCO₃ y 1000 mL H₂O), solución reductora (40 mL 1N NaOH, 6.2 mL Na₂S y 950 mL H₂O) y resazurina (100 mg resazurina, 1000 mL H₂O). Al final se agregaron 10 mL de líquido ruminal gaseado con CO₂ y se incubaron a 39 °C en baño de agua (Menke *et al.*, 1979) con agitación periódica durante 72 h. Lecturas de presión se registraron (Vacuum meter, 840064, Cole-Parmer Instrument Co.) (Theodorou *et al.*, 1994) las primeras 8 h y después cada 4 h hasta las 72 h. La digestibilidad de la FDN de los residuos de la fermentación se determinó según Pell y Schofield (1993). Variables de fermentación *in vitro* se determinaron para MS (DIVMS), FDN (DIVFDN) y MO (DIVMO). Además, se estimaron los parámetros de cinética de producción de gas *in vitro*: máxima asíntota de producción de gas acumulado, punto de inflexión de la curva y tasa de degradación fraccional.

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial (3×2) de tres fuentes de N (PO, CF y UR) y dos fuentes de carbohidratos solubles (MC y SPP). El análisis de datos se realizó con dos métodos: 1) Procedimientos mixtos lineales (PROC MIXED) con combinación de estructuras de covarianza de simetría compuesta (SC) y componentes de la varianza (CV) (Littell *et al.*, 2006) con el método de máxima verosimilitud restringida (REML) (SAS Institute Inc., 2004). Las botellas serológicas se consideraron sujetos aleatorios, los tratamientos fueron efectos fijos, las horas de registro de la producción de gas fueron medidas repetidas, y se observó la interacción tratamiento × hora. La asignación de letras a las diferencias entre tratamientos se realizó con la Macro pdmix800.sas con ajuste de Tukey ($P < 0.05$). 2) El ajuste de la curva de cinética de producción de gas *in*

vitro fue realizado con el procedimiento mixto no lineal (PROC NL MIXED) para el modelo Logístico Exponencial:

$$y_{ij} = \beta_1 + u_{i1}/1 + (\beta_2 + u_{i2}) e^{-\beta_3 t} + e_i$$

donde: y_{ij} = observación del j th vial que fue sujeto al i th tratamiento; β_1 = asíntota máxima de gas acumulado (mL/g MS) a las 72 h más efectos aleatorios u_1 ; β_2 = punto de inflexión de la curva (h) [Ymax/2] más efectos aleatorios u_2 ; y β_3 = tasa fraccional de degradación (g MS/h). La técnica de optimización Quasi-Newton Dual y el método de integración de primer orden (FIRO) se utilizaron. Los parámetros iniciales para el ajuste de la producción de gas fueron: dietas ($\beta_1 = 290$, $\beta_2 = 15$, $\beta_3 = 0.2$), ensilados ($\beta_1 = 210$, $\beta_2 = 20$, $\beta_3 = 0.2$), y concentrados ($\beta_1 = 302$, $\beta_2 = 16$, $\beta_3 = 0.2$). La fase lag no se consideró en el modelo debido a su significancia estadística ($P > 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta investigación se realizó para evaluar *in vitro* la combinación de dos fuentes de nitrógeno no proteico de origen pecuario combinadas con dos fuentes de carbohidratos altamente fermentables en ensilados de rastrojo. Del mismo modo, se evaluó el efecto asociativo de estos ensilados combinados con suplementos concentrados en dietas para corderos. Los resultados muestran que existe efecto asociativo positivo o negativo en la combinación de los ensilados más concentrado, en comparación al simple promedio de la producción de gas de ambos por separado. La fermentación ruminal *in vitro* de las dietas por 72 h, resultó en diferente producción de gas (mL/g MS) (Tabla 5). Los tratamientos control (UR) de las dietas

produjeron menos gas durante 72 h de incubación. Además, el balance y ajuste de nutrientes en los concentrados, propició diferencias ($P>0.05$) en el valor medio de producción de gas al término del periodo de fermentación. Asimismo, la fermentación ruminal *in vitro* de los ensilados tuvo bajo potencial de producción de gas, y fue más evidente este efecto en los tratamientos control (106.91-107.39 mL). Es de resaltar que estas variables fueron afectadas ($P<0.05$) por el efecto de tratamiento (T), tiempo de incubación (H) e interacción (T×H) durante el proceso de fermentación. La DIVMS y DIVMO de las dietas fueron afectadas por la fuente de N, mientras que, la DIVFDN fue afectada ($P<0.05$) por las fuentes de N y CH. La fuente de N y la interacción N×CH afectó ($P<0.05$) la digestibilidad de los ensilados de MS, MO

y FDN. La degradabilidad *in vitro* de la MS está relacionada con el contenido, composición y tasa de digestión de la FDN del sustrato (Schofield y Pell 1995; Wang *et al.*, 2011). La estrecha relación entre la DIVFDN y la producción total de gas se debe a la tasa de digestión de la fracción potencialmente digestible de la FDN (Huhtanen *et al.*, 2008). En esta investigación, la fermentación de las dietas (UR+MC y UR+SPP) con más de 415 g FDN/kg MS y los ensilados (UR+MC y UR+SPP) con más de 460 g FDN/kg MS fuer afectada por el mayor contenido de carbohidratos estructurales. Para componentes fenólicos, la dieta a base de CF+MC tuvo menos de 30 g lignina/kg MS; mientras que, en los ensilados PO+MC y PO+SPP el contenido de lignina fue > 59.90 g/kg MS, lo anterior debido a la inclusión de

Tabla 5. Promedio de producción de gas, asíntota máxima de producción de gas y degradabilidad *in vitro* a las 72 h post inoculación.

Tratamientos	PO		CF		UR		EEM	Efectos (P<)		
	MC	SPP	MC	SPP	MC	SPP		N	CH	N×CH
Media de producción de gas durante 72 h, mL										
Dietas ^{T, H, T×H}	151.87 ^a	140.32 ^c	153.12 ^a	148.88 ^b	114.13 ^e	127.69 ^d	1.21	0.01	0.01	0.08
Concentrados ^{T, H, T×H}	189.90 ^a	168.71 ^d	168.89 ^d	174.05 ^c	168.96 ^d	182.36 ^b	2.38	0.32	0.02	0.06
Ensilados ^{T, H, T×H}	110.63 ^c	116.44 ^a	109.44 ^d	113.22 ^b	106.91 ^e	107.39 ^e	0.65	0.01	0.02	0.10
Asíntota máxima de producción de gas, mL										
Dietas ^{T, H, T×H}	286.69 ^a	264.93 ^c	272.25 ^{bc}	265.27 ^c	243.75 ^d	260.91 ^c	2.54	0.01	0.01	0.05
Concentrados ^{T, H, T×H}	329.04 ^a	302.81 ^{cdef}	299.45 ^{def}	299.91 ^{def}	293.27 ^f	315.8 ^{abcd}	6.45	0.12	0.02	0.24
Ensilados ^{T, H, T×H}	219.20 ^{de}	233.44 ^a	215.39 ^f	228.62 ^{ab}	216.81 ^e	220.87 ^{cde}	1.94	0.01	0.01	0.01
¹ Promedio = C + E	274.12 ^a	268.12 ^{ab}	257.42 ^{ab}	264.26 ^{ab}	255.04 ^b	268.33 ^{ab}	4.64	0.03	0.26	0.11
² Efecto asociativo, %	4.26 ^a	-2.43 ^b	3.75 ^a	-0.02 ^b	-2.58 ^b	-2.44 ^b	0.24	0.17	0.05	0.40
Degradabilidad, g/kg MS										
Dietas										
DIVMS	829.71 ^a	829.32 ^a	810.58 ^{ab}	793.91 ^{abc}	770.39 ^{bc}	761.37 ^c	8.51	0.01	0.23	0.64
DIVMO	850.95 ^a	847.99 ^{ab}	835.25 ^{ab}	813.70 ^{bc}	783.35 ^c	792.17 ^c	7.40	0.01	0.09	0.46
DIVFDN	630.40 ^a	606.77 ^{ab}	605.51 ^{ab}	579.55 ^b	475.88 ^c	498.05 ^c	7.40	0.01	0.01	0.96
Ensilados										
DIVMS	746.95 ^a	733.95 ^{ab}	715.60 ^{bc}	690.88 ^{cd}	635.86 ^e	673.30 ^d	6.00	0.01	0.98	0.01
DIVMO	764.17 ^a	749.85 ^a	740.28 ^{ab}	712.39 ^{bc}	659.66 ^d	698.88 ^c	5.88	0.01	0.84	0.01
DIVFDN	490.48 ^{ab}	518.51 ^a	494.72 ^{ab}	475.88 ^{bc}	444.66 ^{cd}	419.89 ^d	9.09	0.01	0.48	0.01

PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola; MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería. EEM, error estándar de la media. T, efecto de tratamiento ($P\leq 0.05$); H, efecto de hora de medición ($P\leq 0.05$); T×H, efecto de interacción de tratamiento con hora de medición ($P\leq 0.05$). ¹Media aritmética de la sumatoria de la asíntota máxima de producción de gas *in vitro* de cada concentrado (C) y ensilado (E). ²Efecto asociativo = asíntota máxima de producción de gas *in vitro* de la dieta (D) - (C + E)/D×100. DIVMS, degradabilidad *in vitro* de la materia seca; DIVMO, degradabilidad *in vitro* de la materia orgánica; DIVFDN, degradabilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro. N, efecto de fuente de nitrógeno ($P<0.05$); CH, efecto de la fuente de carbohidratos; N×CH, efecto de interacción de la fuente de N por la fuente de CH. ^{a-e}Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes estadísticamente.

rastrajo de maíz (Tabla 4) y pollinaza en los respectivos tratamientos. La pollinaza aporta mayor contenido de carbohidratos estructurales debido a la composición de la cama (viruta de madera, paja, papel y otras fibras naturales). Cone *et al.* (1996) observaron que al aumentar el nivel de mazorca de maíz incubadas *in vitro*, la producción de gas disminuyó de 0.35 a 0.30 mL/mg MS. En ensilado de rastrojo de maíz a base de PO y CF con alto contenido de FDN (466 g/kg MS) y baja DIVMS (617 g/kg MS) se produjeron 227 mL de gas/g MS con tasa de fermentación de 0.041 h⁻¹ (Mejía-Uribe *et al.*, 2013). En esta investigación se encontraron resultados similares con el ensilado a base de PO y CF con MC o SPP para asíntota máxima de producción de gas (215.39-233.44 mL/g MS), DIVMS (>770.39 g/kg MS) con FDN > 405.90 g/kg MS y tasa de degradación fraccional > 0.11 g MS/h. Lo anterior pudo deberse al mayor aporte de minerales y factores de crecimiento bacteriano contenido en las excretas de ave y cerdo.

Las asíntotas máximas de producción de gas a las 72 h de la dieta y concentrado del tratamiento PO-MC fueron más altas ($P < 0.05$) que el resto; estos resultados se corresponden con sus pares analizados para producción de gas promedio a través de 72 h de fermentación y al menor contenido de FDN y FDA (Tabla 4). Sin embargo, hubo efectos negativos en las combinaciones del ensilado más concentrado de los tratamientos PO+SPP, CF+SPP, UR+MC y UR+SPP sobre la asíntota máxima de producción de gas. Purwin *et al.* (2009) observaron que durante el proceso de ensilaje el N es liberado y produce componentes solubles (aminoácidos, aminos y NH₄⁺); este fenómeno cambia el contenido de PC de los ensilados, pero disminuye la digestibilidad de los nutrientes debido a la formación de complejos indigestibles del N con carbohidratos (Fijałkowska *et al.*, 2015). La inclusión de urea de lenta liberación en ensilados de maíz produce 239 mL/g MS con DIVFDN de 419 g/kg MS (Sánchez-Meraz *et al.*, 2014). Pero en la combinación de niveles crecientes de urea (120-165 mg/L N) con paja de cebada, la fermentación (12-238 h) fue afectada por la fuente de N, lo que disminuye la producción de gas (223.1-226.9 mL/g MS) por efecto de la inhibición de la microbiota fibrolítica (Dryhurst y Wood, 1998). De manera similar, Trujillo *et al.* (2014) evaluaron *in vitro*, *in sacco* e *in vivo* dietas a base de ensilados de pollinaza, cerdaza fresca, urea y subproductos ricos en carbohidratos rápidamente fermentables, y encontraron que la fuente de N afectó la degradabilidad *in vitro* (g/kg MS) de FDN (420-519) y MS (760-830), así como la fracción soluble y el potencial de degradabilidad *in sacco* de la MS; sin embargo, no se observó efecto sobre la digestibilidad *in vivo* de los tratamientos. Esto sugiere que en esta investigación el N de las excretas durante y posterior al proceso de ensilaje tuvo diferente tasa de biodisponibilidad, lo que

propició la desincronización de los carbohidratos con lenta y rápida tasa de fermentación de los ensilados y las dietas.

La inclusión de SPP en los ensilados aportó mayor contenido (% MS) de FDN (14), FDA (6), LDA (0.3) y almidón (58) comparado con MC; sin embargo, SPP aportó menor cantidad de azúcares (6.5) comparado con MC (47.2) (NRC, 2007; de Blas *et al.*, 2010). Las diferencias en el tipo de carbohidratos solubles contenidos en MC o SPP puede explicar el comportamiento diferencial en los ensilados con UR. Los sustratos ricos en energía en la melaza de caña (48.8 ± 4.4% MS) son fructosa y glucosa (Mordenti *et al.*, 2021), mientras que, en los SPP son almidones, lípidos (Oda *et al.*, 1996) y sacarosa. En el metabolismo homofermentativo de las bacterias ácido lácticas, la fructosa llega en solo una reacción hasta fructosa 6-fosfato (gasto de 1 ATP) y la glucosa en dos reacciones con gasto de 1.3 ATP (Wood, 1998); sin embargo, la degradación de almidones hasta glucosa 6-fosfato requiere cinco pasos a través de enzimas de bacterias amilolíticas y bacterias ácido lácticas, lo cual implica mayor gasto de energía en forma de ATP. Lo anterior pudo afectar la producción de gas promedio y la asíntota máxima de producción de gas acumulado de los tratamientos control de los ensilados a base de UR con MC o SPP. Además, el incremento de carbohidratos estructurales, la insuficiente cantidad de elementos minerales y la ausencia de residuos de la digestión de los granos contenidos en las excretas aumentó este efecto negativo. Al respecto, en el cultivo y crecimiento de las bacterias ácido lácticas, los elementos minerales esenciales son Mg²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, Fe²⁺, Na⁺ y K⁺ (Saeed y Salam, 2013), mientras que Hg²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺ y Co²⁺ optimizan y controlan su actividad enzimática. Las dietas (ensilado más suplemento concentrado) tuvieron sustratos ricos en carbohidratos con alto potencial de fermentación, los cuales tienden a producir altas tasas de degradación fraccional, comparado con aquellos sustratos altos en contenido de fibra y que causan disminución en el pH ruminal (Tamminga *et al.*, 1990). La actividad de bacterias celulolíticas es potenciada por la biodisponibilidad de energía fermentable y N-NH₃ en rumen (Tedeschi *et al.*, 2000), lo que beneficia la degradabilidad de la MS y la producción de gas *in vitro*. Lo anterior refleja alta tasa de colonización por la microbiota ruminal sobre el sustrato, debido a un aumento en el número y adherencia a las partículas del alimento durante la fase Lag (Mc Allister *et al.*, 1994); en este tipo de dietas, este período puede extenderse de 3 a 6 h (Trujillo *et al.*, 2014). Sin embargo, en esta investigación no fue significativa la fase Lag.

En la dieta PO+MC (ambos con bajo contenido de FDN y FDA; Tabla 4) hubo un efecto asociativo que resultó en incremento de la producción de gas *in vitro*

a las 72 h post incubación; esto coincide con la producción de gas promedio durante toda la incubación. La presente investigación mostró que la dietas y ensilados a base de PO tuvieron mayor ($P < 0.05$) DIVMS, DIVMO y DIVFDN que los tratamientos control a base de UR. Asimismo, es relevante señalar que la combinación de ensilados a base de UR con MC o SPP más sus respectivos concentrados causó antagonismo entre sus componentes (Tabla 5), probablemente por el contenido (g/kg MS) de FDN (> 415.66) y FDA (> 215.89) (Tabla 4). Phesatcha y Wanapat (2016) demostraron que en sustratos con alto contenido de PC (nitrógeno soluble), la producción de gas disminuyó a pesar de tener altas tasas de degradabilidad, este comportamiento lo atribuyeron a que en la fermentación de la PC se produce más NH_4 , lo que influye en el equilibrio del tampón de carbonato por la neutralización de H^+ de los ácidos grasos volátiles (AGVs) sin la liberación de CO_2 . Esto sugiere que las diferencias entre los tratamientos con nitrógeno no proteico de las excretas y los tratamientos control (UR) resultan de la interacción de los componentes intrínsecos de las dietas (Tabla 5) e ingredientes de los ensilados con distinta biodisponibilidad de N y carbohidratos rápidamente fermentables. En esta investigación se observó que la fuente de carbohidratos fermentables aumentó ($P < 0.05$) el efecto asociativo en las dietas de los tratamientos PO+MC ($\geq 4.26\%$) y CF+MC ($\geq 3.75\%$) con degradabilidad *in vitro* ≥ 829.71 g/kg MS; sin embargo, en los tratamientos con ensilados a base de SPP y en aquellos con UR este efecto fue negativo (Tabla 5). En el ensilaje de SPP con 300 o 350 mL/kg de agua con niveles crecientes de urea (5 y 10 g/kg), se observó efecto lineal sobre la concentración de ácido láctico (17.2 vs 23.6 g/kg MS), ácidos totales (22.9 vs 31.5 g/kg MS) y en el aumento de la concentración de ácido fítico (18.5 vs 22.6 g/kg MS), pero sin diferencias en el número de bacterias ácido lácticas de $5.94 - 5.81 \log_{10} \text{cfu}^{-1} \text{MS}$ (Rezende *et al.*, 2016). El aumento del ácido fítico por efecto de la inclusión > 30 g/kg MS urea en esta investigación, pudo expresarse en los ensilados a base de SPP y por lo tanto hizo indisponible el P de los carbohidratos. Además, en los carbohidratos de los granos de cereales, el Mg^{2+} y otros cationes divalentes pueden estar quelatados por efecto del ácido fítico (Serna-Saldivar, 2010), lo que repercute en el metabolismo energético de las bacterias ácido lácticas.

El ajuste de curvas de los perfiles de producción de gas *in vitro* de dietas, concentrados y ensilados al modelo Logístico Exponencial permitió obtener estimaciones ($P < 0.01$) para β_1 , β_2 , β_3 , así como para los intervalos de cada parámetro (Tabla 6, 7 y 8). Las estimaciones β_1 de las dietas (Tabla 6) estuvieron dentro o cerca de los límites inferior y máximo estimados. Esto indica que las dietas a base de este tipo de ensilados tienen un

límite sobre el potencial de fermentación en rumen, y que en diversas condiciones de alimentación de pequeños rumiantes puede fluctuar entre dicho intervalo. En la evaluación de tratamientos similares realizados por Trujillo *et al.* (2014) y Mejía-Urbe *et al.* (2013) observaron similitudes a nuestros hallazgos para asíntota máxima de producción de gas en dietas (265 a 288 mL/g MS) y ensilados (200 a 248 mL/g MS), respectivamente; pero en ambos estudios la tasa de fermentación fue distinta.

Tabla 6. Ajuste del modelo de crecimiento Logístico a la producción de gas *in vitro* de las dietas.

Tratamientos y parámetros	Estimador	EEM	Límites	
			Inferior	Superior
PO + MC				
β_1 , mL/g MS	273.65	5.59	260.42	286.87
β_2 , h	19.82	1.14	17.131	22.52
β_3 , g MS/h	0.128	0.003	0.121	0.135
PO + SPP				
β_1 , mL/g MS	251.6	5.11	239.5	263.69
β_2 , h	18.55	1.094	15.965	21.14
β_3 , g MS/h	0.123	0.003	0.115	0.13
CF + MC				
β_1 , mL/g MS	254.92	2.39	249.26	260.57
β_2 , h	15.14	1.000	12.776	17.50
β_3 , g MS/h	0.133	0.004	0.123	0.142
CF + SPP				
β_1 , mL/g MS	252.30	5.16	240.09	264.51
β_2 , h	14.32	0.912	12.17	16.48
β_3 , g MS/h	0.125	0.003	0.116	0.134
UR + MC				
β_1 , mL/g MS	251.82	5.67	238.34	265.30
β_2 , h	19.61	1.631	15.75	23.47
β_3 , g MS/h	0.106	0.002	0.10	0.112
UR + SPP				
β_1 , mL/g MS	251.58	2.79	244.97	258.18
β_2 , h	19.52	1.52	15.917	23.13
β_3 , g MS/h	0.106	0.002	0.10	0.112

La nomenclatura de los tratamientos se conformó por la combinación de las fuentes de nitrógeno (N) y carbohidratos (CH) [N + CH]. Fuentes de nitrógeno (PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola), fuentes de carbohidratos (MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería). β_1 (Asíntota máxima de gas acumulado); β_2 ($Y_{\text{max}}/2$, punto de inflexión de la curva); β_3 (tasa fraccional de degradación). EEM, error estándar de la media.

Tabla 7. Ajuste del modelo de crecimiento Logístico a la producción de gas *in vitro* de los concentrados.

Tratamientos y parámetros	Estimador	EEM	Límites	
			Inferior	Superior
PO + MC				
β_1 , mL/g MS	297.86	6.632	279.45	316.28
β_2 , h	17.94	1.39	14.07	21.78
β_3 , g MS/h	0.152	0.004	0.14	0.17
PO + SPP				
β_1 , mL/g MS	276.53	6.38	261.44	291.61
β_2 , h	20.83	1.71	16.78	24.89
β_3 , g MS/h	0.138	0.003	0.13	0.15
CF + MC				
β_1 , mL/g MS	265.96	9.12	244.40	287.52
β_2 , h	21.95	2.028	17.149	26.74
β_3 , g MS/h	0.142	0.003	0.13	0.15
CF + SPP				
β_1 , mL/g MS	279.2	9.765	255.31	303.1
β_2 , h	16.81	1.803	12.39	21.22
β_3 , g MS/h	0.139	0.004	0.128	0.149
UR + MC				
β_1 , mL/g MS	267.29	7.66	248.55	286.02
β_2 , h	16.85	1.14	14.05	19.65
β_3 , g MS/h	0.143	0.003	0.134	0.152
UR + SPP				
β_1 , mL/g MS	285.04	3.79	277.08	295.01
β_2 , h	27.70	2.84	20.99	34.42
β_3 , g MS/h	0.161	0.004	0.15	0.172

La nomenclatura de los tratamientos se conformó por la combinación de las fuentes de nitrógeno (N) y carbohidratos (CH) [N + CH]. Fuentes de nitrógeno (PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola), fuentes de carbohidratos (MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería). β_1 (Asíntota máxima de gas acumulado); β_2 ($Y_{max}/2$, punto de inflexión de la curva); β_3 (tasa fraccional de degradación). EEM, error estándar de la media.

El ajuste de la producción de gas de los concentrados evidenció S^2_{u1} , S^2_{u2} significativa ($P < 0.05$) entre sujetos aleatorios lo cual repercutió en distinta magnitud de β_1 y β_2 (Tabla 7). Asimismo, hubo una fuerte Cu_{12} negativa ($P < 0.1$) y esto implicó que a medida que es alcanzada β_2 , β_1 se ralentiza; lo cual resulta de la utilización inicial y agotamiento final de las fracciones rápidamente fermentables del sustrato.

Tabla 8. Ajuste al modelo de crecimiento Logístico de la producción de gas *in vitro* de los ensilados.

Tratamientos y parámetros	Estimador	EEM	Límites	
			Inferior	Superior
PO + MC				
β_1 , mL/g MS	209.95	2.454	203.92	215.97
β_2 , h	19.87	0.813	17.95	21.79
β_3 , g MS/h	0.113	0.001	0.109	0.117
PO + SPP				
β_1 , mL/g MS	222.58	4.041	213.03	232.14
β_2 , h	20.79	0.88	18.72	22.87
β_3 , g MS/h	0.114	0.001	0.109	0.118
CF + MC				
β_1 , mL/g MS	206.8	7.08	189.47	224.14
β_2 , h	17.25	0.808	15.27	19.22
β_3 , g MS/h	0.11	0.002	0.105	0.115
CF + SPP				
β_1 , mL/g MS	216.76	1.437	213.24	220.28
β_2 , h	17.12	0.753	15.28	18.96
β_3 , g MS/h	0.104	0.002	0.099	0.109
UR + MC				
β_1 , mL/g MS	216.11	1.431	212.43	219.79
β_2 , h	18.41	0.67	16.69	20.13
β_3 , g MS/h	0.103	0.001	0.099	0.107
UR + SPP				
β_1 , mL/g MS	213.21	1.67	209.26	217.16
β_2 , h	18.02	1.102	15.412	20.63
β_3 , g MS/h	0.102	0.001	0.097	0.106

La nomenclatura de los tratamientos se conformó por la combinación de las fuentes de nitrógeno (N) y carbohidratos (CH) [N + CH]. Fuentes de nitrógeno (PO, pollinaza deshidratada; CF, cerdaza fresca; UR, urea agrícola), fuentes de carbohidratos (MC, melaza de caña; SPP, subproducto de panadería). β_1 (Asíntota máxima de gas acumulado); β_2 ($Y_{max}/2$, punto de inflexión de la curva); β_3 (tasa fraccional de degradación). EEM, error estándar de la media.

El ajuste de las curvas de producción de gas al modelo Logístico de las dietas y ensilados determinó que la varianza S^2_{u1} , S^2_{u2} y la covarianza (Cu_{12}) no fue significativa ($P > 0.05$), lo que indica ausencia de variabilidad entre sujetos aleatorios, e implica similar aporte de nutrientes destinados al crecimiento bacteriano en la degradación y fermentación *in vitro*. Un fundamento del modelo Logístico Exponencial es el constante crecimiento microbiano a través de todo el período de incubación (France *et al.*, 2000). La descripción y ajuste de la cinética de producción de gas, a partir de parámetros aleatorios con

procedimientos mixtos no lineales, permite describir relaciones complejas entre variables (France y Kebreab, 2008) y generalizar resultados a la población (Gaccione, 1998).

La magnitud del ajuste de la fermentación *in vitro* determinó que el efecto asociativo de los carbohidratos fermentables y nitrógeno no proteico fueron suficientes para el crecimiento constante de la microbiota ruminal en la dieta con ensilados a base de PO+MC, pero insuficientes en dietas con UR. Esto concuerda con la descripción sigmoideal de la curva, que indica un incremento inicial en la tasa de producción de gas, alcance de la tasa máxima de degradación con máximo crecimiento microbiano ($Y_{max}/2$) y una eventual disminución, lo cual sugiere una estrecha relación con un incremento acelerado en la actividad microbiana durante los estados iniciales de la incubación (Wang *et al.*, 2011) y la cantidad de sustrato inoculado (Cone *et al.*, 1996). Por lo tanto, el contenido de N y la composición química del sustrato influyen en la producción de gas y en la degradabilidad *in vitro* del fluido ruminal. En la evaluación de este tipo de alimentos se requiere la descripción del perfil de ácidos grasos volátiles para determinar la relación de estos con la degradabilidad de la FDN y las fuentes de carbohidratos rápidamente fermentables. Asimismo, se requieren estudios en esta área para el contraste de resultados. Los ensilados a base de excretas de ave con rastrojo de maíz, adicionadas con carbohidratos rápidamente fermentables de melaza de caña proveen el nitrógeno y la energía requerida en el proceso de ensilaje, lo que aumentó la degradabilidad de sus nutrientes en la fermentación *in vitro*. Además, la inclusión de ensilados a base de melaza de caña, pollinaza deshidratada y rastrojo de maíz en dietas para corderos produce un efecto asociativo entre los componentes del ensilado y del suplemento concentrado con distinta tasa de degradación y potencial de fermentación.

CONCLUSIONES

La mayor producción acumulada de gas y degradabilidad *in vitro* de la dieta PO+MC fue el resultado del efecto asociativo de sus nutrientes por efecto de la fuente de carbohidratos. Las dietas y ensilajes basados en urea agrícola y subproductos ricos en carbohidratos tienen un mayor potencial de fermentación, pero son afectados por la baja disponibilidad de nutrientes y la alta solubilidad del nitrógeno no proteico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma del Estado de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, especialmente al Departamento de Nutrición y Producción Animal, por

las facilidades instrumentales y el apoyo en esta investigación.

Funding. This research was carried out thanks to the financing of the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) of a Postdoctoral Research Scholarship to Daniel Trujillo Gutiérrez.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest regarding this manuscript.

Compliance with ethical standards. This research with *in vitro* methodology did not require experimentation with animals. However, ruminal fluid was extracted from cows with a ruminal cannula. These animals received care according to the protocols of the Bioethics and Animal Welfare Committee of the of Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Autónoma del Estado de México.

Data availability. Data are availability with D. Trujillo Gutiérrez danielgtg_dan@yahoo.es, upon reasonable request.

Author contribution statement (CRediT). S.S. González-Muñoz – conceptualization, supervision, drafting, revision and edition, I.A. Domínguez-Vara – methodology, conceptualization, J.L. Bórquez-Gastelum – formal analysis, supervision, validation, J.M. Pinos-Rodríguez – supervision and validation, J.E. Ramírez-Bribiesca – supervision and validation, D. Trujillo-Gutiérrez – investigation, formal analysis, writing – original draft, writing – review & editing.

REFERENCIAS

- AOAC., 1997. *Official Methods of Analysis* (16th ed), Vol. 1. Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Bolan, N.S., Szogi, A.A., Chuasavathi, T., Seshadri, B., Rothrock, M.J. and Panneerselvam, P., 2010. Uses and management of poultry litter. *World's Poultry Science Journal*, 66, pp. 673-698.
<https://doi.org/10.1017/S0043933910000656>
- Bórquez, J.L., González-Muñoz, S.S., Pinos-Rodríguez, J.M., Domínguez, I., Bárcena, J.R., Mendoza, G.D., Cobos, M.A. and Bueno, G., 2009. Feeding value of ensiling fresh cattle manure with molasses or bakery byproducts in lambs. *Livestock Science*, 122, pp. 276-280.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.09.009>

- Bórquez-Gastelum, J.L., Trujillo-Gutiérrez, D., Domínguez-Vara, I.A., Pinos-Rodríguez, J.M. and Cobos-Peralta, M.A., 2018. Yield performance of growing lambs fed silages with poultry litter, pig excreta and urea with molasses cane or a bakery by-product. *Agrociencia*, 52, pp. 333-346.
- Chaudhry, S.M., Naseer, Z. and Alkraidees, M.S., 1997. Nutritive evaluation of poultry waste and Sudex grass silage for sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 10 pp. 79-85. <https://doi.org/10.5713/ajas.1997.79>
- Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Visscher, G.J.W. and Oudshoorn, L., 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science and Technology*, 61, pp. 113-128. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(96\)00950-9](https://doi.org/10.1016/0377-8401(96)00950-9)
- de Blas, A., Mateos, G.G. and García-Rebollar, P., 2010. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. 3ra ed. Madrid, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
- Dhanao, M.S., Lopez, S., Dijkstra, J., Davies, D.R., Sanderson, R., Williams, B.A., Sileshi, Z. and France, J., 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: comparison of models. *British Journal of Nutrition*, 83, pp1 31-142. <https://doi.org/10.1017/S0007114500000179>
- Dryhurst, N. and Wood, C.D., 1998. The effect of nitrogen source and concentration on *in vitro* gas production using rumen micro-organisms. *Animal Feed Science and Technology*, 71, pp. 131-143. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00124-7)
- Figueroa, V., Sánchez, M. 1997. *Tratamiento y utilización de residuos de origen animal, pesquero y alimenticio en la alimentación animal*. Roma, Italia: FAO.
- Fijałkowska, M., Pysera, B., Lipiński, K. and Strusińska, D., 2015. Changes of nitrogen compounds during ensiling of high protein herbages – a review. *Annals of Animal Science*, 15, pp. 289–305. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0008>
- France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Lopez, S. and Bannink, A., 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical consideration. *British Journal of Nutrition*, 83, pp. 143-150. <https://doi.org/10.1017/S0007114500000180>
- France, J. and Kebreab, E., 2008. *Mathematical modelling in animal nutrition*. Oxfordshire, UK: CAB International.
- Gaccione, P., 1998. Nonlinear mixed effects models, a tool for analyzing repeated-measurements. A brief tutorial using SAS software. In: L. Jansen, ed. SUGI 23 1998. Proceedings of the Twenty Third Annual, Nashville, TN, USA: SAS® Users Group International. pp. 1-7.
- Gandarillas, M., Keim, J.P. and Gapp, E.M., 2021. Associative effects between forages and concentrates on *in vitro* fermentation of working equine diets. *Animals (Basel)*, 11(8), 2212. <https://doi.org/10.3390/ani11082212>
- Huhtanen, P., Seppala, A., Ots, M., Ahvenjarvi, S. and Rinne, M., 2008. *In vitro* gas production profiles to estimate extent and effective first-order rate of neutral detergent fiber digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, 86, pp. 651-659. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0246>
- Huisden, C.M., Adesogan, A.T., Kim, S.C. and Ososanya, T., 2009. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 92, pp. 690-697. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1546>
- Jayathilakan, H., Sultana, K., Radhakrishna, K. and Bawa, A.S., 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, pp. 278–293. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0290-7>
- Keady, T.W.J., 1996. A review of the effects of molasses treatment of unwilted grass at ensiling on silage fermentation, digestibility and intake, and on animal performance. *Irish*

- Journal of Agricultural and Food Research*, pp. 141-150. <http://www.jstor.org/stable/25562278>. Accessed 13 Jun. 2022.
- Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D. and Schabenberger, O., 2006. *SAS® for mixed models*, 2nd ed. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- López-Garrido, S.J., Cobos, P.M.A., Mendoza, M.D.D. and Camacho-Escobar, M.A., 2014. The effect of commercial additive (Toxic-Chec) and propionic acid on the fermentation and aerobic stability of silage with pig excreta. *American Journal of Experimental Agriculture*, 4, pp. 1820-1831. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2014/12035>
- Manyi-Loh, C.E., Mamphweli S.N., Meyer, E.L., Makaka, G., Simon, M. and Okoh, A.I., 2016. An overview of control of bacterial pathogens on cattle manure. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13, pp. 843. <https://doi.org/10.3390/ijerph13090843>
- Mejía-Urbe, L.A., Borquez, J.L., Salem, A.Z.M., Domínguez-Vara, I.A. and Gonzalez-Ronquillo, M., 2013. Short communication. Effects of adding different protein and carbohydrates sources on chemical composition and *in vitro* gas production of corn stover silage. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11, pp. 427-430. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013112-3547>
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 93, pp. 217-222. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086305>
- Mordenti, A.L., Giaretta, E., Campidonico, L., Parazza, P. and Formigoni, A., 2021. A review regarding the use of molasses in animal nutrition. *Animals*, 11(1), 115. <https://doi.org/doi.org/10.3390/ani11010115>
- Nousiainen, J., Ahvenjärvi, S., Rinne, M., Hellämäki, M. and Huhtanen, P., 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 115, pp. 295-311. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.03.004>
- NRC (National Research Council), 2007. *Nutrient requirements of small ruminants (sheep, goats, cervids and new world camelids)*. Washington, DC: National Academy Press.
- Olivo, P.M., dos Santos, G.T., Ítavo, L.C.V., da Silva Junior, R.C., Leal, E.S. and do Prado, R.M., 2017. Assessing the nutritional value of agroindustrial co-products and feed through chemical composition, *in vitro* digestibility, and gas production technique. *Acta Scientiarum*, 39, pp. 289-295. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.34024>
- Phesatcha, K. and Wanapat, M., 2016. Improvement of nutritive value and *in vitro* ruminal fermentation of *Leucaena* silage by molasses and urea supplementation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 29, pp. 1136-1144. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0591>
- Purwin, C., Pysera, B., Tokarczyk, M., Sederevicius, A., Savickis, S. and Traidaraitė, A., 2009. Production results of dairy cows fed grass and alfalfa silage with a different degree of wilting. *Veterinarija ir Zootechnika. Med. Zootec*, 46, pp. 60-66.
- Rezende, Vilela de, A., Rabelo S.C.H., Sampaio L. de M., Härter, C.J., Florentino, L.A., Paula, D.W. and Braga, T.C., 2016. Ensiling a dry bakery by-product: effect of hydration using acid whey or water associated or not at urea. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402016000400007>
- Rosales, M., Gill, M., Wood, C.D. and Speedy, A.W., 1998., Associative effects *in vitro* of mixtures of tropical fodder trees. *BSAP Occasional Publication*, 22, pp. 175-177. <https://doi.org/10.1017/S0263967X0003250X>
- Saeed, A.H. and Salam, A.I. 2013., Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 4, pp. 73-87. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.411A010>
- Salem, A.Z.M., Zhou, C.S., Tan, Z.L., Mellado, M., Salazar, M.C., Elghandopur, M.M.M.Y. and Odongo, N.E., 2013. *In vitro* ruminal gas production kinetics of four fodder trees

- ensiled with or without molasses and urea. *Journal of Integrative Agriculture*, 12, pp. 1234-1242. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60438-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60438-4)
- Sánchez-Meraz, J.A., González-Muñoz, S.S., Pinos-Rodríguez, J.M., López-Hernández, Y. and Miranda, L.A., 2014. Effects of slow-release urea on *in vitro* degradation of forages. *Journal of Animal and Plant Science*, 24 pp. 1840-1843. WOS:000347168800037
- SAS Institute Inc., 2004. *SAS/STAT® 9.1 User's Guide*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Serna-Saldivar, S.O., 2010. *Cereal Grains: properties, processing, and nutritional attributes*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC.
- Shaver, R.D., Erdman, R.A. and Vadersall, J.H., 1984. Effects of silage pH on voluntary intake of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 67, pp. 2045-2049. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81542-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81542-8)
- Serrano-García, E., Castrejón-Pineda, F., Herradora-Lozano, M.A., Ramírez-pérez, A.H., Angeles-Campos, S. and Buntinx, S.E., 2008. Fungal survival in ensiled swine faeces. *Bioresource Technology*, 99, pp. 3850-3854. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.050>
- Schofield, P. and Pell, A.N., 1995. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *Journal of Animal Science*, 73, pp. 3455-3463. <https://doi.org/10.2527/1995.73113455x>
- Seok, J.S., Kim, Y.I., Choi, D.Y. and Kwak, W.S., 2016. Effect of feeding a by-product feed-based silage on nutrients intake, apparent digestibility, and nitrogen balance in sheep. *Journal of Animal Science and Technology*, 58, pp. 1-5. <https://doi.org/10.1186/s40781-016-0091-7>
- Tamminga, S., Van Vuuren, A.M., Van der Koelen, C.J., Ketelaar, R.S. and Van der Togt, P.L., 1990. Ruminal behavior of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38, pp. 513-526. <https://doi.org/10.18174/njas.v38i3B.16575>
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G. and Russell, J.B., 2000. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. *Journal of Animal Science*, 78, pp. 1648-1658. <https://doi.org/10.2527/2000.7861648x>
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, pp. 185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Trujillo, G.D., Bórquez, G.J.L., Pinos-Rodríguez, J.M., Domínguez-Vara, I.A. and Rojo, R.R., 2014. Nutritive value of ensiled pig excreta, poultry litter or urea with molasses or bakery by-products in diets for lambs. *South African Journal of Animal Science*, 44, 114-122. <https://doi.org/10.4314/sajas.v44i2.3>
- Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, Cornell, USA: Cornell University.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, pp. 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Wang, M., Tang, S.X. and Tan, Z.L., 2011. Modeling *in vitro* gas production kinetics: derivation of Logistic-Exponential (LE) equations and comparison of models. *Animal Feed Science and Technology*, 165, pp. 137-150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.09.016>
- Wood, B.J., 1998. *Microbiology of fermented foods*. London, UK: Thomson Science.