



CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD, QUÍMICAS Y FERMENTATIVAS *in vitro* DE ENSILADOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L) DE DESECHO Y HENO DE PASTO ESTRELLA (*Cynodon nlemfluensis*) †

[QUALITY, CHEMICAL AND FERMENTATIVE CHARACTERISTICS *in vitro* OF ENSILAGE WASTE PAPAYA (*Carica papaya* L) AND STAR (*Cynodon nlemfluensis*) GRASS HAY]

**Paulino Sánchez-Santillán¹, Luis Alberto Soriano-Marcial²,
Luis Antonio Saavedra-Jiménez¹ and Nicolás Torres-Salado^{1*}**

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero. C.P. 41940. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. E-mails: sanchezsantillanp@gmail.com, 19188@uagro.mx, nivigas@yahoo.com.mx

²Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guerrero. C.P. 41940. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. E-mails: soriano_pumas03@hotmail.com

*Corresponding author

SUMMARY

Background. Ripe papaya that does not meet standards for human consumption has the potential to be ensiled with star grass as a moisture absorber, which has the potential as an unconventional ruminant feed. **Objective.** To determine the quality, nutritional, and *in vitro* fermentative characteristics of silages made with milled ripe papaya (*Carica papaya* L) and star (*Cynodon nlemfluensis*) grass hay as moisture absorber, adding three levels of molasses during 21 and 28 days of lactic fermentation. **Methodology.** The silos (1.5 Kg) were made with 75% ripe papaya, 25% star grass hay, added with 2% urea and 0, 3 and 6% cane molasses; the silos were fermented for 21 and 28 d. The quality characteristics (pH, lactic acid (LA), ammonia nitrogen (N-NH₃) and dry matter (DM)), chemical characteristics (crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and ashes (As)) and *in vitro* fermentation (partial and accumulated production of biogas and methane (CH₄), degradation of dry matter (DDM) and degradation of neutral detergent fiber (DNDF) were evaluated). The statistical analysis was a 3x2 factorial arrangement within a completely randomized design, using level of molasses addition and fermentation time as factors. **Results.** pH, LA, CP and partial biogas at 24 and 48 h showed interaction between factors (p<0.05). Silages with 0% molasses showed lower content of DM, As, accumulated biogas, partial CH₄ at 24 h, DDM; as well as, higher NDF, partial CH₄ at 72 h. The silages with 6% molasses presented higher DM, As, partial CH₄ at 24 h, accumulated CH₄ and DDM; in addition, lower NDF, ADF, partial CH₄ at 72 h. Silages with 21 d had lower N-NH₃, NDF, Ce, Biogas and accumulated CH₄, partial CH₄ at 24 h and 72 h than at 28 d (p<0.05). The highest pH value was in silages with 28 d and 6% molasses and the highest LA in 28 d silages with 0% molasses (p<0.05). **Implications.** Ripe papaya silage does not require cane molasses as an additive; there is no effect on the opening of the silos at 21 or 28 d of lactic fermentation. **Conclusion.** Silage made with ripe papaya and star grass hay as moisture absorber, with urea does not require sugar cane molasses as an additive to maintain its quality, chemical and *in vitro* fermentation characteristics, which allows inferring that it is an unconventional alternative in the feeding of ruminants.

Keywords: silage; ripe papaya; star grass; ruminants.

RESUMEN

Antecedentes. La papaya de desecho que no cumple con los estándares para consumo humano tiene el potencial para ensilarse con pasto estrella como absorbedor de humedad, el cual tiene el potencial como un alimento no convencional para rumiantes. **Objetivo.** Determinar las características de calidad, nutritivas y fermentativas *in vitro* de ensilados elaborados con papaya (*Carica papaya* L) de desecho molida y heno de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*) como absorbedor de humedad adicionando tres niveles de melaza durante 21 y 28 días de fermentación láctica a nivel de laboratorio. **Metodología.** Los silos (1.5 Kg) se elaboraron con 75% de papaya madura, 25% de heno de pasto estrella, adicionados con 2% de urea y 0, 3 y 6% de melaza de caña; los silos se fermentaron durante 21 y 28 d. Se evaluaron las características de calidad (pH, ácido láctico (AL), nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y materia seca (MS)), químicas (proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y cenizas (Ce)) y fermentativas *in vitro* (producción parcial y acumulado de biogás y metano (CH₄), degradación de materia seca (DMS) y degradación de fibra detergente neutro (DFDN)). El análisis estadístico fue un arreglo factorial 3x2 dentro de un diseño

† Submitted June 25, 2021 – Accepted September 21, 2021. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.
ISSN: 1870-0462.

completamente al azar, usando nivel de adición de melaza y tiempo de fermentación como factores. **Resultados.** pH, AL, PC y biogás parcial a 24 y 48 h presentaron interacción entre factores ($p < 0.05$). Los ensilados con 0% de melaza mostraron menor contenido de MS, Ce, biogás acumulado, CH₄ parcial a 24 h, DMS; así como, mayor FDN, CH₄ parcial a 72 h. Los ensilados con 6% de melaza presentaron mayor MS, Ce, CH₄ parcial a 24 h, CH₄ acumulado y DMS; además, menor FDN, FDA, CH₄ parcial a 72 h. Los ensilados con 21 d presentaron menor N-NH₃, FDN, Ce, Biogás y CH₄ acumulado, CH₄ parcial a 24 h y 72 h que a los 28 d ($p < 0.05$). El mayor valor de pH fue en ensilados con 28 d y 6% de melaza y mayor AL en ensilados de 28 d con 0% melaza ($p < 0.05$). **Implicaciones.** Los ensilados de papaya de desecho no requieren de melaza de caña como aditivo; no hay efecto en la apertura de los silos a los 21 o 28 d de fermentación láctica. **Conclusión.** El ensilado elaborado con papaya de desecho, heno de pasto estrella como absorbedor de humedad y urea no requiere melaza de caña de azúcar como aditivo para mantener sus características de calidad, químicas y fermentativas *in vitro*, lo que permite inferir que sea una alternativa no convencional en la alimentación de rumiantes.

Palabras clave: ensilado; papaya madura; pasto estrella; rumiantes.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, cada año se pierde un tercio de la producción de alimentos destinados al consumo humano (Cañaverall-Martínez et al., 2020). Además, en países en desarrollo, las pérdidas postcosecha de fruta fresca se estiman entre 20 y 50% (Gomes et al., 2011). La papaya (*Carica papaya* L.) es una fruta tropical originaria de América Central y tiene alta digestibilidad por la enzima papaína que contiene, la cual hidroliza proteínas, pectinas, ciertos azúcares y grasas (Vázquez-García et al., 2010). La papaya es la tercera fruta tropical con mayor consumo a nivel mundial, siendo la variedad Maradol la de mayor importancia. Los estados con mayor producción son Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Colima, Guerrero y Michoacán con 79% del volumen total (Granados et al., 2015). México es uno de los principales productores y exportadores de papaya Maradol, exportando principalmente a los mercados de Estados Unidos de América y Canadá (Opportimes, 2021). Los desechos de su postcosecha se pueden considerar como productos con potencial para ensilar (Sánchez-Santillán et al., 2020).

La utilización de subproductos agroindustriales en la alimentación animal mediante ensilados son una oportunidad viable en el trópico; ya que mantiene o incrementa la calidad nutritiva del producto a ensilar y disminuye costos de producción debido al aprovechamiento de los residuos agroindustriales (Guzmán et al., 2012); evitando un grave problema de contaminación porque se descomponen naturalmente en los campos o se queman (Sánchez-Santillán et al., 2020). La fermentación de un ensilado requiere condiciones de anaerobiosis para que bacterias epífitas fermenten los carbohidratos solubles en ácido láctico y ácido acético. Estos ácidos propician que el pH del ensilado baje entre 3.8 y 5.0; valores que indican una estabilidad del ensilado porque inhiben el crecimiento de microorganismos que inducen la putrefacción (Stefanie et al., 1999); además, permite conservar los nutrientes del material ensilado (Lorenzo-Hernández et al., 2019).

El uso de aditivos en el proceso de ensilaje favorece la fermentación y aumenta su valor nutricional (Valencia et al., 2011). Por ejemplo, la melaza de caña de azúcar se usa como fuente de carbohidratos y su adición puede ser hasta 6%, pero por su viscosidad se diluye en pequeñas cantidades de agua (Méndez-Ardón, 2005), mientras, la urea agrícola se usa como fuente de nitrógeno no proteico para mejorar el contenido de nitrógeno de los ensilados (Lorenzo-Hernández et al., 2019). La hipótesis fue que la adición de melaza de caña de azúcar a ensilados de papaya de desecho con pasto estrella mejora el contenido de carbohidratos fermentables durante el proceso de fermentación láctica. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar las características de calidad, nutritivas y fermentativas *in vitro* de ensilados elaborados con papaya de desecho molida y heno de pasto estrella como absorbedor de humedad adicionando tres niveles de melaza durante 21 y 28 días de fermentación láctica para estimar el tiempo mínimo requerido; esto como una alternativa de producción de alimento no convencional para rumiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, ubicada en la cabecera municipal de Cuajinicuilapa, Guerrero, México. Geográficamente situado a 16° 08' Latitud Norte y 98° 23' de Longitud Oeste, a una altitud de 50 msnm, predominando un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, con precipitación media anual de 1,200 mm y una temperatura media anual de 25 °C.

Silos

Los ingredientes en base húmeda para elaborar los silos fueron papaya (*Carica papaya* L.) que no cumplía con los requerimientos para consumo humano; heno de pasto estrella (*Cynodon nlemfluentis*) cosechado y empacado a los 150 d de rebrote para que actúe como un absorbedor del exceso de humedad de la papaya; urea y melaza de caña de azúcar como aditivos. La

Tabla 1. Análisis químico de la papaya de desecho y heno de pasto estrella.

Ingrediente	MS (g Kg ⁻¹)	MO (g Kg ⁻¹ MS)	PC (g Kg ⁻¹ MS)	FDN (g Kg ⁻¹ MS)	FDA (g Kg ⁻¹ MS)	Ce (g Kg ⁻¹ MS)
Papaya desecho	123.9	929.5	93.3	125.6	87.2	70.5
Pasto estrella	991.6	936.3	36.5	791.6	427.9	63.7

MS = materia seca, MO = materia orgánica, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, Ce = cenizas.

composición nutritiva de la papaya y heno de pasto estrella se presenta en la Tabla 1. La papaya de desecho y el heno de pasto estrella se molieron en un molino mixto (M.A.GRO® TR-3500, México) con una criba de 2.54 cm de diámetro. La base de los silos (1.5 Kg) se compuso con 75% de papaya de desecho y 25% de heno de pasto estrella, al que se añadió 2% de urea y 0, 3 y 6% de melaza de caña de azúcar.

Los silos se elaboraron en bolsas de propileno (40 x 40 cm) y el aire se extrajo con una aspiradora (Koblenz®, España) para proporcionar las condiciones de anaerobiosis requeridas para iniciar el proceso de fermentación. Las bolsas se cerraron con rafia para mantener condiciones de anaerobiosis y se fermentaron durante 21 y 28 días (5 repeticiones independientes por interacción) en una galera con temperatura ambiente promedio de 28.4 °C para estimar el tiempo mínimo requerido para alcanzar la fase estacionaria de los ensilados.

Análisis de calidad de los ensilados

Al finalizar cada tiempo de fermentación se realizaron análisis para determinar la calidad de los ensilados (5 repeticiones independientes por interacción). El contenido de MS (método 930.15) se estimó según lo descrito por la AOAC (2005). Para determinar pH, en un vaso de precipitados de 100 mL (Kimax®) se colocaron 25 g de ensilado y se agregaron 100 mL de agua destilada. El contenido se agitó cada 15 min durante 1 h; luego se filtró con una gasa doble y se depositó en un vaso de precipitados (10 mL) para medir pH con un potenciómetro (Hanna® HI2211, Italia; calibración pH 7 y 4).

El ácido láctico se determinó con la metodología de Kimberley y Taylor (1996). En un vaso de precipitados (Kimax®, 100 mL) se colocaron 30 g de un ensilado y 150 mL de HCl (Meyer®) a 1 %. El vaso de precipitados se mantuvo en refrigeración a 4 °C por 24 h; posteriormente, el contenido del vaso de precipitados se filtró con una gasa doble y 1 mL del filtrado se colocó en un tubo Eppendorf de 2 mL (Neptune®, México) con 0.25 mL de ácido metafosfórico al 25% (Meyer®). La muestra se diluyó (1:50) con agua destilada; 0.5 mL se mezclaron con 3 mL de H₂SO₄ (Baker®, 97.3%) en un tubo de ensayo (Kimax®, 18 x 150 mm) y se incubaron 10 min a 100

°C en una estufa (Riossa® HCF-41, México). Cuando la temperatura se redujo a 25 °C, se adicionaron 50 µL de CuSO₄·5H₂O (Merk®, 4%) y 100 µL de p-hidroxidifenil (Sigma-Aldrich®, 1.5%) e inmediatamente se mezclaron en un vórtex (Genie 2®, Daigger, USA). Las muestras reposaron 30 min y se midió la absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Jenway® 6850 UV, Reino Unido). Para la curva estándar se preparó una solución de lactato de litio 0.1 % [538.6 mg de lactato de litio (Sigma-Aldrich®) en 500 mL de agua destilada].

El nitrógeno amoniacal se determinó al colocar 20 g de ensilado y 80 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 100 mL (Kimax®). El contenido se agitó cada 15 min durante 1 h; luego se filtró con una gasa doble. El filtrado se centrifugó en una centrifuga (Cence® H1650R, China) 10 min a 2100 x g. El nitrógeno de 10 mL del sobrenadante se destiló en un destilador (Tecnal® TE-0363, Brasil). El nitrógeno destilado se neutralizó en un matraz Erlenmeyer (50 mL; Pyrex®) con 6 mL de solución de ácido bórico (99.8%; J. T. Baker®) al 4%. El nitrógeno destilado se tituló con HCl al 0.099 N (J. T. Baker®). El porcentaje de nitrógeno amoniacal (% N-NH₃) se obtuvo con la siguiente formula % N-NH₃ = (mL HCl) (normalidad del HCl) (1.40) / g muestra seca). El contenido de N-NH₃ se calculó como el porcentaje de N-NH₃ respecto al nitrógeno total.

Análisis químico de los ensilados

Los tratamientos se deshidrataron en una estufa (Riossa® HCF-41, México) a 60 °C por 72 h (5 repeticiones independientes por interacción). Los ensilados se molieron con una criba de 1 mm en un molino Thomas-Wiley Mill (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA). En los ensilados se determinó el contenido de proteína cruda (PC, método 920.105), cenizas (Ce, método 942.05) con los procedimientos descritos por la AOAC (2005). La materia orgánica (MO) se estimó al restar a 100 el valor de Ce. La fibra detergente neutro (FDN) y la fibra detergente ácido (FDA) se determinaron con el método descrito por van Soest et al. (1991). La hemicelulosa se calculó por diferencia entre FDN y FDA.

Ensayo *in vitro*

El medio de cultivo contenía 30 mL de fluido ruminal clarificado [líquido ruminal bovino fresco centrifugado 10 min a $12,857 \times g$ y esterilizado (All American® 1941X, USA) 15 min a 121°C y 15 psi], 5 mL de solución mineral I [6 g K_2HPO_4 (Sigma-Aldrich®) en 1000 mL de agua destilada], 5 mL de solución mineral II [6 g KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich®) + 6 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Merck®) + 12 g NaCl (Sigma-Aldrich®) + 2.45 g MgSO_4 (Sigma-Aldrich®) + 1.6 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich®) en 1000 mL de agua destilada], 0.1 mL de resazurina a 0.1% (Sigma-Aldrich®), 0.2 g de peptona de soya (Merck®), 0.1 g de extracto de levadura (Sigma-Aldrich®), 4 mL de solución cisteína-sulfido [2.5 g L-cisteína (Sigma-Aldrich®) a pH 10 con 2N NaOH (Meyer®) + 2.5 g de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Merck®) aforado en 100 mL de agua destilada], 5 mL de solución a 8% de Na_2CO_3 (Merck®) y 52.6 mL de agua destilada (Texta *et al.*, 2019; Torres-Salado *et al.*, 2019).

En viales serológicos (120 mL) se agregaron 0.5 g MS de un ensilado y 45 mL de medio de medio de cultivo (5 repeticiones independientes por interacción) y fue considerado la unidad experimental del presente estudio. Los viales se mantuvieron en condiciones anaeróbicas con CO_2 , se sellaron herméticamente con un tapón de neopreno (20 mm de diámetro) y arillo de aluminio, por lo que cada vial se consideró un biodigestor. Los biodigestores se esterilizaron a 121°C , 15 min y 15 psi, y se incubaron a 39°C por 24 h para verificar esterilidad. Los biodigestores se inocularon con 5 mL de bacterias ruminales totales obtenidas del fluido ruminal de una vaca Suiz-bu; la vaca pastó en praderas de pasto pangola antes de tomar la muestra de fluido ruminal. El fluido ruminal se centrifugó a $1,157 \times g$ por 3 min para precipitar protozoarios y partículas de fibra (Texta *et al.*, 2019). El bovino se manejó de acuerdo con el reglamento interno de bioética y bienestar de la UAGro con fundamento en las normas oficiales (NOM-062-ZOO-1999).

La producción de biogás se midió mediante el desplazamiento del émbolo de una jeringa de vidrio (50 mL; BD Yale®, Brasil). El biogás se midió a las 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 h de incubación (Hernández-Morales *et al.*, 2018) y se reportó la producción de biogás parcial a las 24 (Bio24), 48 (Bio48) y 72 h (Bio72) de incubación y acumulada a las 72 h. La producción de CH_4 se midió usando una manguera Taygon® (2.38 mm Ø interno y 45 cm de longitud) con agujas hipodérmicas (20 G x 32 mm) en los extremos. Las agujas se usaron para acoplar un biodigestor con un vial trampa. Los viales trampa se llenaron con solución de NaOH (2N) [80 g de NaOH (Merck®) en 1000 mL de agua destilada] modificado de la metodología de Stolaroff *et al.* (2008) según Torres-

Salado *et al.* (2018) y Herrera-Pérez *et al.* (2018). La producción parcial de CH_4 se consideró como los mL desplazados de la solución NaOH (2N) a las 24 (Me24), 48 (Me48) y 72 h (Me72) de incubación y la producción acumulada a las 72 h.

A las 72 h de incubación, se tomó 1 mL del medio contenido en el biodigestor, se mezcló con 0.25 mL de ácido metafosfórico (Meyer®) al 25% (proporción 4:1) y se centrifugó 25 min a $3,500 \times g$ y el sobrenadante se recuperó en viales de 2 mL. Un volumen de 20 μL de este sobrenadante se mezcló con 1 mL de solución fenol [10 mg de $\text{Na}_2(\text{NO})\text{Fe}(\text{CN})_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Meyer®) + 10 g de cristales de fenol (Meyer®) aforado en 1000 mL de agua destilada] y 1 mL de solución hipoclorito [7.5 g de NaOH (Reasol®) + 21.3 g de Na_2HPO_4 (Meyer®) + 15 mL de hipoclorito (5%; Reasol®) aforado a 1000 mL con agua destilada]. La mezcla se incubó a 37°C por 30 min en baño maría. Posteriormente, 5 mL de agua destilada se adicionaron para diluir y se agitaron con un vórtex (Genie 2 G-560, USA). La absorbancia se midió a 630 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Jenway® 6850, USA). Para la curva estándar se preparó una solución de sulfato de amonio [0.471 g (Meyer®) aforado en 100 mL de agua destilada] (McCullough 1967).

En bolsas ANKOM® 541 con peso contante se filtró la muestra residual del biodigestor. Las bolsas con el residuo se secaron 24 h a 60°C en un horno de secado. La DMS se calculó con la formula $\text{DMS} (\%) = (\text{muestra inicial} - \text{muestra residual} / \text{muestra inicial}) * 100$ (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015; Hernández-Morales *et al.*, 2018). Las bolsas ANKOM® se sellaron a calor y se determinó el contenido de FDN (Van Soest *et al.*, 1991). El porcentaje de degradación de la FDN (% DFDN) se calculó con la formula $\text{DFDN} (\%) = (\text{FDN inicial} - \text{FDN residual} / \text{FDN inicial}) * 100$ (Hernández-Morales *et al.*, 2018).

Análisis estadístico

Las variables de características de calidad y químicas, así como las variables de la técnica de producción de gas *in vitro* se analizaron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3×2 . Los factores fueron nivel de adición de melaza de caña (0, 3 y 6%) y tiempo de fermentación (21 y 28 días). Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM (SAS Inc., 2011). Los promedios se ajustaron por mínimos cuadrados para compararlos con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las variables MS, N- NH_3 , FDN, FDA, hemicelulosa, Ce y MO no presentaron interacción ($p > 0.05$); mientras, pH, ácido láctico y PC presentaron una interacción entre la adición de melaza y los tiempos de fermentación ($p < 0.05$; Tabla 2). En el caso del factor

nivel de adición de melaza, la adición de 3% o 6% aumentó 8.58% la MS ($p<0.05$) de los ensilados. El contenido de N-NH₃ y hemicelulosa no mostró diferencias entre el nivel de adición de melaza ($p>0.05$). El contenido de FDN de ensilados con 3% de melaza fue 3.82% menor que ensilados con 0% de melaza, y el ensilado con 6% fue 11.50% menor que ensilados con 3%. El contenido de FDA no mostró diferencias entre 0% y 3% de melaza ($p>0.05$); pero, el contenido disminuyó 18.16% cuando se adicionó 6% de melaza al ensilado ($p<0.05$). El contenido de Ce aumentó 2.52% cuando se adicionaron 3% o 6% de melaza ($p\leq 0.05$); en contraste, el contenido de MO disminuyó cuando se adicionó melaza a los ensilados ($p<0.05$; Tabla 3). Cabe destacar, aunque hay variables que muestran diferencias estadísticas, en la práctica el aporte de hasta 6% de melaza de caña de azúcar como aditivo a los ensilados no son biológicamente relevantes, por lo que se puede inducir que los ensilados de papaya de desecho usando pasto estrella como absorbedor de humedad no requieren de melaza de caña, ya que no afecta la respuesta de MS, N-NH₃, FDN, FDA, hemicelulosa, Ce y MO.

Con el factor tiempo de fermentación, el contenido de MS, FDA y hemicelulosa no mostraron diferencias entre tiempos de fermentación ($p>0.05$). El contenido

de N-NH₃ y Ce a los 28 d fue 329.82 y 3.98% mayor que a los 21 d; mientras el contenido de FDN y MO a los 21 d fue 3.88 y 0.4% menor que a los 28 d ($p<0.05$; Tabla 4). El objetivo de abrir los silos a los 21 o 28 d fue determinar el tiempo mínimo que requieren los silos para alcanzar la fase estacionaria del proceso de ensilado; por lo que el día de apertura de los silos no muestra diferencias biológicamente relevantes. Esto permite inferir que el tiempo de apertura de silos no afecta la respuesta de MS, N-NH₃, FDN, FDA, hemicelulosa, Ce y MO.

El mayor valor de pH fue en ensilados con 6% de melaza y 28 d de fermentación ($p<0.05$), el cual fue 4.62% mayor al ensilado con 6% de melaza y 21 d. Cabe destacar, ensilados con 0% de melaza para ambos tiempos mostraron el menor valor de pH ($p<0.05$), sin diferencias entre ensilados ($p>0.05$). El contenido de ácido láctico fue mayor en los ensilados con 0% melaza y 28 d ($p<0.05$), mismo que fue 2.67% mayor que ensilados con 0% melaza y 21 d. El ensilado con 6% melaza y 21 d presentó el mayor contenido de PC, mientras los ensilados con 0% a 21 d y 6% a 28 d mostraron los menores valores ($p<0.05$; Tabla 5). Sin embargo, los valores de pH, ácido láctico y PC no presentaron diferencias biológicamente relevantes, ya que se requieren pH arriba de 4 para que comiencen las

Tabla 2. Valor de p de las variables de calidad, químicas y ensayo *in vitro* de ensilados de papaya.

Variables	Adición de melaza	Días de fermentación	Interacción melaza*días
Materia seca	<0.0001	0.1373	0.5186
pH	<0.0001	<0.0001	0.004
Ácido láctico	<0.0001	0.0023	0.0003
Nitrógeno amoniacal	0.085	<0.0001	0.688
Proteína cruda	0.2358	0.1946	0.0034
Fibra detergente neutro	<0.0001	4.00E-04	0.543
Fibra detergente ácido	0.0003	0.0564	0.6067
Hemicelulosa	0.604	0.774	0.439
Cenizas	0.017	<0.0001	0.809
Materia orgánica	0.017	<0.0001	0.809
Producción parcial de biogás a 24 h	<0.0001	<0.0001	0.048
Producción parcial de biogás a 48 h	0.123	0.385	0.583
Producción parcial de biogás a 72 h	0.013	0.507	0.0001
Producción acumulada de biogás a 72 h	0.001	<0.0001	0.4
Producción parcial de metano a 24 h	<0.0001	0.0001	0.479
Producción parcial de metano a 48 h	0.177	0.015	0.389
Producción parcial de metano a 72 h	<0.0001	<0.0001	0.445
Producción acumulada de metano a 72 h	0.01	0.02	0.34
Nitrógeno amoniacal del medio	0.069	0.004	0.815
Degradación de la materia seca	<0.0001	0.244	0.564
Degradación de la fibra detergente neutro	0.818	0.896	0.399

Tabla 3. Efecto del nivel de adición de melaza en variables de calidad, bromatológicas y fermentativas *in vitro* que no presentaron interacción entre niveles de adición de melaza y días de fermentación en ensilados de papaya.

Variable	Nivel de adición de melaza			EEM
	0%	3%	6%	
MS (g Kg ⁻¹ MS)	270.9 ^b	293.9 ^a	294.4 ^a	2.4
N-NH ₃ (% Nitrógeno total)	1.17	2.15	1.21	0.26
FDN (g Kg ⁻¹ MS)	696.8 ^a	671.1 ^b	601.9 ^c	8.2
FDA (g Kg ⁻¹ MS)	456.4 ^a	428.4 ^a	374.4 ^b	9.4
Hemicelulosa (g Kg ⁻¹ MS)	240.4	242.7	227.4	6.4
Ce (g Kg ⁻¹ MS)	93.3 ^b	95.8 ^a	95.5 ^a	0.5
MO (g Kg ⁻¹ MS)	906.8 ^a	904.2 ^b	904.5 ^b	0.5
Biogás parcial 48 h (mL g ⁻¹ MS)	33.96	32.85	28.41	1.14
Biogás acumulado 72 h (mL g ⁻¹ MS)	136.56 ^b	154.39 ^a	167.71 ^a	5.83
Metano parcial 24 h (mL g ⁻¹ MS)	18.47 ^b	21.43 ^b	26.44 ^a	0.90
Metano parcial 48 h (mL g ⁻¹ MS)	8.96	8.67	7.86	0.27
Metano parcial 72 h (mL g ⁻¹ MS)	7.27 ^a	5.75 ^b	4.96 ^b	0.32
Metano acumulado 72 h (mL g ⁻¹ MS)	34.70 ^b	36.70 ^{ab}	38.12 ^a	0.50
Nitrógeno amoniacal (mg dL ⁻¹)	2.09	2.10	1.92	0.04
DMS (g Kg ⁻¹ MS)	620.0 ^c	638.6 ^b	671.6 ^a	5.1
DFDN (g Kg ⁻¹ MS)	527.4	532.8	532.4	3.6

^{a,b} Valores promedio con distinta letra en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

MS = materia seca, N-NH₃ = nitrógeno amoniacal, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, Ce = cenizas, MO = materia orgánica, DMS = degradación de la materia seca, DFDN = degradación de fibra detergente neutro, EEM = error estándar de la media.

fermentaciones de microorganismos no deseados y los ingredientes usados en la elaboración de los ensilados no son clasificados como proteicos. La pérdida del contenido de PC se puede asumir a: a) la fase aerobia del proceso de ensilado, ya que en esta etapa se lleva a cabo respiración celular y mediante actividad enzimática de proteasas, las células vegetales descomponen los componentes nitrogenados presentes hasta que inhiben su actividad cuando se alcanzan valores cercanos a pH 4 (Cañaque y Sancha, 1998); y b) la papaya contiene papaína, una enzima con capacidad de hidrolizar proteínas (Vázquez-García *et al.*, 2010).

Las variables de las características de calidad sirven como referencia del proceso de fermentación láctica que tiene el silo durante el periodo de fermentación (Torres *et al.*, 2021). De modo que los valores obtenidos en el presente estudio (Tablas 3, 4 y 5) muestran que el pH, contenido de N-NH₃, MS y ácido láctico se encuentran dentro de los rangos reportados por Cañaque y Sancha (1998). Por lo que los ensilados evaluados en el presente estudio no tuvieron fermentaciones butíricas por bacterias del género *Clostridium* y enterobacterias no deseadas (Lorenzo-Hernández *et al.*, 2019) y no hubo un exceso de

degradación de proteína a amoniacal durante la realización del ensilado (Cañaque y Sancha, 1998).

Los valores de MS del presente estudio son inferiores a lo reportado en ensilados de mango maduro (Sánchez-Santillán *et al.*, 2020; Cañaverall-Martínez *et al.*, 2020; Torres *et al.*, 2021) y cascara con pulpa de calabaza (Lorenzo-Hernández *et al.*, 2019); esto se puede asumir al tipo y cantidad de heno de pasto usado inicialmente en la elaboración de los silos. Sánchez-Santillán *et al.* (2020), Cañaverall-Martínez *et al.* (2020), Torres *et al.* (2021) y Lorenzo-Hernández *et al.* (2019) reportaron mayor valor de pH y contenido de ácido láctico que en el presente estudio (Tabla 5); los primeros tres usaron mango maduro, mientras el cuarto usó cascara con pulpa de calabaza como ingrediente principal de sus ensilados. Esto afecta la disponibilidad de carbohidratos solubles al inicio del proceso de ensilado, lo que se reflejó en el contenido de ácido láctico y valor de pH; ya que, a mayor contenido de ácido láctico, el valor de pH disminuye (Cañaque y Sancha, 1998). Por lo que ni la adición de melaza de caña como aditivo y ni el tiempo de apertura de los silos influye en las características de calidad y químicas de ensilados elaborados con papaya de desecho y pasto estrella usado como absorbente de humedad.

Tabla 4. Efecto de los días de fermentación en variables de calidad y bromatológicas que no presentaron interacción entre niveles de adición de melaza y días de fermentación en ensilados de papaya.

Variable	Días de fermentación		EEM
	21	28	
MS (g Kg ⁻¹ MS)	284.3	288.5	2.4
N-NH ₃ (% Nitrógeno total)	0.57 ^b	2.45 ^a	0.26
FDN (g Kg ⁻¹ MS)	644.0 ^b	669.0 ^a	8.2
FDA (g Kg ⁻¹ MS)	405.6	433.8	9.4
Hemicelulosa (g Kg ⁻¹ MS)	238.8	234.9	6.4
Ce (g Kg ⁻¹ MS)	93.0 ^b	96.7 ^a	0.5
MO (g Kg ⁻¹ MS)	907.0 ^a	903.3 ^b	0.5
Biogás parcial 48 h (mL g ⁻¹ MS)	32.72	30.75	1.14
Biogás acumulado 72 h (mL g ⁻¹ MS)	131.45 ^b	174.32 ^a	5.83
Metano parcial 24 h (mL g ⁻¹ MS)	19.73 ^b	24.49 ^a	0.90
Metano parcial 48 h (mL g ⁻¹ MS)	9.12 ^a	7.87 ^b	0.27
Metano parcial 72 h (mL g ⁻¹ MS)	7.10 ^a	4.88 ^b	0.32
Metano acumulado 72 h (mL g ⁻¹ MS)	35.51 ^b	37.50 ^a	0.50
Nitrógeno amoniacal del medio (mg dL ⁻¹)	1.93 ^b	2.15 ^a	0.04
DMS (g Kg ⁻¹ MS)	647.0	639.9	5.1
DFDN (g Kg ⁻¹ MS)	530.4	531.4	3.6

^{a,b} Valores promedio con distinta letra en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

MS = materia seca, N-NH₃ = nitrógeno amoniacal, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, Ce = cenizas, MO = materia orgánica, pH = potencial de hidrógeno, DMS = degradación de la materia seca, DFDN = degradación de fibra detergente neutro, EEM = error estándar de la media.

Tabla 5. pH, ácido láctico, proteína cruda y biogás parcial a las 24 y 72 h en ensilados de papaya con diferentes niveles de adición de melaza a 21 y 28 días de fermentación.

Días fermentación	Inclusión melaza	pH	Láctico (g Kg ⁻¹ MS)	PC (g Kg ⁻¹ MS)	Biogás parcial 24 h (mL g ⁻¹ MS)	Biogás parcial 72 h (mL g ⁻¹ MS)
21	0%	3.52 ^c	37.4 ^b	6.6 ^b	62.31 ^c	12.63 ^a
	3%	3.54 ^c	35.2 ^c	28.8 ^{ab}	90.73 ^{bc}	7.33 ^{bc}
	6%	3.68 ^b	33.8 ^d	43.9 ^a	119.57 ^{ab}	3.61 ^c
28	0%	3.59 ^c	38.4 ^a	27.3 ^{ab}	123.93 ^a	6.32 ^{bc}
	3%	3.75 ^b	34.7 ^c	16.2 ^{ab}	138.27 ^a	6.75 ^{bc}
	6%	3.85 ^a	34.7 ^c	13.7 ^b	146.64 ^a	8.80 ^{ab}
EEM		0.02	0.3	3.4		6.46

^{a,b} Valores promedio con distinta letra en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

pH = potencial de hidrogeno, Láctico = ácido láctico, PC = proteína cruda, EEM = error estándar de la media.

El análisis bromatológico de un alimento permite determinar si se puede o no utilizarse para los animales e inferir su uso en forma adecuada. De tal manera, el presente estudio mostró valores inferiores de PC a ensilados elaborados con cascara con pulpa de calabaza (Lorenzo-Hernández *et al.*, 2019). El contenido de fibras (FDN, FDA y hemicelulosa) y Ce del presente estudio fue similar a los reportado por

Sánchez-Santillán *et al.* (2020) y Torres *et al.* (2021) en ensilados de mango maduro. Lo anterior se asume a la composición de los ingredientes usados en la elaboración de los ensilados de cada autor, ya que la composición bromatológica de los ingredientes y composición de los ensilados es distinta y esto se refleja en los contenidos bromatológicos de los ensilados con desperdicios agroindustriales.

La técnica de producción de gas *in vitro* permite inferir la disponibilidad de nutrientes que tiene un alimento que se pretende ofrecer a los rumiantes, ya que asemeja una actividad microbiana en rumen (Sánchez-Santillán y Cobos-Peralta, 2016). Además, la estimación de CH₄ que es un producto de la fermentación ruminal (Crosby-Galván y Ramírez-Mella, 2018). Las variables Bio24 y Bio72 presentaron interacción entre nivel de adición de melaza y tiempo de fermentación ($p \leq 0.05$); mientras, el resto de las variables no presentaron interacción ($p > 0.05$; Tabla 2).

El nivel 0% melaza produjo menos biogás acumulado ($p < 0.05$). En la producción de CH₄, el ensilado con 6% de melaza produjo mayor Me24, metano acumulado y DMS, así como menor Me72 ($p < 0.05$). Las variables Bio48, Me48, N-NH₃ y DFDN no mostraron diferencias entre el nivel de adición de melaza ($p > 0.05$; Tabla 3). La inclusión de melaza en los ensilados propició mayor disponibilidad de carbohidratos para el proceso de fermentación ruminal; donde el inóculo fermento estos carbohidratos y produjo ácidos grasos volátiles, CO₂ e H₂ como productos de desecho según la estequiometría de la glucosa en rumen (Rodríguez y Fondevila 2011) lo que se reflejó en la producción de biogás, metano y DMS.

Con respecto al factor tiempo de fermentación, Bio48, DMS y DFDN no mostraron diferencias ($p > 0.05$) entre los tiempos de fermentación evaluados en el presente estudio. La producción de biogás acumulado, Me24, metano acumulado y N-NH₃ de los ensilados con 28 d fueron 32.61, 24.12, 5.6 y 11.40% mayores que en los ensilados con 21 d. Los ensilados con 21 d mostraron 15.88 y 45.49% mayor Me48 y Me72 que los ensilados con 28 d ($p < 0.05$; Tabla 4).

Los ensilados a 28 d con cualquier nivel de inclusión de melaza no presentaron diferencias en la producción de Bio24 ($p > 0.05$); además, el ensilado con 6% melaza y 21 d produjo sólo 45.72% del Bio24 de los ensilados a 28 d ($p < 0.05$). La menor producción de Bio72 se presentó en ensilados con 6% melaza y 21 d ($p < 0.05$), esta producción representó 28.58% del Bio72 del ensilado con 0% melaza y 21 d ($p < 0.05$). En contraste, los ensilados con los mismos niveles de melaza (0 y 6%) pero con 28 d, no mostraron diferencias en la producción de Bio72 ($p > 0.05$; Tabla 5). Lo anterior indicó que a mayor tiempo de apertura de los silos de papaya de desecho, la disponibilidad de los nutrientes para la fermentación ruminal aumenta. Sin embargo, biológicamente no se observaron cambios relevantes, por lo que en la práctica se podría determinar que la putrefacción a los 21 o 28 d de los silos no muestra diferencias en el comportamiento de las características fermentativas *in vitro*.

La medición parcial y acumulada del biogás permite inferir la disponibilidad de carbohidratos para los

microorganismos ruminales durante el proceso de fermentación ruminal *in vitro* usando la técnica de producción de gas (Texta *et al.*, 2019). De modo que la producción de biogás parcial en las primeras 24 h indica la disponibilidad de carbohidratos solubles o no estructurales del ensilado de papaya de desecho, mientras que a partir de las 24 h comienza la fermentación de carbohidratos estructurales no adheridos a lignina y después de las 48 h se fermentan aquellos carbohidratos estructurales adheridos a lignina (Sánchez-Santillán *et al.*, 2015; Texta *et al.*, 2019; Torres-Salado *et al.*, 2019). Esto permite inferir, la adición de melaza a los ensilados de papaya de desecho del presente estudio afecta la disponibilidad de los carbohidratos durante la fermentación ruminal, ya que aumenta la producción de biogás y metano en términos generales.

En el presente estudio se promedió una producción acumulada de 152 mL de biogás g⁻¹ MS (Tablas 3 y 4), valores superiores a lo reportado en ensilados de mango maduro sin aditivo (Cañaveral-Martínez *et al.*, 2020) y cascara con pulpa de calabaza (Sánchez-Santillán *et al.*, 2020b) e inferiores a mango maduro con melaza de caña de azúcar como aditivo (Torres *et al.*, 2021). Por lo que la disponibilidad de los carbohidratos no estructurales y estructurales en los diferentes ensilados varía según las condiciones de fermentación láctica y eficiencia de fermentación por parte de los microorganismos lácticos presentes durante el proceso de ensilado.

La producción de metano es un indicativo de cuanta energía se pierde por su síntesis por parte de arqueas metanogénicas; ya que estas utilizan el CO₂ e H₂ en su ruta metabólica (Torres-Salado *et al.*, 2019). Por otra parte, el biogás se compone de CO₂ y CH₄, por lo que es importante determinar cuánto de ese biogás producido es metano, ya que, a mayor cantidad de metano, mayor es la producción de gases de efecto invernadero. Así, en el presente estudio el metano acumulado representó 24% del total de biogás producido en los ensilados de papaya de desecho (Tablas 3 y 4), valores inferiores a lo reportado por Cañaveral-Martínez *et al.* (2020) en ensilados de mango maduro sin aditivo (37% de metano respecto a su producción de biogás). Valores inferiores en la producción de metano en el presente estudio fueron reportados por Sánchez-Santillán *et al.* (2020b) en ensilados de cascara con pulpa de calabaza como ingrediente principal. Sin embargo, valores superiores fueron reportados por Torres *et al.*, (2021) en ensilados de mango maduro como ingrediente principal.

Dentro de las características fermentativas que se determinaron en el presente estudio fueron N-NH₃, DMS y DFDN. El N-NH₃ indica la eficiencia de los microorganismos para degradar las fracciones nitrogenadas disponibles en el ensilado (Rodríguez *et*

al., 2010), mismas que en el presente estudio se encuentran por debajo del rango requerido para asegurar una máxima tasa de digestibilidad de la materia seca (Calsamiglia *et al.*, 2010). Valores superiores se reportaron en ensilados de mango maduro como ingrediente principal (Cañaveral-Martínez *et al.*, 2020).

El presente estudio promedió una DMS de 643 g Kg⁻¹, valor que indica una baja concentración de fibras, aún y cuando el ensilado se elaboró con 25% de heno de pasto estrella como absorbedor de humedad, pero que recibió un tratamiento químico con ácido láctico producto de la fermentación láctica que probablemente mejoró la disponibilidad de carbohidratos estructurales que estaban adheridos a la lignina (Luna *et al.*, 2013; Gándara *et al.*, 2017). Valores inferiores se reportaron en ensilados de mango maduro (Cañaveral-Martínez *et al.*, 2020) y cascara con pulpa de calabaza (Sánchez-Santillán *et al.*, 2020b) como ingrediente principal.

La DFDN inferior a 40% predice afectación en el contenido de energía y consumo potencial de la MS (Hoffman *et al.*, 2007), por lo que los valores del presente estudio muestran que el ensilado de papaya de desecho no afectará el consumo de la materia seca, ni la disponibilidad de energía cuando se ofrezca al rumiante. Valores inferiores se reportaron en ensilados de mango maduro como ingrediente principal (Cañaveral-Martínez *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

La mezcla de 75% de papaya de desecho que no cumple los estándares de calidad para consumo humano y 25% de heno de pasto estrella como absorbedor de humedad con urea son suficientes para obtener ensilados con características de calidad, químicas y fermentativas para considerarse como una alternativa no convencional en la alimentación de rumiantes que se caracteriza por ser un alimento fibroso bajo en proteína. La adición de melaza de caña de azúcar como aditivo para este tipo de ensilados no se requiere para mejorar las características de calidad, químicas y fermentativas. Además, es indiferente si se abren este tipo de silos a los 21 o 28 d de fermentación láctica.

Agradecimientos

Funding. This work was carried out thanks to the financing of the Academic Body UAGro-CA-183 “Sustainable Production of Ruminants in the Tropics”, Universidad Autónoma de Guerrero, México.

Conflict of interests. The authors declare and agree with the information presented in the article, and we accept the authorship order. There is no conflict of interest to be declared by the authors.

Compliance with ethical standards. Original data derived from the authors' work are presented, which have not been submitted at the same time in different journals. The work did not involve experimentation with animals, and was carried out according to procedures accepted by the Autonomous University of Guerrero.

Data availability. Data is available upon reasonable request to Paulino Sánchez Santillán, sanchezsantillanp@gmail.com

REFERENCIAS

- AOAC. 2005. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, VA, USA.
- Cañeque, M.V., y Sancha, S.J.L., 1998. Ensilados de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. Madrid, España. Mundi-Presa.
- Cañaveral-Martínez, U.R., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Sánchez-Hernández, D., Herrera-Pérez, J., and Rojas-García, A.R., 2020. Características de calidad, bromatológicas y fermentativas *in vitro* de ensilado de mango maduro. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 8(1), pp. 82-90.
- Calsamiglia, S., Ferret, A., Reynolds, C.K., Kristensen, B., and van Vuuren, A.M., 2010. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. *Animal*, 4(7), pp 1184-1196. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731110000911>
- Crosby-Galván, M.M., y Ramírez-Mella, M., 2018. Técnica de producción de gas *in vitro* para estimar la producción de metano. *Agroproductividad*, 11(2), pp. 64-69.
- Gándara, L., Borrajo, C.I., Fernández, J.A., y Pereira M.M., 2017. Efecto de la fertilización nitrogenada y la edad del rebrote sobre el valor nutritivo de *Brachiaria brizantha* cv. "Marandú". *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 49(1), pp. 69-77.
- Gomes, J.A.A., Valadares, S.C.F., dos Santos, D.P., Detmann, E., Ferreira, R.D.V., Ribeiro, L.G.P., de Paiva, N.K.S., and Costa, L.F.S., 2011. Consumo, digestibilidad total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas com subprodutos de frutas para ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(5), pp. 1052-1060.
- Granados, R.R., Lopez, S.R., y Blanco, L.M.P., 2015. Situación actual y perspectivas tecnológicas para la papaya (*Carica papaya* L.) en el distrito de Veracruz, Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(4), pp. 749-761.

- Guzmán, O., Lemus, C., Martínez, S., Bonilla, J., Plasencia, A.L., and Ly, J., 2012. Chemical characteristics of silages of mango (*Mangifera indica* L.) byproducts for animal feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 46(4), pp. 369–374.
- Hernández-Morales, J., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Rojas-García, A.R., Reyes-Vázquez, I., y Mendoza-Núñez, M.A., 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista Mexicana en Ciencias Pecuarias*, 9(1), pp. 105-120. DOI: <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4332>
- Herrera-Pérez, J., Vélez-Regino, L.G., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Rojas-García, A.R., and Maldonado-Peralta, M.A., 2018. *In vitro* fermentation of fibrous substrates by wáter buffalo ruminal cellulolytic bacteria consortia. *MVZ Cordoba*, 23(3), pp. 6860-6870. DOI: <http://dx.doi.org/10.21897/rmvz.1374>
- Hoffman, P.C., Lundberg, K.M., Bauman, L.M., Shaver, R.D., and Contreiras-Govea, F.E., 2007. Digestibilidad *in vitro* del FDN (fibra detergente neutro): el debate de 30 vs 48 horas. Universidad de Wisconsin. *Focus Forage*, 5, pp. 1-4.
- Kimberley, A., and Taylor, C., 1996. A simple colorimetric assay for muramic acid and lactic acid. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 56(1), pp. 49-54. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02787869>
- Luna, L., Meneses, M., Mendoza, G., Montalvo, C., and Loera, O., 2013. Efecto y actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus* en pared celular de rastrojo de cebada. *Livestock Research for Rural Development*, 25, pp. 1-13.
- Lorenzo-Hernández, R., Torres-Salado, N., Sánchez-Santillán, P., Herrera-Pérez, J., Mayren-Mendoza, F.J., Salinas-Ríos, T., Rojas-García, A.R., y Maldonado-Peralta, M.A., 2019. Evaluación de las características de calidad y bromatológicas de ensilados elaborados con residuos de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(04), pp. 957-963. DOI: <http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.14>
- McCullough, H., 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17(2), pp. 297-304. [http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90133-7](http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(67)90133-7)
- Opportimes., 2021. México es líder mundial en exportaciones de papaya. <https://www.opportimes.com/mexico-es-lider-mundial-en-exportaciones-de-papaya/> Consulta: 02 de febrero de 2021
- Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. (NOM-062-ZOO-1999)., 1999. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. <https://fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF> Consulta: 10 de agosto de 2020
- Rodríguez, M.C., Aguirre, E., Salvador, F., Ruiz, O., Arzola, C., y Villalobos, C., 2010. Producción de gas, ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal *in vitro* con dietas basadas en pasto seco. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 44, pp. 251-259.
- Rodríguez R., and M. Fondevila., 2011. Effect of saponins from *Enterolobium cyclocarpum* on *in vitro* microbial fermentation of the tropical grass *Pennisetum purpureum*. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, pp. 762-769.
- Sánchez-Santillán, P., Meneses-Mayo, M., Miranda-Romero, L.A., Santellano-Estrada, E., and Alarcón-Zúñiga, B., 2015. Fibrinolytic activity and gas production by *Pleurotus ostreatus*-IE8 and *Fomes fomentarius* - EUM1 in bagasse cane. *MVZ Córdoba*, 20, pp. 4907-4916. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.6>
- Sánchez-Santillán, P., and Cobos-Peralta, M.A., 2016. *In vitro* production of volatile fatty acids by reactivated cellulolytic bacteria and total ruminal bacteria in cellulosic substrate. *Agrociencia*, 50(05), pp. 565-574.
- Sánchez-Santillán, P., Herrera-Pérez, J., Torres-Salado, N., Almaraz-Buendía, I., Reyes-Vázquez, I., Rojas-García, A.R., Gómez-Trinidad, M., Contreras-Ramírez, E.O., Maldonado-Peralta, M.A., and Magadan-Olmedo, F., 2020. Chemical composition, and *in vitro* fermentation of ripe mango silage with molasses. *Agroforestry Systems*, 94(4), pp. 1511-1519. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00442-z>
- Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Rojas-García, A.R., Maldonado-Peralta, M.A., and Ayala-Monter, M.A., 2020b. *In vitro* gas and methane production and dry matter degradation of pumpkin (*Cucurbita argyrosperma*) silages with pangola grass

- (*Digitaria decumbens*) hay. *AgroProductividad*, 13(11), pp. 95-101. DOI: <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i11.1786>
- SAS. Institute Inc., 2011. Statistical Analysis System, SAS, User's Guide: SAS Inst., Cary, NC. Pp 3154-3339.
- Stolaroff, J.K., Keit, D.W., and Lowr, G.V., 2008. Carbon dioxide capture from atmospheric air using sodium hydroxide spray. *Environment Science Technology*, 42(8), pp. 2728-2735
- Stefanie, J.W.H., Oude, E., Driehuis, F., Gottschal, J.C., y Spoelstra, S.F., 1999. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. <http://www.fao.org/3/X8486S/x8486s04.htm> Consulta: 20 de mayo de 2021.
- Texta, N.J., Sánchez-Santillán, P., Hernández, S.D., Torres-Salado, N., Crosby, G.M., Rojas-García, A.R., Herrera, P.J., and Maldonado, P.M., 2019. Use of disaccharides and activated carbon to preserve cellulolytic ruminal bacterial consortiums lyophilized. *MVZ Cordoba*, 24(3), pp. 7305-7313. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1412>
- Torres-Salado, N., Sánchez-Santillán, P., Rojas-García, A.R., Herrera-Pérez, J., y Hernández-Morales, J., 2018. Producción de gases efecto invernadero *in vitro* de leguminosas arbóreas del trópico seco mexicano. *Archivos de Zootecnia*, 67(257), pp. 55-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.21071/az.v67i257.3347>
- Torres-Salado, N., Sánchez-Santillán, P., Rojas-García, A.R., Almaraz-Buendía, I., Herrera-Pérez, J., Reyes-Vázquez, I., and Mayren-Mendoza, F.J., 2019. *In vitro* gas production and fermentative characteristics of ruminal cellulolytic bacterial consortia of water buffalo (*Bubalus bubalis*) and Suiz-bu cow. *Agrociencia*, 53(02), pp. 145-159
- Torres, S.N., Gómez, T.M., Sánchez-Santillán, P., Rojas, G.A., Maldonado, P.M., y Bottini, L.M., 2021. Evaluación de las características de calidad, bromatológicas y fermentativas *in vitro* a diferentes tiempos de fermentación láctica de ensilados de mango maduro. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(2), pp. e18343. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.18343>
- Valencia, A., Hernández, A., y López, L., 2011. El ensilaje ¿Qué es y para qué sirve?. *Revista la Ciencia y el Hombre*, 24(2). <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/ensilaje/> Consulta: 15 de abril de 2021.
- 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(10), pp. 3583-3597. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vázquez-García, E., Mata-Vázquez, H., Ariza-Flores, R., y Santamaria-Basulto, F., 2010. Producción y manejo postcosecha de papaya Maradol en la planicie huasteca. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias*, Libro Técnico No. 4. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/855.pdf> Consulta: 20 de enero de 2021.