

## Short Note [Nota Corta]



## Ruminal fermentation and methane emissions of corn silage harvested at the R4 and R5 phenological stages †

### [Fermentación ruminal y emisiones de metano de ensilados de maíz cosechados en las etapas fenológicas R4 y R5]

Roselia Ramírez-Díaz<sup>1\*</sup>, René Pinto-Ruiz<sup>1</sup>, Francisco Javier Medina-Jonapá<sup>1</sup>, Adalberto Hernández-López<sup>1</sup>, Deb Raj-Aryal<sup>2</sup> and Luis F. Molina-Paniagua<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Carretera Ocozocoautla-Villaflores Km 84.5. C.P. 30470. Villaflores, Chiapas, México. Email: [roselia.ramirez@unach.mx](mailto:roselia.ramirez@unach.mx) \*; [pinto\\_ruiz@yahoo.com.mx](mailto:pinto_ruiz@yahoo.com.mx); [francisco.medina@unach.mx](mailto:francisco.medina@unach.mx); [adalberto.hernandez@unach.mx](mailto:adalberto.hernandez@unach.mx); [fernando.molina@unach.mx](mailto:fernando.molina@unach.mx)

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT)-Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Carretera Ocozocoautla-Villaflores Km 84.5. Apartado postal #78, C.P. 30470 Villaflorres, Chiapas, México. Email: [drajar@conahcyt.mx](mailto:drajar@conahcyt.mx)

\*Corresponding author

### SUMMARY

**Background:** Corn silage is widely used in ruminant feeding; however, the ruminal utilization depends on the physiological stage at which the ensiling process is carried out. **Objective:** To evaluate the effect of corn silage harvested at the R4 and R5 phenological stages on ruminal fermentation and methane emissions. **Methodology:** Temperature and pH analyses were performed, as well as evaluations of chemical composition, starch content, fermentation, ruminal degradation, and greenhouse gas (GHG) emissions. **Results:** Temperature and pH were not found to differ between treatments ( $P>0.05$ ). However, differences were observed in chemical composition, with higher dry matter and organic matter content in T2, while T1 showed higher ash and neutral detergent fiber content ( $P<0.05$ ). The reproductive stage of corn influenced starch concentration. In terms of fermentation, T2 had the highest maximum gas volume, while T1 showed a higher fermentation rate ( $P<0.05$ ). Likewise, the rapid fermentation fraction was higher in T1, while the medium and slow fermentations were higher in T2. *In vitro* dry matter degradation, T1 obtained the highest values. The corn harvest stage affects GHG emissions, with T2 recording the highest values ( $P<0.05$ ). **Implications:** The phenological stage of corn during ensiling impacts ruminal fermentation and GHG emissions. **Conclusion:** Ensiling corn at the R4 physiological stage achieves better ruminal degradation and efficiency, reducing GHG emissions.

**Key words:** Corn silage; fermentation parameters; methane.

### RESUMEN

**Antecedentes:** El ensilado de maíz es ampliamente utilizado en la alimentación de rumiantes. Su aprovechamiento ruminal depende de la etapa fisiológica en la que se realice el proceso de ensilado. **Objetivo:** Evaluar el efecto del ensilado de maíz cosechado en las etapas fenológicas R4 y R5 sobre la fermentación ruminal y las emisiones de metano. **Metodología:** Se realizaron análisis de temperatura y pH, así como evaluaciones de la composición química, contenido de almidón, fermentación, degradación ruminal y emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). **Resultados:** Se encontró que la temperatura y el pH no presentaron diferencias entre los tratamientos ( $P>0.05$ ). Sin embargo, sí se observaron diferencias en la composición química, destacando un mayor contenido de materia seca y materia orgánica en T2, mientras que el T1 mostró mayor contenido de ceniza y fibra detergente neutro ( $P<0.05$ ). La etapa reproductiva del maíz influyó en la concentración de almidón. En términos de fermentación, T2 presentó mayor volumen máximo

† Submitted March 22, 2025 – Accepted November 11, 2025. <http://doi.org/10.56369/taes.6254>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>  
ISSN: 1870-0462.

ORCID = R. Ramírez-Díaz: <https://orcid.org/0000-0002-6902-8955>; R. Pinto-Ruiz: <https://orcid.org/0000-0003-1962-6874>; F.J. Medina-Jonapá: <https://orcid.org/0000-0001-9814-0957>; A. Hernández-López: <https://orcid.org/0000-0003-4058-7902>; D. Raj-Aryal: <https://orcid.org/0000-0003-4188-3084>; L.F. Molina-Paniagua: <https://orcid.org/0009-0002-7450-6568>

de gas, mientras que T1 mostró una mayor tasa de fermentación ( $P<0.05$ ). Asimismo, la fracción de fermentación rápida fue superior en T1, mientras que la fermentación media y lenta fueron mayores en T2. En la degradación *in vitro* de la materia seca, T1 obtuvo los valores más altos. La etapa de cosecha del maíz afecta las emisiones de GEI, con T2 registrando los valores más altos ( $P<0.05$ ). **Implicaciones:** La etapa fenológica del maíz al ensilar impacta la fermentación ruminal y las emisiones de GEI. **Conclusión:** Al ensilar maíz en la etapa fisiológica R4 se obtiene mejor degradación y eficiencia ruminal, reduciendo las emisiones de GEI.

**Palabras clave:** Ensilaje de maíz; parámetros de fermentación; metano.

## INTRODUCCIÓN

El ensilaje se basa en la fermentación anaeróbica de los carbohidratos solubles del sustrato a través de microorganismos que producen ácido láctico, lo cual permite que el pH disminuya a un rango de 3.8-4.0, de esta manera evita el desarrollo de microorganismos aeróbicos que causan descomposición (Borreani *et al.*, 2018).

Para conseguir los aportes de energía y por tanto usar más eficientemente al ensilado de maíz, el estado de madurez del cultivo de maíz al momento de ensilar es de gran importancia. Es importante mencionar que la mayoría de los ganaderos realizan el corte para ensilar entre las etapas R3 y R4 cuando el grano se encuentra en etapa lechosa-pastosa (Delgado-Ramírez *et al.*, 2023). Sin embargo, es fundamental tomar en cuenta la composición química del forraje para seleccionar la fecha a ensilar, debido a que en algunos forrajes a medida que la planta aumenta su madurez fisiológica presenta un incremento de contenido de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácida (FDA), los cuales son componentes químicos que limitan la digestibilidad y el consumo (de Souza *et al.*, 2021).

Por otro lado, cosechar al maíz en R5 asume aportar mayor almidón como proporción de grano en el ensilado, mejorando el aporte energético a la dieta animal que repercutiría en la producción de leche. Sin embargo, si bien se han realizado experimentos en los que se prueba las mejoras en almidón, digestibilidad de las fracciones de fibras y degradación de la materia seca, no se han realizado estudios que indiquen como se presentan las fracciones de fermentación, fracciones que indicarían la disponibilidad de carbohidratos presentes en el rumen, así como su contribución a la producción de gases efecto invernadero, un problema que está en la agenda mundial. Por lo cual, se plantea como objetivo del siguiente trabajo evaluar el efecto del ensilado de maíz cosechado durante la etapa fenológica R4 y R5 para determinar las condiciones de fermentación ruminal y emisiones de metano, utilizando la técnica de producción de gas *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Características del área de estudio

Los análisis químicos y de producción de gas *in vitro* se llevaron a cabo en el laboratorio de Nutrición Animal mientras que el maíz fue sembrado en el rancho San Ramón, ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas. La institución que se encuentra localizada en el municipio de Villaflor, en la región Frailesca, en Chiapas, México, contándose con un clima cálido subhúmedo, con lluvias en verano y una precipitación de 1100 mm anuales y una temperatura media anual de 25º C.

### Manejo del recurso forrajero

Se utilizó la variedad de maíz Brevant 3916 que se caracteriza por buen rendimiento y un buen tamaño de grano, cuyo ciclo es intermedio y el grano blanco semicristalino, las semillas fueron tratadas con Semevin a razón de 500 mL por cada 15 kg de semilla. La siembra se realizó bajo condiciones de temporal y a través de sembradora mecánica, cero labranza. Para el control de malezas se aplicó los herbicidas pre-emergentes Gesaprim calibre 90 a razón de 2 kg<sup>-1</sup> ha y 2,4 D Amina 2 L<sup>-1</sup> ha. La fertilización se realizó quince días después de la siembra, aplicando 100 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico (DAP) y 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea. El control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) se realizó con Clorpirimfol a razón de 3 L ha<sup>-1</sup> en 200 L de agua.

### Tratamientos evaluados

Los tratamientos evaluados fueron dos ensilados de maíz a distinta etapa reproductiva: T1: considerando un cultivo con 94 días de edad fisiológica (R4) y T2: un cultivo con 106 días de edad fisiológica (R5).

### Elaboración de los microsilos

El cultivo de maíz se cortó manualmente a 15 cm de la altura del suelo. El ensilaje se realizó con la ayuda de bolsas de polietileno de color negro endosadas con una capacidad de 5 kg y con costales de rafia con capacidad de 10 kg. El forraje se cortó a un tamaño de partícula de 2 cm en promedio y se compactó cuidadosamente

para expulsar la mayor cantidad de oxígeno posible de manera manual hasta llegar a 5 kg de forraje picado, se elaboraron diez microsilos por tratamiento. Una vez concluido este proceso, los microsilos se almacenaron en un sitio a temperatura ambiente y libre del alcance de roedores. Los microsilos se abrieron a los 45 días de elaboración.

## Variables evaluadas

### Temperatura y pH

El día de la apertura se midió la temperatura con un termómetro de mercurio y el pH de cada tratamiento a través del potenciómetro Orion Research SA 210.

### Composición química

Cada repetición de cada tratamiento fue analizada por triplicado, conociéndose los contenidos de materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (Ce) y materia orgánica (MO) de acuerdo a los procedimientos recomendados por el AOAC (1990) y las fracciones de fibra detergente neutro (FDN) se determinó según la técnica de Van Soest et al. (1991).

### Almidón

El almidón se determinó mediante el método enzimático de acuerdo a lo indicado en el kit de determinación de almidón STA20 de Sigma- Aldrich, Inc. (Sigma).

### Fermentación y degradación ruminal *in vitro*

#### Obtención del líquido ruminal

El líquido ruminal se extrajo de cinco hembras ovinas por medio de una sonda oro-ruminal según la técnica descrita por (Ramírez Díaz et al., 2021). Los animales se alimentaron de ensilado de maíz *ad libitum*. Previo a la extracción, los ovinos tuvieron un periodo de ayuno de 12 h para conseguir un líquido ruminal más consistente en composición y actividad.

La cinética de fermentación, fracciones fermentables y degradación de la materia seca *in vitro* se determinó mediante el procedimiento descrito por Menke y Steingass (1988) para lo cual se usaron frascos color ámbar de 125 mL de capacidad a los que se les colocó 0.5 g de MS de ensilado de maíz procedente de cada tratamiento. Posteriormente y bajo un flujo continuo de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), a cada frasco se le agregó 90 mL de inóculo ruminal diluido (1:10) el cual se filtró a través de ocho capas de tela de gasa y se adicionó en una proporción de 1:9 a una solución mineral reducida compuesta de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.45 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.45 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $\text{NaCO}_3$  (0.6 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0.45 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $\text{NaCl}$  (0.9 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $\text{MnSO}_4$  (0.18 g  $\text{L}^{-1}$ ),

$\text{CaCl}_2$  (0.12 g  $\text{L}^{-1}$ ), L-cistéina (0.25 g  $\text{L}^{-1}$ ) y  $\text{Na}_2\text{S}$  (0.25 g  $\text{L}^{-1}$ ). Se incluyeron tres frascos blancos sin sustrato, se cerraron herméticamente con un tapón de goma y un aro de aluminio. El exceso de  $\text{CO}_2$  de cada frasco se extrajo con el manómetro hasta igualar la presión a cero y se incubaron en baño María a 39° C. La presión de gas de fermentación se midió con el manómetro (0 a 1  $\text{kg cm}^{-2}$ ) a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 42, 48, 60 y 72 horas de incubación. Por otro lado, utilizando la técnica descrita anteriormente se incubaron muestras de ensilado, al final del periodo de incubación, el residuo de cada frasco se filtró a través de papel de filtro previamente pesado. Los papeles con residuo se secaron a 65° C por 48 h y se pesaron. Por diferencia de peso se obtuvo la MS residual que sirvió para conocer la degradación ruminal *in vitro* de la materia seca (DGRMS).

Los valores de presión ( $\text{kg cm}^{-2}$ ) se transformaron a volumen de gas ( $\text{mL g}^{-1}$  sustrato) con la ecuación de regresión (volumen= presión/0.019). Por un lado, se obtuvo el volumen acumulado de gas de 0 a 72 h de incubación, y se estimaron los parámetros de cinética de producción de gas: volumen máximo ( $V_m$ ;  $\text{ml g}^{-1}$ ), tasa ( $S$ ;  $\text{h}^{-1}$ ) y tiempo de retardo ( $L$ ; h), para el modelo logístico  $V=V_m/1+e^{(2-4*S(T-L))}$  (Schofield y Pell, 1995) y se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 2003). Por otro lado, las fracciones de fermentación se obtuvieron mediante el volumen fraccional ( $V_f$ ) de gas de fermentación producido a tres intervalos de tiempo: 0 a 8 ( $\text{FR}_{0-8}$ ), 8 a 24 ( $\text{FM}_{8-24}$ ) y 24 a 72 ( $\text{FL}_{24-72}$ ) horas de incubación, que corresponden a carbohidratos solubles, carbohidratos de reserva y carbohidratos estructurales respectivamente (Sandoval-González et al., 2016). Estos volúmenes fraccionales ( $\text{mL g}^{-1}$ ), fueron transformados a fracciones ( $\text{g kg}^{-1}$ ) de rápida (FR), media (FM) y lenta (FL) fermentación mediante las siguientes ecuaciones de regresión, de acuerdo con Miranda-Romero et al. (2015): FR ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) =  $Vf_{0-8}/0.4266$  ( $R^2=0.9441$ ) FM ( $\text{mg g}^{-1}$ ) =  $Vf_{8-24}/0.6152$  ( $R^2=0.998$ ) FL ( $\text{mg g}^{-1}$ ) =  $Vf_{24-72}/0.3453$  ( $R^2=0.9653$ ).

#### Estimación de metano *in vitro*

Para conocer metano ( $\text{CH}_4$ ) más gases menores ( $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ), se siguió la metodología descrita anteriormente para 72 h de incubación. El volumen total de gas se midió cada seis horas en cada tratamiento, con una jeringa de 60 mL de capacidad. En cada medición, el volumen contenido en la jeringa se transfirió por inyección a otro frasco cerrado herméticamente que contenía una solución de hidróxido de potasio (KOH) (1 M) y se mezcló perfectamente para fijar el bióxido de carbono, sin dejar de presionar el émbolo de la jeringa. Despues se liberó el émbolo de la jeringa con el fin de medir el volumen de gas residual, correspondiente a metano y gases menores. El volumen residual se consideró como ml de  $\text{CH}_4+GM$  y fueron ajustados como metano

teórico ( $\text{CH}_4$ ) multiplicando cada valor por 0.77 (Moate *et al.*, 1997).

### Diseño experimental y análisis estadístico

Para analizar los datos se utilizó un diseño completamente al azar con dos tratamientos y diez repeticiones por tratamiento. El análisis se realizó utilizando el procedimiento general lineal (PROC GLM) del paquete estadístico SAS (SAS, 2003). Las medias de tratamientos se compararon utilizando la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observan los valores de temperatura y pH obtenidos en los tratamientos evaluados. Se aprecia que, para ambos valores, no se presentaron diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 1. Temperatura y pH del ensilado de maíz a dos etapas reproductivas.**

Tratamiento	Temperatura (°C)	pH
T1	25.25	3.80
T2	25.11	3.77

T1: ensilado de maíz a los 94 días (R4); T2: ensilado de maíz a los 106 días (R5).

Ferrero *et al.* (2021), señalan que la temperatura influye en la actividad de diversos microorganismos beneficiosos en el proceso de fermentación de los ensilajes, indicando que una temperatura de 20 a 30 °C es adecuada para la fermentación. En contraste, temperaturas superiores a 37 °C resultan en un ensilaje de mala calidad y baja estabilidad aeróbica. Por otro lado, Hidalgo *et al.* (2023) afirman que cuando la temperatura del ensilaje es igual o ligeramente superior a la del ambiente, indica una buena estabilización del proceso fermentativo. En la presente investigación, la temperatura promedio de los ensilajes fue de 25.18 °C, lo que demuestra que la estabilización de la fermentación fue adecuada en los tratamientos evaluados. Por otro lado, un valor de pH igual o menor a 4.5 indica una alta concentración de ácido láctico, lo que implica una mejor fermentación de los ensilados durante el período de ensilado (Hurtado *et al.*, 2020).

En el presente estudio se encontraron valores de pH de 3.8 y 3.77 para T1 y T2, respectivamente, lo que sugiere que la etapa reproductiva del maíz no influye en el pH de los ensilajes.

La composición química de los ensilados evaluados se presenta en la Tabla 2. Se observaron diferencias significativas en el contenido MS, siendo T2 el tratamiento con el valor más alto (40.85%) y T1 con el valor más bajo (29.91%). En cuanto a los valores de proteína PC, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p>0.05$ ). Respecto a la MO, el T2 presentó el valor más alto (95.66%). Para CE, los valores difirieron significativamente entre los tratamientos, con T1 mostrando el mayor contenido (5.39%). En lo referente a las fracciones de fibra, T2 presentó el mayor contenido FDN con un valor de 47.71%. Por otro lado, se observa que la etapa reproductiva del forraje al momento del ensilado influye en el porcentaje de almidón presente en los tratamientos, siendo el T2 (R5) el que mostró la mayor concentración de almidón.

En esta investigación, se observó que la acumulación de MS se incrementó a una tasa de 6.4 unidades porcentuales por semana, lo que equivale a un 0.91% diario. Este hallazgo concuerda con los estudios de Amador y Boschini (2000) y Solís y Castaño (2022), quienes indican que la edad de corte del maíz resulta en una acumulación de MS de alrededor de 0.1 a 1.0% por día. El aumento, probablemente se deba a la acumulación de grano en la planta de maíz. En este sentido, Ferrareto *et al.* (2018) señalaron que la edad de la planta influye en la conversión de azúcares en los granos a almidón, lo que incrementa el contenido de materia seca. Por su parte, Ramírez *et al.* (2024) evaluaron el efecto de la acumulación de MS y la calidad nutricional del forraje de maíz cosechado en diferentes días después de la siembra (121, 128, 135 y 142 días), concluyendo que la MS se incrementa linealmente con el avance de las fechas de cosecha, sin afectar el contenido de proteína cruda (PC). Estos resultados coinciden con los encontrados en este trabajo, donde el porcentaje de MS aumentó sin que los valores de PC mostraran ningún efecto significativo de la etapa reproductiva del cultivo. Además, los valores de PC estuvieron por encima del 7%, el cual es el contenido que, según Ali *et al.* (2019), deben tener los

**Tabla 2. Composición química y contenido de almidón (%) del ensilado de maíz a dos diferentes etapas reproductivas.**

Tratamiento	MS	PC	MO	CE	FDN	Almidón
T1	29.91±0.21 <sup>b</sup>	7.43±0.03 <sup>a</sup>	94.60±0.01 <sup>b</sup>	5.39±0.01 <sup>a</sup>	42.68±0.08 <sup>b</sup>	25.76±0.06 <sup>b</sup>
T2	40.85±0.34 <sup>a</sup>	7.52±0.05 <sup>a</sup>	95.66±0.02 <sup>a</sup>	4.33±0.02 <sup>b</sup>	47.71±0.05 <sup>a</sup>	27.85±0.07 <sup>a</sup>

Medias en la misma columna con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $p<0.05$ ). ±: Desviación estándar. MS: Materia seca; PC: Proteína cruda; CE: Cenizas; MO: Materia orgánica; FDN: Fibra detergente neutro. T1: ensilado de maíz a los 94 días (R4); T2: ensilado de maíz a los 106 días (R5).

ensilajes de maíz. Por otro lado, a medida que la planta de maíz madura, el contenido de Ce disminuye, lo que podría deberse al aumento en la producción de grano y, en consecuencia, a un mayor contenido de MO. Un fenómeno similar se observó con el almidón, cuyo contenido también aumentó en T2. Esto coincide con Dong *et al.* (2022), quienes afirman que, a mayor madurez en la cosecha del maíz para ensilaje, el azúcar del grano se transforma en almidón, lo que incrementa su contenido. En su estudio, se encontró que el grano en la fase R4 contenía un 30% de almidón, mientras que en la fase R5 este valor aumentó a 33%. Estos resultados superaron lo obtenido en la presente investigación y también fueron superiores a lo reportado por (Mancipe-Muñoz *et al.*, 2022), quienes evaluaron la calidad nutritiva de ensilajes de tres cultivares de maíz en la fase R4, reportando un promedio de almidón de 15.6%.

Por otro lado, en esta investigación se observó un aumento significativo en el contenido de FDN en T2 (47.41%), independientemente del contenido de almidón. García-Chávez *et al.* (2022), tras realizar una revisión sistemática sobre la calidad y rendimiento de ensilajes de maíz en distintas regiones del mundo, señalaron que el contenido de FDN tiende a aumentar con la madurez del cultivo. Esto podría estar relacionado con un incremento en la proporción de endospermo vítreo, el cual se asocia con una mayor madurez del grano. Además, el contenido de FDN también puede verse influenciado por el aumento en el contenido de fibra en los componentes vegetales de la planta, como hojas y tallos, a medida que estos maduran (De Souza *et al.*, 2021). Sin embargo, a pesar de este incremento, el contenido de FDN se mantuvo por debajo del 50%, lo que sugiere que un ensilaje de buena calidad (Ali *et al.*, 2019).

En la Tabla 3 se muestra el efecto del ensilado en las dos etapas reproductivas evaluadas sobre los parámetros y fracciones de fermentación ( $V_{máx}$ , S, L), así como la degradación *in vitro* de la materia seca a 24 horas (DGRMS<sub>24</sub>). En cuanto al volumen máximo de gas ( $V_{máx}$ ), el T2 registró el valor más alto, con  $424.57 \text{ mL g}^{-1}$  de MS ( $P<0.05$ ). Respecto a la tasa de fermentación (S), el T1 alcanzó la mayor velocidad, con  $0.036 \text{ h}^{-1}$  ( $P<0.05$ ). En lo referente al tiempo de adaptación de los microorganismos (L), el T2 inició la fermentación a las 5.02 h, con una tasa de  $0.033 \text{ h}^{-1}$ , mientras que el T1 comenzó a las 3.52 h después de la incubación ( $P<0.05$ ). Los resultados de la tabla evidencian que la etapa reproductiva del cultivo en la que se ensiló el forraje influyó en las fracciones de fermentación, observándose una mayor concentración de la fracción de fermentación rápida (FR) en el T1, mostrando un valor de  $174.082 \text{ mL g}^{-1}$ . En cuanto a fermentación media (FM) se observó una alta concentración en el T2 que presentó un valor de

$301.78 \text{ mL g}^{-1}$ . Respecto a la fermentación lenta (FL) el T2 obtuvo un valor de  $775.54 \text{ mL g}^{-1}$ , siendo el tratamiento con mayor concentración de FL seguido del T1 que presentó un valor de  $707.42 \text{ mL g}^{-1}$ . En términos de degradación *in vitro* de la materia seca a 24 horas (DGRMS<sub>24</sub>), el T1 obtuvo el mayor valor (51.04%), mientras que el T2 alcanzó un 46.62%.

**Tabla 3. Parámetros, fracciones de fermentación y degradación ruminal (%) *in vitro* del ensilado de maíz a dos diferentes etapas reproductivas.**

	T1	T2
$V_{máx} (\text{mL g}^{-1})$	$371.22 \pm 11.2$	$424.57 \pm 9.3^a$
MS)	b	
S ( $\text{h}^{-1}$ )	$0.036 \pm 0.001^a$	$0.033 \pm 0.001^b$
L (h)	$3.52 \pm 0.43^b$	$5.02 \pm 0.16^a$
FR ( $\text{g kg}^{-1}$ )	$174.08 \pm 4.75^a$	$145.76 \pm 6.84^b$
FM ( $\text{g kg}^{-1}$ )	$301.78 \pm 11^b$	$330.84 \pm 9.53^a$
FL ( $\text{g kg}^{-1}$ )	$707.42 \pm 12.4$	$775.54 \pm 18.9^a$
FT ( $\text{g kg}^{-1}$ )	$784.39 \pm 25.2$	$903.02 \pm 5.4^a$
DGRMS <sub>24</sub> (%)	$51.04 \pm 2.5^a$	$46.62 \pm 1.6^b$

Medias en la misma fila con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $P<0.05$ ). T1: ensilado de maíz a los 94 días (R4); T2: ensilado de maíz a los 106 días (R5).  $V_{máx}$ : Volumen máximo de gas; S: Tasa de fermentación; L: Fase Lag; FR: Fermentación rápida; FM: Fermentación media; FL: Fermentación lenta; FT: Fermentación total; DGRMS<sub>24</sub>: Degradación de la materia seca a 24 h.

El ensilado de maíz en estado R5 (T2) mostró una mayor producción de gas, posiblemente debido a su mayor concentración de almidón (Tabla 2). Sobalvarro-Mena *et al.* (2020) mencionan que la concentración de almidón está correlacionada con el volumen de gas producido durante la fermentación ruminal, ya que este componente se fermenta más lentamente que los azúcares, pero más rápidamente que la fracción fibrosa (Getachew *et al.*, 2004). Esto permite que la producción de gas se prolongue por más tiempo, resultando en una mayor producción de gas en comparación con el T1. En contraste, la tasa de fermentación fue mayor en el T1, lo que se relaciona con su mayor contenido de azúcares en el ensilaje (FR). Algunas investigaciones han señalado que la concentración de azúcar en el grano de maíz se transforma en almidón a medida que la planta madura (Kolar *et al.*, 2022; Ledenčan *et al.*, 2022). Esto coincide con los hallazgos de esta investigación, donde se observó que el FR es mayor en T1, mientras que la concentración de almidón es superior en T2 (Tabla 2), lo que a su vez se relaciona con un mayor contenido de FM en T2. Por otro lado, se observó que la edad de

cosecha del maíz influye en la FL, la cual está relacionada con el contenido de fibras. En este sentido, Peña *et al.*, (2023) señalan que la madurez de la planta de maíz afecta la concentración de fibras, lo que influye negativamente en la digestibilidad del ensilaje, lo que coinciden con los resultados de esta investigación, donde se observó que la edad de cosecha impacta la DGRMS<sub>24</sub>. Sin embargo, los valores obtenidos en este estudio fueron superiores a los reportados por Souza *et al.* (2021) quienes indicaron que la DGRMS<sub>24</sub> fue de 47.36% para el estado R4 y disminuyó a 43.41% en R5 en el ensilaje de maíz. Por otro lado, Horst *et al.* (2020) afirman que a medida que la planta de maíz madura, se acumulan más carbohidratos estructurales, por lo que el incremento de fibra no solo reduce la degradación de la MS, sino que también aumenta la producción de metano. Este efecto puede observarse en los resultados presentados en la Tabla 4, donde se estimó la emisión de gases de efecto invernadero mediante la técnica de gas *in vitro*

del ensilado de maíz. En ella, se evidencia que la etapa fisiológica de cosecha influye significativamente en la producción de metano y dióxido de carbono, registrando el T2 las mayores emisiones de GEI.

Si bien se ha señalado que un mayor contenido de almidón puede reducir la emisión de gases de efecto invernadero, especialmente de metano (Rosas-Dávila *et al.*, 2025, Peña-Avelino *et al.*, 2024), en la presente investigación no se observó dicha relación, ya que el T2, con mayor concentración de almidón (Tabla 2), presentó las emisiones más altas de GEI. Esto sugiere que otros factores, como la madurez de la planta al momento del ensilado tiene un impacto más determinante en la fermentación ruminal y la producción de GEI. Por ello, seleccionar el momento óptimo de cosecha no solo mejora la eficiencia en el aprovechamiento ruminal, sino que también puede contribuir a la mitigación del impacto ambiental.

**Tabla 4. Estimación de metano (mL g<sup>-1</sup> de sustrato) mediante la técnica de gas *in vitro* del ensilado de maíz a diferentes etapas reproductivas cultivado en Villaflores, Chiapas.**

Tratamiento	VT	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub> teórico
T1	102.71±4.6 <sup>b</sup>	86.28±1.4 <sup>b</sup>	12.67±3 <sup>b</sup>
T2	121.93±7.2 <sup>a</sup>	98.71±3.8 <sup>a</sup>	17.91±2.5 <sup>a</sup>

Medias en la misma columna con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, P<0.05); ±.: desviación estándar; VT: volumen total; CO<sub>2</sub>: bióxido de carbono; CH<sub>4</sub>teórico: metano teórico. T1: ensilado de maíz a los 94 días (R4); T2: ensilado de maíz a los 106 días (R5).

## CONCLUSIÓN

La concentración de almidón en el ensilado de maíz cosechado en la etapa R5 resultó en un aumento de las fracciones de fermentación media y lenta. Sin embargo, esta etapa no redujo la producción de gases de efecto invernadero y mostró una disminución en el porcentaje de degradación de la materia seca. En contraste, el ensilado en la etapa R4 presentó una mejor degradación de la materia seca y menores emisiones de gases de efecto invernadero.

**Funding.** This work had no external funding to declare.

**Conflict of interest.** Nothing to declare.

**Data availability.** The data is available from the corresponding author upon reasonable request.

**Compliance with ethical standards.** The experimental procedures were approved by the ethics and animal welfare committee of the Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas.

**Author contribution statement (CRediT).** R. Ramírez-Díaz – Writing – original draft, methodology. R. Pinto-Ruiz – Conceptualization, Writing – review and editing. F.J. Medina- Jonapá – writing – review and editing. A. Hernández-López – writing – review and editing. D. Raj-Aryal – Supervision, data curation. L.F. Molina-Paniagua – Data curation, validation.

## REFERENCES

- Ali, W., Nadeem, M., Ashiq, W., Zaeem, M., Thomas, R., Kavanagh, V. and Cheema, M., 2019. Forage yield and quality indices of silage-corn following organic and inorganic phosphorus amendments in podzol soil under boreal climate. *Agronomy*, 9(9). pp. 489-508. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090489>

- Amador, A.L. and Boschini, C., 2000. Fenología productiva y nutricional de maíz para la producción de forraje. *Agronomía Mesoamericana*, 11(1), pp. 171–177. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43711126>

- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R.J., Holmes, B.J. and Muck, R.E., 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), pp. 3952–3979.  
<https://doi.org/10.3168/JDS.2017-13837>
- De Souza, A.M., Neumann, M., Bumbieris Junior, V.H., Manchur, A. D., Pontarolo, G.B., Heker Junior, J.C., Gavlak, T.F. and Plodoviski, D.C. (2021). Effect of advancing maturity stages of corn for silage on chemical characterization, digestibility and production costs. *Semina: Ciencias Agrarias*, 42(1), pp. 283–300. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n1p283>
- Delgado-Ramírez, G., Bolaños-González, M.A., Quevedo-Nolasco, A., López-Pérez, A. and Estrada-Ávalos, J., 2023. Estimating the crop coefficient of forage maize using remote sensing. *Ingeniería agrícola y biosistemas*, 15(1), pp. 17–35. <https://doi.org/10.5154/R.INAGBI.2022.09.075>
- Dong, J., Li, S., Chen, X., Sun, Z., Sun, Y., Zhen, Y., Qin, G., Wang, T., Demelash, N. and Zhang, X., 2022. Effects of Lactiplantibacillus plantarum inoculation on the quality and bacterial community of whole-crop corn silage at different harvest stages. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9, p. 57. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00326-y>
- Ferraretto, L.F., Shaver, R.D. and Luck, B.D., 2018. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *Journal of Dairy Science*, 101 (5), pp. 3937–3951. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13728>
- Ferrero, F., Tabacco, E., Piano, S., Casale, M. and Borreani, G., 2021. Temperature during conservation in laboratory silos affects fermentation profile and aerobic stability of corn silage treated with *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus hilgardii*, and their combination. *Journal of Dairy Science*, 104(2), pp. 1696–1713. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18733>
- García-Chávez, I., Meraz-Romero, E., Castelán-Ortega, O., Zaragoza-Esparza, J., Avalos, J.O., Jiménez, L.E.R. and González-Ronquillo, M., 2022. Corn silage, a systematic review of the quality and yield in different regions around the world. *Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 23(3), p. e2547. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol23\\_num3\\_art2547](https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num3_art2547)
- Getachew, G., Robinson, P.H., DePeters, E.J. and Taylor, S.J., 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 111(1–4), pp. 57–71. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00217-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00217-7)
- Gusmão, J.O., Lima, L.M., Ferraretto, L.F., Casagrande, D.R. and Bernardes, T.F., 2021. Effects of hybrid and maturity on the conservation and nutritive value of snaplage'. *Animal Feed Science and Technology*, 274, p. 114899. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2021.114899>
- Hidalgo, P., Macay Anchundia, M., Molina Hidrovo, C. and Taipe Taipe, M.V., 2023. Genotipos de maíz para la producción y conservación de forraje en forma de ensilaje. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(7), pp. 358–371. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i7.946>
- Horst, E.H., López, S., Neumann, M., Giráldez, F.J. and Bumbieris Junior, V.H., 2020. Effects of hybrid and grain maturity stage on the ruminal degradation and the nutritive value of maize forage for silage. *Agriculture (Switzerland)*, 10(7), pp. 1–17. <https://doi.org/10.3390/agriculture10070251>
- Hurtado, E. A., Arteaga-Chávez, F., Zambrano-Zambrano, B.A. and Vera-Mendoza, A.J., 2020. Inoculación de *Lactobacillus plantarum* para la fermentación y conservación del ensilaje de maíz. *Revista ESPAMCIENCIA*, 11(2), pp. 108–114. [https://doi.org/https://doi.org/10.51260/revista\\_espmciencia.v11i2.237](https://doi.org/https://doi.org/10.51260/revista_espmciencia.v11i2.237)
- Kolar, S., Vranić, M., Božić, L., Krapinec, K., Starčević, K., Mašek, T. and Bošnjak, K., 2022. The effect of maize silage maturity and cutting height on dairy cow and beef cattle performance. *Stočarstvo: Časopis za unapređenje stočarstva*, 76(1-2), pp. 20-33. <https://doi.org/10.33128/s.76.1-2.3>
- Ledenčan, T., Horvat, D., Špoljarić Marković, S., Svečnjak, Z., Jambrović, A. and Šimić, D., 2022. Effect of harvest date on kernel quality

- and antioxidant activity *in sul* sweet corn genotypes. *Agronomy*, 12(5), p. 1224. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051224>
- Mancipe-Muñoz, E. A., Castillo-Sierra, J., Vargas-Martínez, J. de J. and Avellaneda-Avellaneda, Y., 2022. Calidad composicional del ensilaje de tres cultivares de maíz (*Zea mays*) del trópico alto colombiano. *Agronomía Mesoamericana*, 33(2). <https://doi.org/10.15517/am.v33i2.46412>
- Menke, K. and Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, pp. 7–55. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573387450798066432>
- Miranda-Romero, L.A., Sandoval-González, L. and Amendola-Massiotti, R., 2015. Producción de gas como método para estimar *in vitro* la concentración de carbohidratos fermentables en rumen. In *XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Puerto Varas, Chile, 9-13 Noviembre, 2015. p. 146 [https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs\\_files/article/download/2651/1066/](https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs_files/article/download/2651/1066/)
- Moate, P. J., Clarke, T., Davis, L. H. and Laby, R. H., 1997. Rumen gases and bloat in grazing dairy cows. *The Journal of Agricultural Science*, 129(4), pp. 459–469. <https://doi.org/10.1017/S0021859697004930>
- Official Methods of Analysis, 1990. *Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*. 15th edn. Washington DC. <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>
- Peña, O.M., Velásquez, C., Ferreira, G. and Aguerre, M.J., 2023. Yield, Nutritional Composition, and *in vitro* Ruminal Digestibility of Conventional and Brown Midrib (BMR) Corn for Silage as Affected by Planting Population and Harvest Maturity. *Agronomy*, 13(5), p. 1414. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051414>
- Peña-Avelino, L.Y., Alva-Pérez, J., Rosales-Martínez, G.N., Hernández-Contreras, S. and Ceballos-Olvera, I., 2024. Estrategias de nutrición y alimentación para reducir las emisiones de metano en rumiantes bajo sistemas pastoriles. *Ciencias Veterinarias y Producción Animal*, 1(2), pp. 60–73. <https://doi.org/10.29059/cvpa.v1i2.18>
- Ramírez Díaz, R., Pinto Ruiz, R., Guevara Hernández, F., Venegas Venegas, J. A., Reyes Sosa, M. B. y Miranda Romero, L.A., 2021. Efecto del método de extracción del líquido ruminal en la técnica de gas *in vitro*. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 38, pp. 680–690. [https://doi.org/https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v38.n3.12](https://doi.org/https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v38.n3.12)
- Ramírez, D. E., Olmos Colmenero, J. de J., Peña Ramos, A., Sánchez Duarte, J. I., Medina Núñez, E., Gallardo Ramírez, S. and Santana, O. I., 2024. Dry matter accumulation, yield, and nutritional quality of forage of corn hybrids harvested at different days after sowing. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 15(2), pp. 287–301. <https://doi.org/10.22319/rmc.v15i2.6554>
- Rosas-Dávila, M., Morales-Almaraz, E., López-González, F. and Arriaga-Jordan, C.M., 2025. Estimación de metabolitos secundarios y emisiones de metano en ensilados de sorgo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 28(1), p. 018. <https://doi.org/10.56369/taes.5746>
- Sandoval, L., Miranda, L.A., Lara, A., Huerta, M., Uribe, M. y Martínez, M.M., 2016. Fermentación *in vitro* y la correlación del contenido nutrimental de leucaena asociada con pasto estrella. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(SPE16), pp. 3185–3196. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342016001203185&lng=es&nrm=iso&tln\\_g=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016001203185&lng=es&nrm=iso&tln_g=es)
- SAS (2003) *User's Guide: Statistics, Version 9*. 6th Edition. Edited by Inc., C.N. SAS Inst. USA. Available at: [https://www.sas.com/en\\_us/software/stat.html](https://www.sas.com/en_us/software/stat.html)
- 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(11), pp. 3455–3463. <https://doi.org/10.2527/1995.73113455X>
- Sobalvarro-Mena, J.L., Elizondo-Salazar, J.A. y Rojas-Bourillón, A., 2020. La producción de gas *in vitro* para estimar la energía neta de

- lactancia. *Agronomía Mesoamericana*, 31(2), pp. 311–328.  
<https://doi.org/10.15517/am.v31i2.38497>
- Solís, L.A. y Castaño, E., 2022. Efectos de los niveles de fertilización, distancias de siembra y momentos de corte sobre la calidad nutricional del ensilaje de maíz Palabras clave adicionales. *Archivos de Zootecnia*, 71(273), pp. 18–22.
- 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.  
[https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(91)78551-2)