



Estudio sobre ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) como opción forrajera en valles altos de México †

[Study of kikuyu grass (*Cenchrus clandestinus*) silage as a forage alternative in the highlands of central Mexico]

Ana Estefanía Sánchez-Martín¹, Aurora Sainz-Ramírez^{*1},
Alejandro Adelaido Morales-Cruz², Felipe López-González¹
and Carlos Manuel Arriaga-Jordán¹

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (ICAR), Universidad Autónoma del Estado de México, Campus UAEM El Cerrillo, El Cerrillo Piedras Blancas, CP: 50295. Toluca, Estado de México, México. E-mails: asainzr@profesor.uaemex.mx^{*}; flopezg@uaemex.mx; cmarrigaj@uaemex.mx

²Universidad Politécnica del Valle de Toluca (UPVT), Carretera Toluca-Almoloya de Juárez Km. 5.6, Santiaguito Tlalcilcali, Almoloya de Juárez, Estado de México, México. E-mail: alexademor@gmail.com

^{*} Corresponding author

SUMMARY

Background: Kikuyu grass (*Cenchrus clandestinus*) is a tropical forage adapted to the highlands of Mexico, valued for its high yield, drought tolerance, and low cost. Ensiling allows for the utilization of surplus biomass during the rainy season, and its quality can be improved through wilting and inoculants. Studies on its use as silage in Mexico are limited; thus, assessing its nutritional value is necessary. **Objective:** To evaluate the chemical composition and nutritional quality of Kikuyu grass silage in relation to the use of additives and pre-wilting prior to ensiling. **Methodology:** Two experiments were conducted using a 2x2 factorial design in microsilos. Exp. 1 evaluated a bacterial inoculant, molasses (5%), and their combination. Exp. 2 evaluated the inoculant, pre-wilting (24 h), and their interaction. Chemical composition (DM, OM, NDF, ADF, and CP), *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), pH, fungal growth, and effluent losses were analyzed. **Results:** In Exp. 1, molasses significantly increased dry matter content but resulted in higher effluent production; it also reduced NDF and ADF, improved IVDMD, and lowered pH and CP. The inoculant reduced both CP and IVDMD; however, molasses counteracted the inoculant's negative effect on IVDMD. Their combination increased fungal growth. In Exp. 2, pre-wilting increased DM, improved IVDMD, and decreased fungal colony counts. The inoculant increased NDF and ADF while reducing IVDMD. The interaction showed that the inoculant only reduced IVDMD in non-wilted silages. **Implications:** The decision to employ wilting or inoculants must be based on the initial DM content of the forage. Furthermore, evaluating optimal molasses doses is recommended to minimize effluents and maximize benefits. **Conclusion:** Molasses demonstrated the greatest benefits in fermentation and digestibility, despite the risk of effluents. Additive combinations may have antagonistic effects (e.g., molasses + inoculant on fungal growth). Pre-wilting also improved digestibility.

Keywords: chemical composition; inoculants; wilting; digestibility.

RESUMEN

Antecedentes: El kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) es un pasto tropical adaptado a zonas altas de México, valioso por su alta producción, tolerancia a sequías y bajo costo. Su ensilaje permite aprovechar excedentes en época de lluvias, siendo mejorado con pre-marchitamiento e inoculantes. El estudio de su uso como ensilado en México es limitado, por lo que es necesario conocer su valor nutricional. **Objetivo/hipótesis:** Conocer la composición química del ensilado de pasto kikuyo, determinar su calidad nutricional con relación al uso de aditivos y al pre-marchitamiento previo al ensilaje. **Metodología:** Se realizaron dos experimentos bajo un diseño factorial 2x2, usando microsilos. El Exp. 1 evaluó inoculante bacteriano, melaza (5%) y su combinación. El Exp. 2 evaluó inoculante, pre-marchitamiento (24 h) y su interacción. Se analizó la composición química (MS, MO, FDN, FDA y PC), digestibilidad *in vitro* de la materia

† Submitted October 17, 2025 – Accepted May 12, 2026. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6660>



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

ISSN: 1870-0462.

ORCID = A. Sainz-Ramírez: <https://orcid.org/0000-0002-8566-8653>; A.A. Morales-Cruz: <https://orcid.org/0009-0008-6050-4493>; F. López-González: <https://orcid.org/0000-0002-5518-5458>; C.M. Arriaga-Jordán: <https://orcid.org/0000-0002-6140-0847>

seca (DIVMS), pH, crecimiento fúngico y pérdidas por efluentes. **Resultados:** En el Exp.1, la melaza aumentó significativamente el contenido de materia seca, pero generó mayor producción de efluentes, además redujo la FDN y FDA, mejoró la DIVMS, además disminuyó el pH y PC; el inóculo también disminuyó la PC, además de la DIVMS; la melaza contrarrestó el efecto negativo del inóculo en la DIVMS, y su combinación aumentó el crecimiento fúngico. Para el Exp. 2, el pre-marchitamiento aumentó la MS, mejoró la DIVMS y disminuyó el número de colonias fúngicas; el inóculo aumentó la FDN y FDA y redujo la DIVMS; su interacción mostró que el inóculo solo reduce la DIVMS en ensilados no pre-marchitados. **Implicaciones:** La decisión de emplear pre-marchitamiento o inóculos debe estar basada en el contenido inicial de MS del forraje. De igual forma, se recomienda evaluar dosis óptimas de melaza para minimizar efluentes y maximizar beneficios. **Conclusión:** La melaza demostró mayores beneficios en fermentación y digestibilidad, aunque con riesgo de efluentes. La combinación de aditivos puede tener efectos antagónicos (ej. melaza + inóculo en crecimiento fúngico). El pre-marchitamiento previo también mejoró la digestibilidad. **Palabras clave:** composición química; inoculantes; pre-marchitamiento; digestibilidad.

INTRODUCCIÓN

El kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) es una gramínea tropical, originaria del este de África, que fue introducido a diversas áreas de México a partir de los años 50's, especialmente en zonas tropicales y templadas. Es un pasto altamente productivo y bien adaptado al pastoreo, por ende, es principalmente usado como forraje para el ganado (Plata-Reyes *et al.*, 2021, Villalobos-Villalobos y Arce-Cordero, 2016). El kikuyo es clave en sistemas lecheros de pequeña escala en zonas altas (≈ 2440 msnm) por su adaptación al clima subhúmedo templado, cuando tiene un crecimiento vigoroso reduce costos de alimentación, aunque compite con pastos templados debido a su naturaleza invasiva (Marín-Santana *et al.*, 2020).

Además, muestra una notable tolerancia a la sequía, manteniendo la actividad de crecimiento a temperaturas superiores a 23 °C, lo que lo hace especialmente valioso en verano-otoño en sistemas sin riego; sin embargo, su crecimiento se detiene por debajo de 12 °C, lo que limita su persistencia en invierno y primavera (Teixeira *et al.*, 2024). Es por eso que su composición química se ve afectada según la estación del año, principalmente en cuanto al contenido de materia seca (MS) y materia orgánica (MO) (Marín-Santana *et al.*, 2023). Su adaptabilidad a condiciones cálidas y su producción persistente de forraje en verano-otoño permiten reducir costos al sustituir parte de los insumos concentrados (Plata-Reyes *et al.*, 2021). Su rápida producción de materia seca y su persistencia estacional lo convierten en una opción estratégica para cubrir déficits de forraje en estaciones cálidas y secas, reduciendo la dependencia de suplementos externos (Teixeira *et al.*, 2024).

El pasto kikuyo tiene la ventaja de, en el centro de México, estar establecido de forma natural, sin labranza; con una alta producción de forraje en verano, siendo similar a la de los pastos templados en cuanto a rendimiento y composición química (Marín-Santana *et al.*, 2020). Su alta tolerancia a las sequías lo hace especialmente importante en regiones donde otras especies no prosperan fácilmente, como zonas de clima

cálido con veranos secos; su habilidad para crecer cuando otras especies disminuyen lo convierte en una especie estratégica para llenar vacíos estacionales en la producción forrajera (Teixeira *et al.*, 2024).

El ensilaje de kikuyo puede ser una alternativa para aprovechar los excedentes de biomasa durante las épocas de lluvia, ya que tiene una buena valoración nutricional cuando es bien manejado (por ejemplo, al tener intervalos entre cortes más largos para así aumentar su rendimiento). Generalmente, el uso de inoculantes microbianos y de aditivos pueden ayudar a mejorar el proceso de fermentación del kikuyo en ensilaje, aunque los resultados varían (Avellaneda-Avellaneda *et al.*, 2023, Villalobos-Villalobos y Arce-Cordero, 2016), mientras que el pre-marchitamiento puede mejorar significativamente la calidad del ensilaje, ya que mejora la digestibilidad.

Los aditivos para ensilaje se dividen en restrictores y estimuladores de la fermentación. Los restrictores inhiben microorganismos indeseables mediante bacterias lácticas o acción bacteriostática, como los ácidos y sales orgánicas e inorgánicas. Los estimuladores, como inoculantes, enzimas, nutrientes y absorbentes, mejoran la digestibilidad y el metabolismo ruminal. Los inoculantes incluyen bacterias como *Lactobacillus* y *Streptococcus*, y los sustratos abarcan melazas, glucosa, sacarosa, cereales y pulpas de betabel y cítricos (Martínez-Fernández *et al.*, 2014). Por su parte, el pre-marchitamiento previo al ensilaje, o marchitado (en inglés, "wilting"), consiste en exponer el forraje recién cortado durante un tiempo determinado para reducir su contenido de humedad antes de empacarlo en condiciones anaerobias para su conservación como ensilado, siendo su objetivo principal el aumento de MS (Chen *et al.*, 2022).

La información documentada sobre ensilados de pasto kikuyo en los Valles Altos de México es escasa, por lo cual resulta importante conocer acerca de su composición química. Este estudio tiene como objetivo evaluar las características fermentativas y nutritivas del ensilado de pasto kikuyo (*Cenchrus*

clandestinus) cultivado en valles altos de México, determinó el efecto del uso de aditivos, además de evaluarlo cuando se realiza un pre-marchitamiento previo al ensilado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para ambos experimentos se utilizó pasto kikuyo procedente del bordo “Las Maravillas”, ubicado en el Campus “El Cerrillo” de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx) (19°24'28.9"N 99°41'31.1"W, a 2,611 msnm, un intervalo de 600 a 1200 mm de precipitaciones anuales, con clima templado y un intervalo de temperatura de 7°C a 14.5°C al año según datos de Morales-Ruiz y Díaz-López, (2020)) mismo que no se sometió a ningún tipo de fertilización ni control de malezas.

Experimento 1

La cosecha del forraje tuvo lugar el 26 de agosto de 2023, durante la época de lluvias (con un clima con un intervalo de 13.5 a 18 °C y un intervalo de 1200 mm de precipitaciones (Morales-Ruiz y Díaz-López, 2020)), realizando el corte a 5 cm del suelo en un área de 40 m², previo al corte del forraje se realizó su medición utilizó un medidor de plato ascendente, registrando 55 alturas (en cm). El pasto cosechado correspondía a la biomasa disponible al momento del muestreo, producto del crecimiento generado tras el inicio de la temporada de lluvias.

El mismo día, el forraje fue procesado en una picadora para obtener partículas de aproximadamente 5 cm. Posteriormente, se prepararon silos en tubos de PVC de 2.5 L, colocando 2.2 kg de forraje fresco en cada uno, siguiendo la metodología descrita por Sainz-Ramírez *et al.* (2020). Se elaboraron 20 microsilos de laboratorio, distribuidos en cuatro tratamientos con cinco repeticiones cada uno. Se registró el peso del forraje al momento del ensilado y después de la apertura de los silos a los 35 días.

El material cosechado se dividió en cuatro partes de aproximadamente 11 kg cada una, aplicó aditivos y mezcló manualmente según lo siguiente:

- I: Inoculante bacteriano Biosile®, compuesto por *Pedococcus pentosaceus* y *Lactobacillus plantarum*, a una dosis de 1×10^5 ufc/g de forraje, según las indicaciones del fabricante.
- M: Melaza al 5% del peso del forraje fresco (Mühlbach, 2001).
- I/M: Combinación del inoculante a una dosis de 1×10^5 ufc/g de forraje y melaza al 5% del peso del forraje fresco.
- C: Testigo sin aditivos.

Análisis químico

Siguiendo el procedimiento de Elshereef *et al.* (2020), se tomaron 500 g de muestra de cada ensilado en fresco, posteriormente las muestras fueron secadas en una estufa a 55°C hasta alcanzar un peso constante para determinar materia seca (MS) y se molieron en un molino Pulvex y pasaron por un tamiz de 1 mm para obtener una granulometría uniforme.

La fibra detergente neutro (FDN) con alfa-amilasa, fibra detergente ácido (FDA) y proteína cruda (PC) se realizaron mediante el método de Kjeldahl ($N \times 6.25$), siguiendo la metodología de Van Soest *et al.* (1991). Las cenizas (CN) se determinaron por incineración a 550°C (AOAC, 1990). La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) se evaluó con la técnica de microbolsa (Ankom Technology, 2005) en un fermentador Ankom Daisy, utilizó líquido ruminal obtenido por sonda nasogástrica de tres vacas lecheras donantes.

Las pérdidas de materia seca y efluentes se calcularon por diferencia siguiendo la metodología de Jobim *et al.* (2007). El pH del ensilado se midió con un electrodo de pH para evaluar calidad y estabilidad en la fermentación, en el momento de la apertura de los silos.

Análisis de crecimiento de colonias fúngicas

Para evaluar la calidad del ensilado, se cuantificó el crecimiento de hongos mediante conteo visual de colonias en cada microsilo tras su apertura. El área evaluada fue la parte externa de cada ensilado; al sacarlos de los tubos de PVC, se observó la formación de colonias como un conglomerado fúngico redondo de tamaño variable, es decir, cada crecimiento de forma circular correspondía a una colonia, posteriormente este valor se transformó a logaritmo 10 para poder ser procesado en el ANOVA (los cuales fueron presentados en las tablas de esa misma forma). El tamaño de las colonias se midió con una regla graduada, registrando el diámetro en centímetros.

Análisis estadístico

El diseño experimental fue un factorial 2x2, con cuatro tratamientos (control, inóculo, melaza y melaza/inóculo), dando como resultado dos niveles con dos factores. Se realizó el diseño conforme a lo descrito por Kaps y Lamberson (2004), siendo el modelo el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = observación k en el nivel i del factor A y el nivel j del factor B .

μ = media general (media global).

A_i = efecto del nivel i del factor A

B_j = efecto del nivel j del factor B .

$(AB)_{ij}$ = efecto de la interacción entre el nivel i del factor A y el nivel j del factor B .

ε_{ijk} = error aleatorio con media 0 y varianza σ^2

a = número de niveles del factor A ; b = número de niveles del factor B ; n = número de observaciones para cada combinación $A \times B$.

Se realizó con el programa MiniTab 19.

Experimento 2

Para el Experimento 2 se realizó el corte del pasto el día 14 de marzo de 2024, a finales de invierno y a finales de la época seca, donde se tienen valores de 600 mm de precipitaciones y temperaturas que van de 8 a 12 °C (Morales-Ruiz y Díaz-López, 2020) usando la mitad de la materia fresca para realizar los silos ese mismo día, la altura de corte fue a 5 cm del suelo, con un área de 45m², previo al corte del forraje se realizó su medición utilizó un medidor de plato ascendente, registrando 55 alturas (en cm). La otra mitad se dejó secando 24 horas, sobre una cubierta de plástico en el suelo, en un lugar cerrado, a temperatura ambiente, realizándose los silos el 15 de marzo de 2024. Se prepararon en tubos de PVC con 2.2 kg de materia fresca, siguiendo la metodología descrita por Sainz-Ramírez *et al.* (2020). Se realizó un tratamiento para los silos con pre-marchitamiento y un tratamiento para silos sin pre-marchitamiento, además de los silos con inóculo y sin inóculo, cada uno con 5 repeticiones.

Tratamientos

- I: Inoculante bacteriano Biosile®, compuesto por *Pediococcus pentosaceus* y *Lactobacillus plantarum*, a una dosis de 1×10^5 ufc/g de forraje según las recomendaciones del fabricante, sin pre-marchitamiento.

- S: Forraje con pre-marchitamiento 24 h antes de ensilar.
- IxS: Inoculante bacteriano Biosile®, compuesto por *Pediococcus pentosaceus* y *Lactobacillus plantarum*, a una dosis de 1×10^5 ufc/g de forraje según las recomendaciones del fabricante, y pre-marchitamiento por 24 horas.
- C: Testigo sin aditivos ni pre-marchitamiento.

Los análisis químicos, fúngicos y estadísticos, fueron los mismos que se realizaron para el Experimento 1.

RESULTADOS

Experimento 1

Los resultados presentados en la Tabla 1 señalan diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de materia seca (MS) según el aditivo utilizado y de la interacción entre ambos. La interacción (Figura 1) muestra que la adición de melaza tiene un efecto sobre el aumento de la MS, pero este efecto se ve disminuido por la presencia del inóculo.

En cuanto a la fibra detergente neutro (FDN), los resultados presentados en la Tabla 1 muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) tanto por el efecto de la melaza como por su interacción con el inóculo. La Figura 2 indica una interacción; la melaza, al actuar sola, favorece una disminución de los componentes fibrosos, mientras que el inóculo por sí solo no contribuyó a esta reducción, por ende, se observa que la interacción entre melaza e inóculo resultó en una disminución de FDN. En el caso de la fibra detergente ácida (FDA) los resultados presentados en la Tabla 1, reflejaron diferencias significativas ($P < 0.05$) tanto por efecto principal de la melaza como por su interacción con el inóculo; en la Figura 3 observamos esta interacción, indicativa de que, en presencia de la melaza, el inóculo contribuye a una mayor reducción de la FDA.

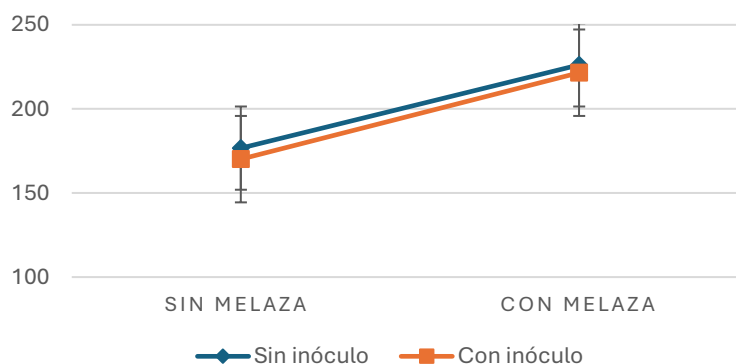


Figura 1. Interacción melaza e inóculo sobre el contenido de materia seca (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*).

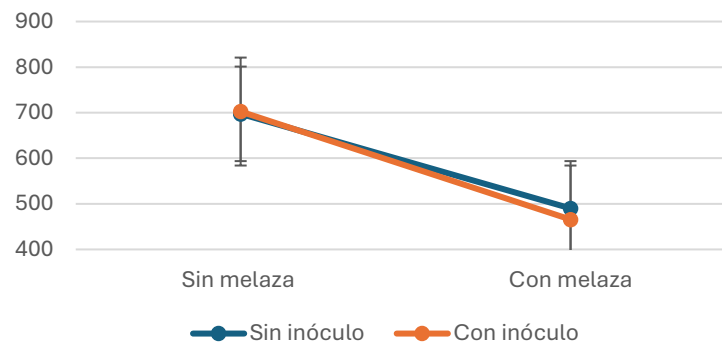


Figura 2. Interacción melaza e inóculo sobre el contenido de fibra detergente neutra (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*).

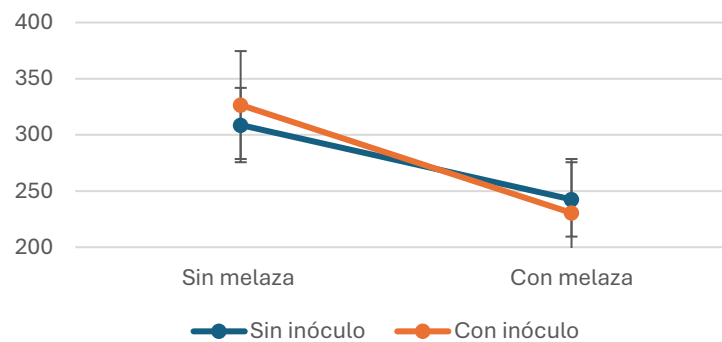


Figura 3. Interacción melaza e inóculo sobre el contenido de fibra detergente ácida (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*).

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de proteína cruda (PC) dependiendo del uso de melaza, del uso del inóculo y de la interacción entre ambos (Tabla 1). La Figura 4 indica una interacción antagónica, Sin melaza, el inóculo reduce la PC y la melaza sola también la reduce, sin embargo, el efecto de la PC es diferente dependiendo de la presencia de la melaza.

Los resultados presentados en la Tabla 1 muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), tanto en función del uso de melaza, del inóculo, como de la interacción entre ambos. Se puede observar que hay una interacción clara y relevante (Figura 5), ya que la melaza por sí sola aumenta la digestibilidad y, por el contrario, el inóculo solo, la disminuye; cuando se combinan, la melaza compensa el efecto negativo del inóculo, manteniendo una alta digestibilidad.

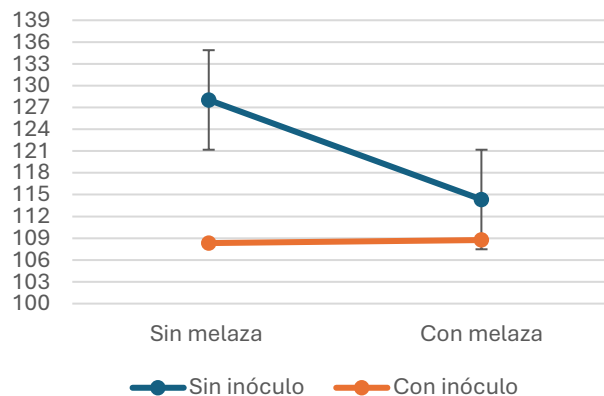
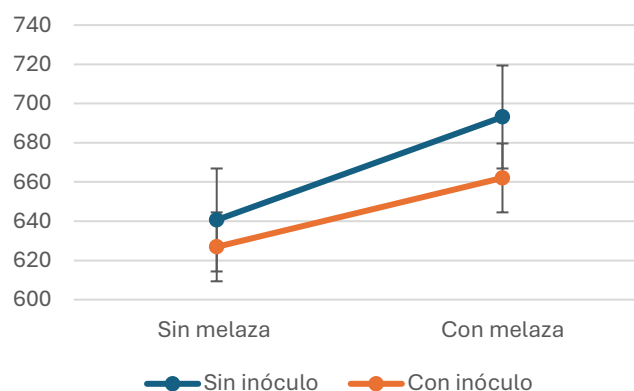


Figura 4. Interacción melaza e inóculo sobre el contenido de proteína cruda (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*).

Tabla 1. Composición química de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) del experimento 1.

	Tratamiento	Melaza		Media	EEM _I
		Con melaza	Sin melaza		
Materia seca (g/kg MS)	Sin inóculo	226.1	176.6	201.4	9.0*
	Inóculo	221.5	170.1	195.8	
	Media	223.8	173.4		
	EEM _M		79.5*		
	EEM _{I*M}		1.2*		
Materia orgánica (g/kg MS)	Sin inóculo	859.2	853.5	856.3	1.0 ^{NS}
	Inóculo	861.0	850.4	855.7	
	Media	860.1	851.9		
	EEM _M		12.8*		
	EEM _{I*M}		2.7 ^{NS}		
FDN (g/kg MS)	Sin inóculo	490.0	697.4	593.7	15.3 ^{NS}
	Inóculo	465.6	702.4	579.5	
	Media	477.8	699.9		
	EEM _M		351.1*		
	EEM _{I*M}		16.4*		
FDA (g/kg MS)	Sin inóculo	242.5	308.7	275.6	4.5 ^{NS}
	Inóculo	230.5	326.5	278.5	
	Media	236.5	317.6		
	EEM _M		128.2*		
	EEM _{I*M}		16.6*		
PC (g/kg MS)	Sin inóculo	114.3	128.0	121.1	10.2*
	Inóculo	108.7	108.3	108.5	
	Media	111.5	118.2		
	EEM _M		20.2*		
	EEM _{I*M}		7.6*		
DIVMS (g/kg MS)	Sin inóculo	693.1	640.6	666.8	51.1*
	Inóculo	662.0	626.9	644.5	
	Media	677.6	633.7		
	EEM _M		99.0*		
	EEM _{I*M}		12.9*		

I/M: Inóculo con melaza. FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácida. PC: proteína cruda. DIVMS: Digestibilidad in vitro de la materia seca. EEM_I: Error estándar de la media del inóculo, EEM_M: Error estándar de la media de la melaza, EEM_{I*M}: Error estándar de la media de la interacción melaza e inóculo. *: $P \leq 0.05$. NS: $P > 0.05$

**Figura 5. Interacción melaza e inóculo sobre la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)**

Los resultados presentados en la Tabla 2 muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en el pH del ensilado únicamente por efecto de la melaza. La

adición de melaza contribuyó a una mayor acidificación del ensilado, reflejada en valores promedio de pH más bajos en comparación con los

tratamientos sin este aditivo. El uso del inóculo y su interacción con la melaza no mostraron efectos significativos (Figura 1-supl, material suplementario).

Hubo diferencias significativas ($P<0.05$) en el tamaño de colonias fúngicas por el uso de inóculo y por efecto de la interacción entre melaza e inóculo. Observamos una interacción sinérgica negativa, ya que el inóculo por sí solo no tiene efecto sobre el tamaño de las colonias, sin embargo, su combinación con melaza produce un crecimiento fúngico mayor (Figura 6).

La producción de efluentes mostró diferencias significativas ($P<0.05$) (Tabla 2). (Figura 2-supl, material suplementario) únicamente con el uso de melaza. La inclusión de melaza incrementó la producción de efluente en comparación con los tratamientos sin este aditivo. Ni el uso del inóculo ni la interacción entre factores mostraron efectos significativos.

No hubo diferencias significativas ($P>0.05$) en el número de colonias fúngicas ni por el uso de aditivos ni su interacción (Tabla 2). (Figura 3-supl, material suplementario).

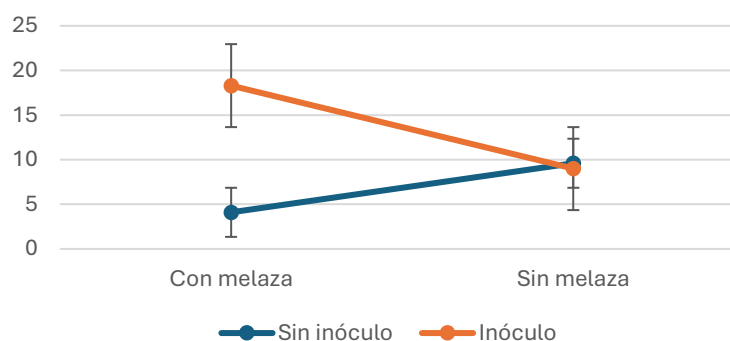


Figura 6. Interacción melaza e inóculo sobre tamaño (cm) de colonias en ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

Tabla 2. Número de colonias fúngicas, tamaño de colonias, efluentes y pH de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) del experimento 1.

	Tratamiento	Melaza		Media	EEM _I
		Con melaza	Sin melaza		
pH	Sin inóculo	3.6	4.4	4.0	0.0 ^{NS}
	Inóculo	3.6	3.2	3.4	
	Media	3.6	3.8		
	EEM _M		0.11*		
	EEM _{I*M}		0.0 ^{NS}		
Número de colonias (conteo visual)	Sin inóculo	2.2	3.2	2.7	0.1 ^{NS}
	Inóculo	4.0	2.6	3.3	
	Media	3.1	2.9		
	EEM _M		0.2 ^{NS}		
	EEM _{I*M}		0.1 ^{NS}		
Tamaño de colonias (cm)	Sin inóculo	4.1	9.6	6.8	0.5*
	Inóculo	18.3	9.0	13.6	
	Media	11.2	9.3		
	EEM _M		0.1 ^{NS}		
	EEM _{I*M}		0.5*		
Efluentes (ml/100g)	Sin inóculo	3.4	0.8	2.1	0.1 ^{NS}
	Inóculo	5.6	0.7	3.1	
	Media	4.5	0.7		
	EEM _M		1.1*		
	EEM _{I*M}		0.1 ^{NS}		

EEM_I: Error estándar de la media del inóculo, EEM_M: Error estándar de la media de la melaza, EEM_{I*M}: Error estándar de la media de la interacción melaza e inóculo. *: $P\leq 0.05$. NS: $P>0.05$.

Nota: Para la variable de número de colonias, el número total se transformó a log10 para ser analizado en el ANOVA, mismo que se presenta de esta forma en la tabla.

Experimento 2

Los resultados presentados en la Tabla 3 indican diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de materia seca (MS) únicamente en función del uso del inóculo. El pre-marchitamiento aumenta la MS, y la adición de inóculo tiene un efecto mínimo sobre esta, así que el efecto del pre-marchitamiento sobre la MS es independiente de la presencia de inóculo (Figura 4-supl, material suplementario). Para materia orgánica (MO), hubo diferencias significativas únicamente con la existencia del pre-marchitamiento. El pre-marchitamiento disminuye la MO, mientras que el inóculo la aumenta ligeramente, aunque estos efectos son independientes uno del otro. (Tabla 3), (Figura 5-supl material suplementario).

Se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de fibra detergente neutro (FDN) sólo en los ensilados secados. Se observó un mayor contenido de FDN en los ensilados que combinaron el uso de inóculo sin pre-marchitamiento, mientras que el valor más bajo correspondió a los tratamientos secados sin inóculo (Figura 6-supl, material suplementario). En cuanto a la fibra detergente ácida (FDA), se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) tanto por efecto del inóculo como del pre-marchitamiento, aunque no se evidenció interacción significativa entre ambos factores. El uso de inóculo se asoció con un incremento en el contenido de FDA, en tanto que los tratamientos sin inóculo mostraron valores inferiores. Por su parte, el pre-marchitamiento también tuvo un efecto reductor sobre esta fracción fibrosa (Figura 7-supl, material suplementario).

Los resultados de la Tabla 3 muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) en el tratamiento con inóculo, para el pre-marchitamiento y su interacción.

La interacción indica que el inóculo por sí solo reduce la digestibilidad, mientras que, en existencia del pre-marchitamiento, este efecto se ve contrarrestado (Figura 7).

Se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para el número de colonias únicamente en presencia del pre-marchitamiento (Tabla 3). Observamos que el pre-marchitamiento parece disminuir el número de colonias (Figura 8-supl, material suplementario).

No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en cuestión de proteína cruda (PC) ni para el inóculo, ni el pre-marchitamiento, ni su interacción (Tabla 3). (Figura 9-supl, material suplementario). Tampoco hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en el pH y tamaño de colonias, ni en función del inóculo o pre-marchitamiento, ni de su interacción (Tabla 4). (Figura 10-supl y Figura 11-supl, material suplementario).

DISCUSIÓN

Experimento 1

Los aumentos en MS se atribuyen a una mayor producción de efluentes (Tabla 2), Martínez-Fernández *et al.* (2014) menciona que forrajes con 150 g/kg de materia seca pueden generar efluentes que implican hasta un 10% de pérdida de MS, mientras que con 250 g/kg MS las pérdidas por efluentes son prácticamente inexistentes. Sainz-Ramírez *et al.* (2023) describen que las pérdidas de MS en ensilados dependen del tipo de forraje y su concentración de MS, indicó que ensilajes con menos de 200 g/kg de MS pueden perder hasta un 30% de su MS, afectando fracciones digestibles y reduciendo su valor nutricional, los aditivos también alteran la retención de agua.

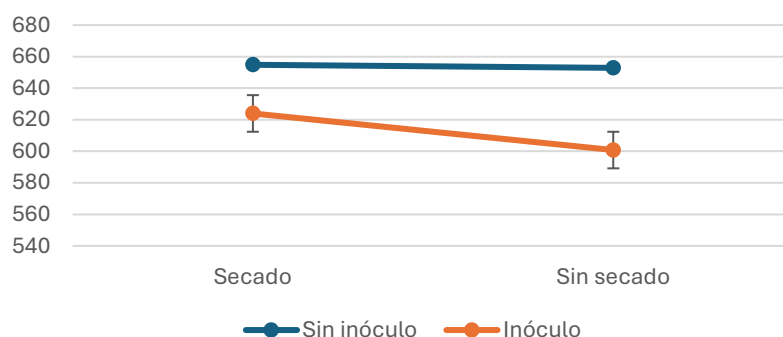


Figura 7. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre digestibilidad *in vitro* de la materia seca (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

Tabla 3. Composición química de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) del experimento 2.

		Tratamiento	Pre-marchitamiento	Sin pre-marchitamiento	Media	EEM _I
Materia seca (g/kg MS)		Sin inóculo	287.2	279.1	283.1	20.7*
		Inóculo	294.3	276.2	285.2	
		Media	290.7	277.6		
		EEM _S		3.3 ^{NS}		
		EEM _{I*S}		5.6 ^{NS}		
Materia orgánica (g/kg MS)		Sin inóculo	849.2	847.6	848.4	0.8 ^{NS}
		Inóculo	851.6	852.	851.9	
		Media	850.4	849.9		
		EEM _S		5.5*		
		EEM _{I*S}		1.1 ^{NS}		
FDN (g/kg MS)		Sin inóculo	576.7	582.6	579.6	7.9 ^{NS}
		Inóculo	692.4	696.6	694.5	
		Media	634.6	639.6		
		EEM _S		181.5*		
		EEM _{I*S}		0.8 ^{NS}		
FDA (g/kg MS)		Sin inóculo	300.9	309.9	305.4	27.0*
		Inóculo	345.9	371.1	358.5	
		Media	323.4	340.5		
		EEM _S		83.9*		
		EEM _{I*S}		9.0 ^{NS}		
PC (g/kg MS)		Sin inóculo	112.8	112.7	112.7	0.5 ^{NS}
		Inóculo	114.3	115.1	114.7	
		Media	113.5	113.9		
		EEM _S		3.0 ^{NS}		
		EEM _{I*S}		0.5 ^{NS}		
DIVMS (g/kg MS)		Sin inóculo	654.8	652.8	653.8	19.8*
		Inóculo	623.9	600.7	612.3	
		Media	639.4	626.8		
		EEM _S		65.5*		
		EEM _{I*S}		11.8*		

FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácida. PC: proteína cruda. DIVMS: Digestibilidad in vitro de la materia seca. EEM_S: error estándar de la media del pre-marchitamiento. EEM_I: error estándar de la media del inóculo. EEM_{I*S}: error estándar de la media de la interacción inóculo y pre-marchitamiento. *: P≤0.05. NS: P>0.05

Tabla 4. Número de colonias, tamaño de colonias y pH de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) del experimento 2.

		Tratamiento	Pre-marchitamiento	Sin pre-marchitamiento	Media	EEM _I
pH		Sin inóculo	4.4	4.6	4.5	0.2 ^{NS}
		Inóculo	4.5	4.6	4.5	
		Media	4.5	4.6		
		EEM _S		0.08 ^{NS}		
		EEM _{I*S}		0.02 ^{NS}		
Número de colonias (conteo visual)		Sin inóculo	1.2	1	1.1	0.04 ^{NS}
		Inóculo	1.4	1.8	1.6	
		Media	1.3	1.4		
		EEM _S		0.2*		
		EEM _{I*S}		0.1 ^{NS}		
Tamaño de colonias (cm)		Sin inóculo	8.2	8	8.1	1.4 ^{NS}
		Inóculo	8	10	9	
		Media	8.1	9		
		EEM _S		1.4 ^{NS}		
		EEM _{I*S}		1.2 ^{NS}		

EEM_S: error estándar de la media del pre-marchitamiento. EEM_I: error estándar de la media del inóculo. EEM_{I*S}: error estándar de la media de la interacción inóculo y pre-marchitamiento. *: P≤0.05. NS: P>0.05

Nota: Para la variable de número de colonias, el número total se transformó a log₁₀ para ser analizado en el ANOVA, mismo que se presenta de esta forma en la tabla.

Los resultados presentados en la Figura 3 concuerdan con lo dicho por Muck *et al.* (2018) quienes señalaron que los aditivos como inoculantes y melaza pueden reducir la FDN y FDA en ensilados al degradar carbohidratos complejos de la pared celular, convirtiéndolos en azúcares simples fermentables, además de que la melaza, rica en azúcares, estimula las bacterias ácido-lácticas (BAL), disminuyendo el pH y facilitando la ruptura de componentes fibrosos, además de diluir la fibra. Autores como Avellaneda-Avellaneda *et al.* (2023) encontraron resultados de 586 g/kg MS para FDN y 324 g/kg de MS para FDA, los cuales son mayores a los aquí encontrados, esto debido a la fecha de rebrote que los autores manejaron para realizar los ensilados de kikuyo en su estudio. Los resultados en este estudio sugieren que el inóculo requiere los azúcares de la melaza para potenciar su actividad.

La dosis de adición de melaza fue de acuerdo con Mühlbach (2001), quien sugiere dosis del 4 al 5% para forrajes tropicales con el fin de asegurar una cantidad suficiente de carbohidratos solubles que garantice una adecuada fermentación láctica. Este autor señaló que añadir azúcares fermentables como melaza a forrajes tropicales con baja materia seca (MS) mejora la fermentación del ensilaje, aunque puede provocar pérdidas de nutrientes y efluentes por la higroscopicidad de la melaza. La disminución en PC puede suceder por el efecto de dilución que ocurre por la alta producción de efluentes.

Si bien los resultados para MS son mayores a los reportados por Villalobos-Villalobos y Arce-Cordero (2016) quienes obtuvieron 209 g/kg MS, mencionan que esto se debe a la alta producción de efluentes en sus ensilados de kikuyo. Sin embargo, sus resultados en cuestión de PC fueron mayores a los aquí obtenidos (150.7 g/kg MS), mencionó que estos resultados son debidos al aporte de nutrientes dado por el inóculo artesanal.

Tal como Mühlbach (2001) evidenció que la adición de melaza a pastos mejora la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) ya que aporta carbohidratos solubles fermentables, que mejoran la fermentación láctica (reduciendo pH y amoníaco), lo que preserva mejor los nutrientes y aumenta la DIVMS. Villalobos-Villalobos y Arce-Cordero (2016) observaron que ensilados de kikuyo con DIVMS entre 460-650 g/kg cubren necesidades del ganado lechero, valores que fueron obtenidos en este experimento.

Según lo mencionado por McDonald *et al.* (2011) se destaca que lograr rápidamente un pH menor a 4.0 en el ensilado es esencial para su estabilidad, reduciendo pérdidas de nutrientes y evitando fermentaciones secundarias, así como la proliferación de bacterias y hongos.

Martínez-Fernández *et al.* (2014), mencionan que la presencia y tamaño de hongos dependen de temperatura, pH y condiciones del forraje, además destaca que la presencia de oxígeno es clave en su aparición.

La presencia de efluentes está estrechamente relacionada con la adición de melaza y el contenido inicial de MS, pero el contenido de efluentes es el mismo con o sin inóculo (Figura 8), tal como lo mencionan autores como Martínez-Fernández *et al.* (2014), Sainz-Ramírez *et al.* (2023) y Mühlbach (2001).

Experimento 2

Los resultados en cuanto a MS refuerzan las investigaciones de Nishino *et al.* (2012) en ensilados de pasto guinea, donde mencionan que el pre-marchitamiento aumenta la MS, además de lo mencionado en el meta-análisis hecho por Ridla *et al.* (2024), quienes concuerdan en que el pre-marchitamiento previo al ensilaje tiene un efecto significativo en el aumento de la MS y con los estudios de Piltz *et al.* (2022) que mencionan el aumento de MS gracias al pre-marchitamiento. Weiby *et al.* (2023) mencionan que el pre-marchitamiento no reduce el porcentaje total de MO, ya que este proceso solo elimina agua, no compuestos orgánicos.

Los resultados para FDN y FDA de este experimento difieren con lo encontrado por Ridla *et al.* (2024), quienes mencionan que el pre-marchitamiento tiende a aumentar los contenidos de FDN y FDA, aunado a esto, Liu *et al.* (2021) encontraron que con el pre-marchitamiento la FDN y FDA aumentaron significativamente (46.7 g/kg MS y 34.6 g/kg MS respectivamente, en pasto ryegrass), esto puede deberse debido a que el pasto aquí usado se cultivó a finales de invierno, Adjorlolo *et al.* (2014) mencionan que, en épocas secas (invierno) las plantas maduran, lo que aumenta el contenido de fibra y disminuye el contenido de PC, dado principalmente por la lignificación.

En cuanto a DIVMS, los resultados concuerdan con lo encontrado por Liu *et al.* (2021), quienes mencionan que el pre-marchitamiento mejora la digestibilidad *in vitro*, mencionó también que el efecto mejora cuando se agrega inóculo. Las bacterias del inoculante consumen los azúcares solubles (que son 100% digestibles) para producir ácidos. Si el forraje tiene pocos azúcares (como el kikuyo) y no se agrega melaza u otra fuente de carbohidratos solubles, las bacterias agotan la fracción soluble rápidamente. Esto deja una proporción mayor de pared celular (fibra) en el residuo final. Como la fibra es menos digestible que el azúcar, la digestibilidad total (DIVMS) baja, según lo descrito por Muck *et al.* (2018). Aunado a esto, autores como

Liu *et al.* (2021) mencionan que el pre-marchitamiento limita la fermentación general, ya que se produce menos ácido láctico, debido a la menor humedad.

CONCLUSIONES

La adición de melaza al 5% mejoró significativamente la fermentación y la DIVMS del ensilado de kikuyo, aunque incrementó la producción de efluentes, lo que sugiere la necesidad de controlar la humedad inicial. Por otro lado, el pre-marchitamiento por 24 h demostró ser una estrategia eficaz para aumentar la MS y reducir la incidencia fúngica sin requerir aditivos externos. Contrario a lo esperado, el inoculante bacteriano por sí solo redujo la digestibilidad *in vitro* y la PC en ausencia de sustrato (melaza) o pre-secado, por lo que su uso no se recomienda como única estrategia en este tipo de forraje.

El ensilado de pasto kikuyo en los Valles Altos de México puede beneficiarse del uso únicamente de melaza y del pre-marchitamiento previo sin aditivos como prácticas para mejorar su calidad fermentativa y digestibilidad. No obstante, el uso de inóculos requiere una evaluación más específica, idealmente con cepas adaptadas a forrajes tropicales como el kikuyo. Futuras investigaciones deberán enfocarse en la identificación de combinaciones más eficientes de aditivos y técnicas de manejo que optimicen la conservación y el valor nutricional del ensilado.

Acknowledgements

We thank the Mexican Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (formerly Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías) for the postgraduate scholarship awarded to Ana Estefanía Sánchez Martín. Also, the Mexican Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (formerly Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías) awarded a posdoctoral grant for Aurora Sainz-Ramírez (745316) and grants within the Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNII) to Aurora Sainz-Ramírez, Felipe Lopez-González and Carlos Manuel Arriaga-Jordán.

Funding. The work was funded for Universidad Autónoma del Estado de México, with the project “Evaluación de alternativas forrajeras para sistemas de producción de leche en pequeña escala ante posibles efectos del cambio climático”, with registration number 6467/2022CIB.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with ethical standards. Experimental procedures were made in agreement by the ethics and animal welfare committee of the Universidad

Autónoma del Estado de México; rumen fluid was collected from three donor dairy cows using a nasogastric probe, following institutional animal welfare guidelines. No other animals or farmers were involved in the experiments (with file number DICARM-1621).

Data availability. The data that support the findings of this study are available with Carlos Manuel Arriaga Jordán (cmarriagaj@uaemex.mx) upon reasonable request.

Author contribution statement (CRediT). **A.E. Sánchez-Martín** – Methodology, investigation, laboratory analyses, writing – original draft. **A. Sainz-Ramírez** – Conceptualization, methodology, writing - revision and editing. **A.A. Morales-Cruz** – Methodology, investigation, laboratory analyses. **F. López-González** – Methodology, formal analyses, supervision. **C.M. Arriaga-Jordán** – Conceptualization, methodology, supervision, writing – review and editing, funding acquisition.

REFERENCES

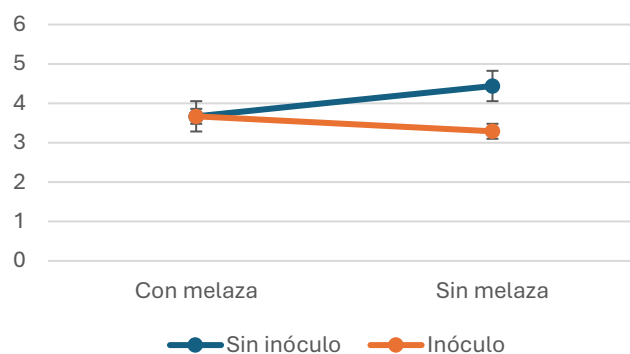
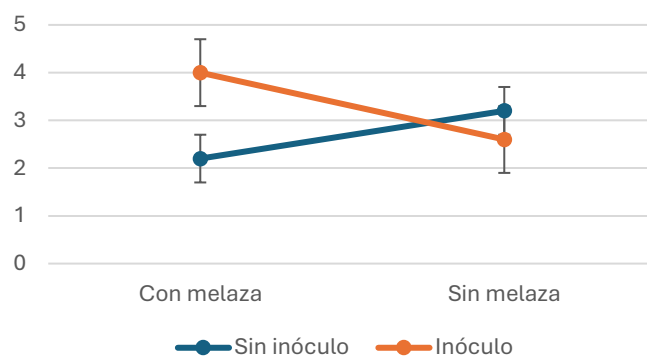
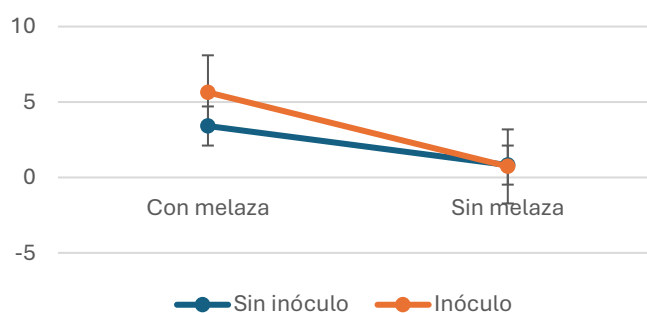
- Adjorlolo, L.K., Adogla-Bessa, T., Amaning-Kwarteng, K. and Ahunu, B.K., 2014. Effect of season on the quality of forages selected by sheep in citrus plantations in Ghana. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 2(3), pp.271–277.
[https://doi.org/10.17138/TGFT\(2\)271-277](https://doi.org/10.17138/TGFT(2)271-277)
- Ankom Technology, 2005. *In vitro true digestibility using the DAISY II Incubator. Ankom Technology Method* 3.
<http://www.ankom.com> [Acceso 20 de Abril de 2025].
- AOAC, 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Arlington, VA: AOAC International.
- Avellaneda-Avellaneda, Y., Castillo-Sierra, J., Mancipe-Muñoz, E.A. and Vargas-Martínez, J.J., 2023. Factores que afectan la calidad del ensilaje de pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus*). *Agronomía Mesoamericana*, <https://doi.org/10.15517/am.2023.53394>
- Chen, R., Li, M., Yang, J., Chen, L., Zi, X., Zhou, H. and Tang, J., 2022. Exploring the effect of wilting on fermentation profiles and microbial community structure during ensiling and air exposure of king grass silage. *Frontiers in Microbiology*, 13, p.971426.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.971426>

- Elshereef, A.A., Arroyave-Jaramillo, J., Zavala-Escalante, L.M., Piñeiro-Vázquez, A.T., Aguilar-Pérez, C.F., Solorio-Sánchez, F.J. and Ku-Vera, J.C., 2020. Enteric methane emissions in crossbred heifers fed a basal ration of low-quality tropical grass supplemented with different nitrogen sources. *Czech Journal of Animal Science*, 65(4), pp.135–144. <https://doi.org/10.17221/256/2019-cjas>
- Jobim, C.C., Nussio, L.G., Reis, R.A. and Schmidt, P., 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(Suppl), pp.101–119. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000013>
- Kaps, M. and Lamberson, W., 2004. *Biostatistics for Animal Science*. Trowbridge, UK: Cromwell Press.
- Liu, C., Zhao, G.Q., Wei, S.N., Kim, H.J., Li, Y.F. and Kim, J.G., 2021. Changes in fermentation pattern and quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silage by wilting and inoculant treatments. *Animal Bioscience*, 34(1), pp.48–55. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0336>
- Marín-Santana, M.N., González, F.L., Almaraz, E.M., Plata-Reyes, D.A. and Arriaga-Jordán, C.M., 2023. Desempeño productivo de vacas lecheras alimentadas con praderas de kikuyo sobresembradas con centeno en sistemas de producción de leche en pequeña escala en los Valles Altos de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26(3). <https://doi.org/10.56369/tsaes.4621>
- Marín-Santana, M.N., López-González, F., Hernández-Mendo, O. and Arriaga-Jordán, C.M., 2020. Kikuyu pastures associated with tall fescue grazed in autumn in small-scale dairy systems in the highlands of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 52(4), pp.1919–1926. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02216-7>
- Martínez-Fernández, A., Gutiérrez, A.A. and de la Roza Delgado, B., 2014. *Manejo de Forrajes Para Ensilar*. Asturias, España: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentaria (SERIDA) del Principado de Asturias.
- McDonald, P., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Edwards, R., Sinclair, L. and Wilkinson, R., 2011. *Animal Nutrition*. 7th ed. Harlow: Benjamin Cummings.
- Morales Ruiz, A. and Díaz López, E., 2020. Influencia de la temperatura, precipitación y radiación solar en el rendimiento de maíz en el Valle de Toluca, México. *Agrociencia*, 54(3), pp.377–385. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i3.1933>
- Muck, R.E., Nadeau, E.M.G., McAllister, T.A., Contreras-Govea, F.E., Santos, M.C. and Kung, L., 2018. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), pp.3980–4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>
- Mühlbach, P.R.F., 2001. Estudio 9.0 - Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales. FAO. <https://www.fao.org/4/x8486s/x8486s0b.htm> [Acceso 18 de mayo de 2025].
- Nishino, N., Li, Y., Wang, C. and Parvin, S., 2012. Effects of wilting and molasses addition on fermentation and bacterial community in guinea grass silage. *Letters in Applied Microbiology*, 54(3), pp.175–181. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03191.x>
- Piltz, J.W., Meyer, R.G., Brennan, M.A. and Boschma, S.P., 2022. Fermentation quality of silages produced from wilted sown tropical perennial grass pastures with or without a bacterial inoculant. *Agronomy*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy12071721>
- Plata-Reyes, D.A., Estrada-Flores, J.G., López-González, F. and Arriaga-Jordan, C.M., 2021. Composición botánica y evaluación nutricional in vitro de pasto kikuyo comparado con gramíneas de clima templado. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(3). <https://doi.org/10.56369/tsaes.34830>
- Ridla, M., Albarki, H.R., Risyahadi, S.T. and Sukarman, S., 2024. Effects of wilting on silage quality: a meta-analysis. *Animal Bioscience*, 37(7), pp.1185–1195. <https://doi.org/10.5713/ab.23.0403>
- Sainz-Ramírez, A., Botana, A., Pereira, S., González, L., Veiga, M., Resch, C., Valladares, J., Arriaga, C. and Flores, G., 2020. Efecto de la fecha de corte y el uso de aditivos en la composición química y calidad fermentativa del ensilado de girasol. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(3), pp.620–637.

- Sainz-Ramírez, A., Estrada-Flores, J.G., Velarde-Guillén, J., López-González, F. and Arriaga-Jordán, C.M., 2023. Efecto de aditivos en la composición química de ensilados de haba (*Vicia faba*). *XXVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A.C. (ALPA)*, 31(Supl 1), pp.249–256. <https://doi.org/10.53588/alpa.310543>
- Teixeira, C.S.P., Olykan, S.T. and Moot, D.J., 2024. A review of grass species yields and growth rates in Northland, New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, pp.1–24. <https://doi.org/10.1080/00288233.2024.2351614>
- 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.s0022-0>
- Villalobos-Villalobos, L. and Arce-Cordero, J., 2016. Efecto del picado sobre las características nutricionales y fermentativas de ensilajes de pastos Kikuyo, Ryegrass perenne y Alpiste forrajero. *Agronomía Costarricense*, 40(1). <https://doi.org/10.15517/rac.v40i1.25331>
- Weiby, K.V., Krizsan, S.J., Dønnem, I., Østrem, L., Eknæs, M. and Steinshamn, H., 2023. Effect of grassland cutting frequency, species mixture, wilting and fermentation pattern of grass silages on in vitro methane yield. *Scientific Reports*, 13(1), p.4806. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31964-3>

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Experimento 1

Figura 1-supl. Interacción melaza e inóculo sobre pH de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)Figura 2-supl. Interacción melaza e inóculo sobre no. de colonias de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)Figura 3-supl. Interacción melaza e inóculo sobre efluentes (ml/100g) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

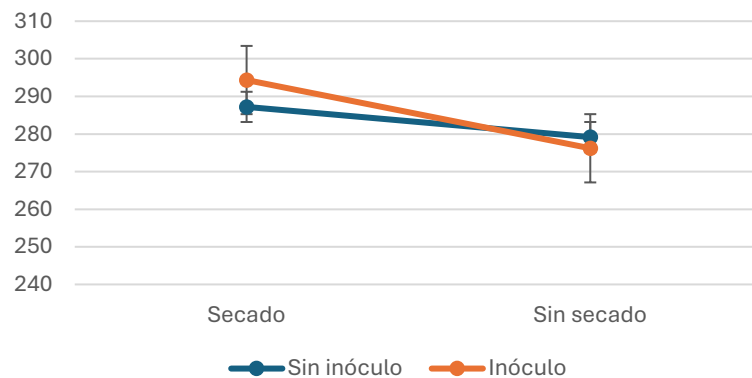
Experimento 2

Figura 4-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre materia seca (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

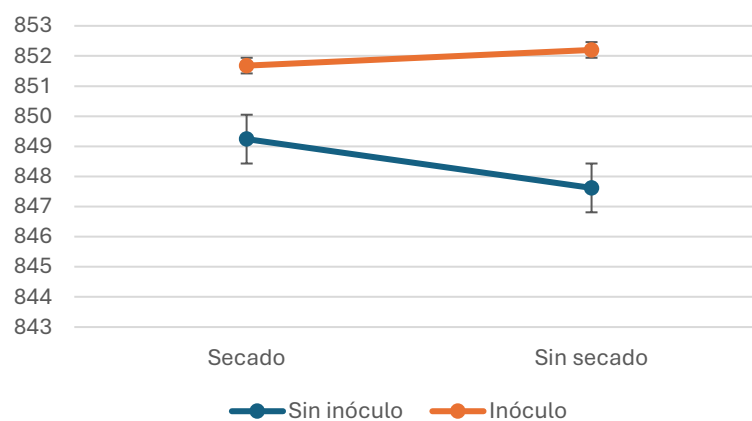


Figura 5-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre materia orgánica (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

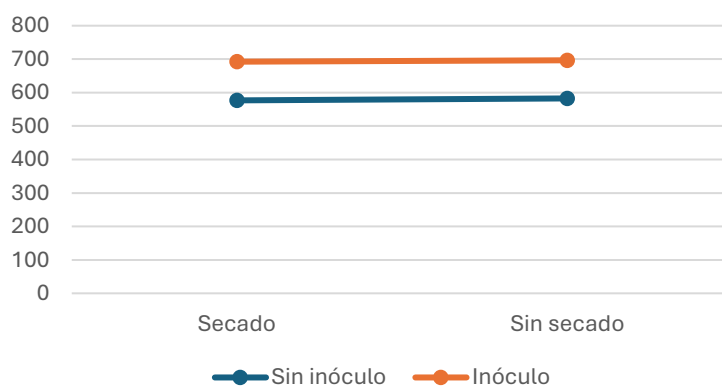


Figura 6-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre fibra detergente neutro (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

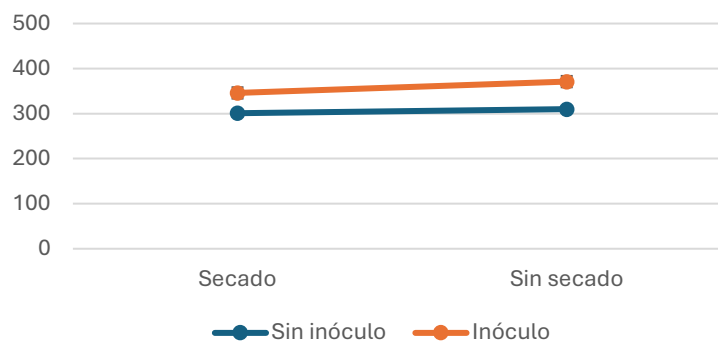


Figura 7-supl. Pre-marchitamiento melaza e inóculo sobre fibra detergente ácida (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

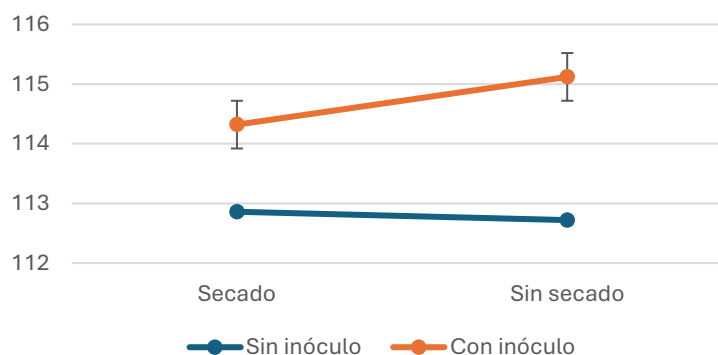


Figura 8-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre proteína cruda (g/kg) de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

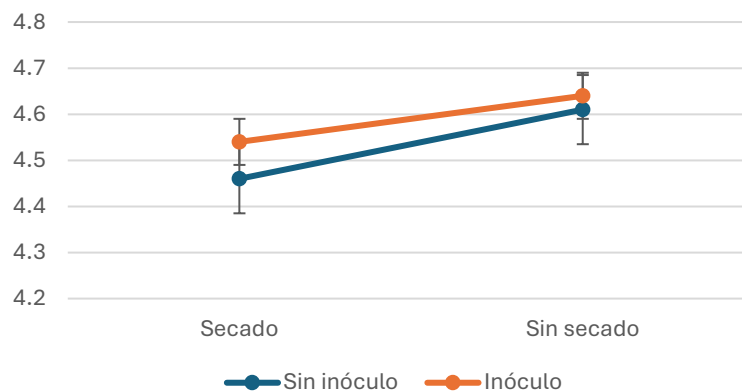


Figura 9-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre pH de ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

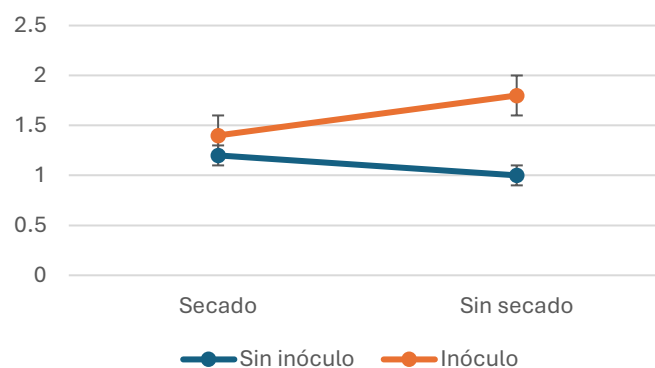


Figura 10-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre número de colonias en ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)

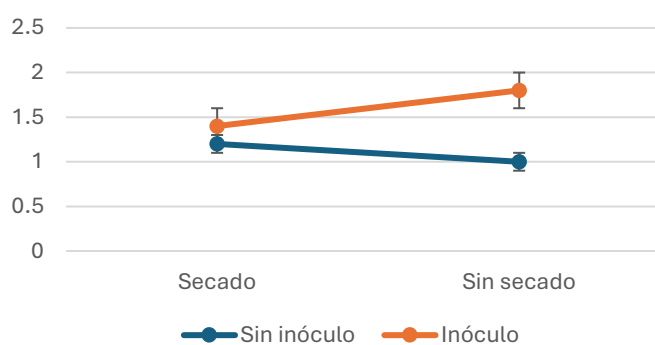


Figura 11-supl. Interacción pre-marchitamiento e inóculo sobre tamaño (cm) de colonias en ensilados de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*)