

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

**“COMPARACION DEL EFECTO DE INOCULOS COMERCIALES Y
ARTESANALES SOBRE EL PROCESO FERMENTATIVO DEL ENSILAJE DE
MAÍZ (*Zea mays*)”**

JOSE FRANCISCO CUBERO CUBERO

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIATURA EN
INGENIERIA AGRONÓMICA CON ÉNFASIS EN ZOOTECNIA**

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

Octubre, 2008

Comparación del efecto de inóculos comerciales y artesanales sobre el proceso fermentativo del ensilaje de maíz (*Zea maíz*).

JOSÉ FRANCISCO CUBERO CUBERO

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO
EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO EN ZOOTECNICA

TRIBUNAL EXAMINADOR

M.Sc. Augusto Rojas Bourrillón

Director de Tesis y Subdirector de Escuela

M.Sc. Rodolfo WingChing-Jones

Miembro del Tribunal

Ing. Fabián Vargas Rodríguez

Miembro del Tribunal

Ing. Michael López Herrera

Miembro del Tribunal

Lic. José Arce Cordero

Miembro del tribunal

José Francisco Cubero Cubero

Sustentante

ESCUELA DE ZOOTECNIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
2008

DEDICATORIA

A mi madre Gladys, por su abnegada dedicación, sacrificio y amor hacia mí desde el día en que nací.

A mi hermana Sandra, por ser siempre un pilar de fortaleza y gran ejemplo durante toda mi vida, gracias por todos sus sacrificios.

A mi novia Adriana, por su incondicional amor, apoyo, motivación, paciencia y sacrificio mostrados junto a mí en todo momento.

Gracias infinitas a ustedes, tres mujeres inmejorables que han calado profundo de muy diversas maneras en mi persona como hijo, hermano y pareja. No hubiese imaginado mejores personas a quienes dedicarles este tan grato logro personal. Porque mi triunfo es de ustedes y por ustedes...

Gracias imperecederas por nunca dejar de creer en mí...

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por situar en mi vida a tantas personas que, de muy diversas maneras, colaboraron para que yo llegara hasta donde estoy y me convirtiera en la persona que soy en este momento. Gracias por mi familia, amigos(as), compañeros(as) y profesores(as) con los(as) que siempre pude y puedo contar.

Gracias Augusto Rojas, porque a pesar de mis tentativas y desaciertos siempre encontró la manera de generar un espacio y un tiempo para mí, brindándome así, la oportunidad para concretar esta etapa de mi formación profesional. Gracias por aceptar ser mi tutor de esta investigación.

Gracias Rodolfo WingChing por su notable participación en este proyecto, sin la cual hubiese tenido un mayor grado de dificultad para llegar a su buen término.

Gracias Henry Soto por su aporte y palabras de aliento durante todo el proceso de esta investigación.

Gracias Michael y Marianela, pues su desinteresado y leal apoyo ayudó a convertir este proyecto de vida en algo más allá de lo académico.

Gracias al personal (2007-2008) del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) por sus servicios y apoyo incondicional. Un especial reconocimiento al Ing. Adrian Martínez Machado por su excepcional colaboración.

Gracias a la Universidad de Costa Rica, mi universidad, por brindarme el privilegio y la fortuna de haber podido obtener una carrera profesional de prestigio en la mejor institución de estudios superiores del país.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
PORTADA	i
HOJA DE APROBACIÓN	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE APÉNDICES	x
RESUMEN	xi
1 INTRODUCCIÓN	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 El maíz como cultivo para ensilar	5
2.1.1 Proceso fermentativo de los ensilajes	10
2.2 Aditivos	12
2.2.1 Inoculantes microbiales para ensilajes	13
2.2.2 El rol de los aditivos en el ensilaje	15
2.2.3 Efecto de inóculos sobre el desempeño animal	18
3 MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Localización de la investigación	20
3.2 Descripción del material experimental	20
3.3 Fase de campo	21
3.4 Análisis de laboratorio	22
3.5 Diseño experimental	23
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24

4.1 Composición del forraje de maíz antes del proceso de ensilaje	24
4.1.1 Composición del material antes del proceso de ensilaje	24
4.1.2 Composición nutricional del material ensilado	26
4.1.2.1 Materia seca total (MST)	26
4.1.2.2 Proteína cruda (PC)	28
4.1.2.3 Fracciones de la pared celular	30
a. Fibra detergente neutro (FDN)	30
b. Fibra detergente ácida (FDA)	31
c. Lignina	33
4.1.2.4 Cenizas	34
4.1.2.5 Extracto etéreo	35
4.1.2.6 Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca	37
4.2 Características fermentativas del ensilaje de maíz	39
4.2.1 pH	39
4.2.2 Capacidad buffer	41
4.2.3 Nitrógeno amoniacal	43
4.3 Valor energético del ensilaje	45
CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	50
APÉNDICES	51
LITERATURA CITADA	56

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	NOMBRE	PÁGINA
1	Concentración de azúcares solubles y proteína en cultivos forrajeros	6
2	Calidad nutritiva de ensilajes de maíz	7
3	Producción media (Kg MV/ha) de diferentes híbridos de maíz para ensilar	8
4	Indicadores físicos y químicos que permiten valorar la calidad del proceso fermentativo en los ensilajes	9
5	Valores de laboratorio indicativos de un buen proceso de fermentación en el maíz, sorgo y alfalfa	9
6	Composición nutricional del material de maíz utilizado para cada tratamiento	24

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	NOMBRE	PÁGINA
1	Contenido de la materia seca total para el ensilaje de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	27
2	Contenido de proteína cruda para el ensilaje de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	29
3	Contenido de fibra detergente neutro en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	31
4	Contenido de fibra detergente ácida en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	32
5	Contenido de lignina en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	34
6	Contenido de cenizas en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	35
7	Contenido de extracto etéreo en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	36
8	Porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	38
9	Valor del pH en los ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	40
10	Comportamiento de la capacidad buffer en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	42
11	Contenido de nitrógeno amoniacal en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación	44
12	Fraccionamiento energético para los tratamientos en el ensilaje de maíz que presentaron los mejores y peores parámetros de calidad nutricional y fermentativa	46

ÍNDICE DE APÉNDICES

APÉNDICE	NOMBRE	PÁGINA
A1	Categorías de aditivos para ensilajes	52
A2	Composición nutricional de los ensilajes de maíz con diferentes niveles de inóculos producidos en finca, con inóculo comercial y el control	53
A3	Densidad energética y contenido de NDT del ensilaje de maíz con el mejor y peor tratamiento, según la relación de sus indicadores fermentativos y nutricionales	54
A4	Descripción de los principales parámetros de calidad en ensilajes	55
A5	Contenido de nitrógeno amoniacal en ensilajes y su relación con la calidad de fermentación y consumo animal	55

RESUMEN

Mediante la técnica de microsilos se evaluó el efecto de tres tratamientos de inóculo microbiano producido en finca (0,5, 1,0 y 1,5 L/ton de MS) y uno comercial (CEN-Sile® con dosis recomendada por el fabricante) sobre el ensilaje de maíz híbrido (Cristiani Bukard®), de 90 días de edad. Se ensiló 1,0 Kg de material en cada bolsa, para un total de 5 tratamientos con 5 repeticiones. El proceso de fermentación se prolongó por 70 días para luego comparar los efectos de los diferentes tratamientos sobre las características fermentativas y nutricionales del material ensilado y así cuantificar dichos efectos sobre indicadores como: pH, capacidad amortiguadora, nitrógeno amoniacal, materia seca, proteína cruda, pared celular, extracto etéreo, digestibilidad *in vitro* y cenizas. Los datos obtenidos de los tratamientos con inoculante microbiano fueron comparados con el tratamiento control (ensilaje de maíz sin inóculo microbiano) y los resultados de otras investigaciones para diferenciar el efecto de los diferentes inóculos y sus niveles sobre el proceso fermentativo en el ensilaje de maíz.

Los valores de materia seca, FDN y capacidad buffer fueron afectados significativamente por la presencia de inóculo así como de su dosis. En cambio, los contenidos de cenizas, extracto etéreo y la digestibilidad *in vitro* no se afectaron por la presencia del inóculo.

El tratamiento que obtuvo los mejores parámetros de calidad nutricional y fermentativos fue el ensilaje sin inóculo (control) y el tratamiento con inóculo producido en finca con dosis de 1,5 L/ton de MS el más deficiente, a los cuales se les realizó el cálculo de las energías en Mcal/Kg.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años los sistemas productivos pecuarios en países tropicales, basados en la producción pastoril, apuestan a la utilización del pastoreo directo, para aprovechar al máximo la disponibilidad del recurso verde producido durante períodos estacionales favorables, lo cual disminuye la capacidad para reserva de alimento forrajero, mientras que para la época de difícil alimentación se buscan alternativas que permitan seguir con altas producciones individuales o del sistema y casi prescindiendo del pastoreo, tales como la práctica del ensilaje, forrajes de corta, uso de subproductos agroindustriales, heno y hasta la reducción de animales por área, o combinación de dichas alternativas.

La ganadería intensiva de leche en el trópico, depende en gran medida de la incorporación de alimentos balanceados dentro de la dieta, los cuales dentro de su formulación incluyen materias primas importadas para su fabricación, lo que convierte a este tipo de sistema en dependiente, poco sostenible y de alto costo, pues obedece a una industria, comercialización y mercados tanto nacional como extranjeros. Por otra parte, el incremento en el uso de alimentos balanceados, subproductos agrícolas e industriales, se combinan con una disminución de la oferta proveniente del pastoreo durante al menos 4-6 meses del año, lo cual provoca una tangible fragilidad del sistema productivo nacional.

En Costa Rica, donde la mayor parte de la producción de leche proviene de hatos netamente lecheros, el costo de alimentación puede alcanzar hasta el 60%, donde el 82% corresponde al alimento balanceado elaborado con materias primas importadas, como la harina de soya y el maíz. Lo que se traduce en el 48% de los costos de producción de un litro de leche (Abarca y Madriz 1999).

Esta situación tan real que año tras año se percibe en el territorio nacional, y que se ve agravada por los lineamientos del comercio globalizado, no sería posible de sobrellevar sin el uso de reservas alimentarias generadas con monocultivos de maíz o soya para forraje, principalmente, los cuales pueden producir en poca superficie suficiente material forrajero de calidad para soportar la carga animal en períodos críticos y mantener así adecuadas producciones en finca.

La búsqueda de la eficiencia productiva en finca, ha logrado enfocar muchos recursos e investigación hacia la exploración de alternativas que ofrecen solución a los problemas de disponibilidad forrajera durante el período seco del año, considerando la suplementación de los animales, ya sea con materiales propios de la finca, materias primas como melaza de caña, urea, o bien forraje fresco y conservado, ya sea como heno en pie, heno en pacas o materiales ensilados. Todas las propuestas para enfrentar este escenario, en que se desenvuelven actualmente los sistemas agropecuarios costarricenses, dirigen sus esfuerzos a disminuir los costos productivos por concepto de alimentación e implementación de un manejo adecuado de los animales en finca.

De esta manera, la conservación de los forrajes, mediante la técnica del ensilaje, surge como una opción viable por su utilidad y fácil implementación por parte de los productores. Esta alternativa asegura la disponibilidad de recursos forrajeros de adecuada calidad durante todo el año al aprovechar, no solo, diversos materiales vegetales que se cultivan en el trópico sino también los desechos agroindustriales, transformándolos en un excelente recurso alimenticio para los sistemas de producción basados en el pastoreo.

La finalidad ulterior del ensilaje es la de proveer a los animales un alimento con adecuadas características nutricionales en épocas de baja disponibilidad de forrajes verdes y/o como sustituto del alimento balanceado, logrando así, una salvaguardia durante la estacionalidad productiva difícil y una disminución de los costos de producción.

El forraje fresco de cultivos como maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum sativum*), alfalfa (*Medicago sativa L.*) y algunas leguminosas, puede ser conservado por medio del ensilaje. En muchos países los forrajes ensilados son muy apreciados como alimento animal. En Europa, los agricultores de países como Holanda, Alemania y Dinamarca, almacenan más de 90 por ciento de sus forrajes como ensilaje (Oude y Stefanie 1997). Aún en países con buenas condiciones climáticas para la henificación, como Francia e Italia, cerca de la mitad del forraje es ensilado (Oude y Stefanie 1997).

El producto del ensilaje no es de mejor calidad nutricional que el material del que se origina, debido a que se utiliza como una técnica para conservar y no para mejorar el material vegetativo empleado, de ahí que el uso de aditivos se convierta en una alternativa para mejorar el valor nutricional de éste.

El uso de aditivos para mejorar las condiciones del proceso de ensilaje, y por ende su calidad nutricional, comenzó a hacerse muy común entre los seguidores de ésta técnica de conservación de forrajes (McDonald 1981). Comercialmente existen 200 productos químicos y biológicos empleados como aditivos para mejorar el proceso en los ensilajes (Mahanna 1993). La escogencia del aditivo es relativamente simple, puesto que el modo de actuar de la mayoría de estos está comprendido en pocas categorías claramente definidas (Apéndice A1).

Es importante considerar que entre aditivos de la misma categoría se manifiestan diferencias tales como la efectividad general, la adecuación para determinado tipo de forraje y la facilidad para su manejo y aplicación. Estos factores, junto a la latitud donde es empleado, el precio y la disponibilidad, determinan cual es el aditivo más conveniente para un ensilaje específico en un determinado sistema de producción. En Europa como en los E.E.U.U., los inoculantes con bacterias se han convertido en el tipo más frecuente de aditivo empleado en ensilajes de maíz, gramíneas y leguminosas que puedan producir hasta

un 30% de materia seca en comparación con el 20% esperado en ensilajes sin aditivos (Oude y Stefanie 1997).

Es necesario recopilar y generar mayor información acerca del uso de aditivos en el proceso fermentativo de forrajes en las regiones tropicales y las posibilidades reales para los productores. Resulta necesario conocer más detalladamente la caracterización microbiológica de dichos aditivos con el fin de ofrecer información básica con la cual se diseñen mejores sistemas de alimentación de animales en las épocas de escasez de alimento superando así a los actualmente empleados por los productores.

Así la técnica de ensilado, en conjunto con fuentes forrajeras locales y el uso de aditivos que mejoren su calidad nutricional, ofrecen una alternativa como recurso alimenticio de calidad y cantidad adecuadas frente a la necesidad de estabilizar la oferta alimenticia durante el año y a la vez, proporciona un impacto positivo en la productividad animal y financiera de los sistemas productivos tropicales.

Es por lo anterior que el objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar los efectos de la aplicación de un inóculo microbial comercial y otro producido en finca sobre las características fermentativas y nutricionales en el ensilaje de maíz, que permitan obtener el mejor aditivo microbial para el proceso de ensilaje de maíz y generar a la vez información acerca de su proceso fermentativo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El maíz como cultivo para ensilar

Dada la evolución en la producción a base de pastos así como los diferentes escenarios regionales (pastos de clima templado: con altos contenidos proteicos y bajos contenidos energéticos y pastos de zonas tropicales: con bajos contenidos proteicos y energéticos) es que se recurre a suplementos que compensen dichas situaciones adversas para la producción (Wattiaux 1999). Así, entre los suplementos más utilizados se tienen, desde granos hasta ensilajes de plantas enteras, capaces de ser generados en casi todos los países a partir de maíz, sorgo, soya, alfalfa. Tanto el sorgo como el maíz se caracterizan por producir grandes volúmenes de materia seca por hectárea, lo que permite generar ensilajes con un bajo costo por tonelada (Titterton y Bareeba 2006).

La conservación de alimentos (forrajes, residuos de cosecha, productos agro-industriales) en forma de ensilaje es una herramienta de manejo que permite a los productores contar con un recurso alimenticio alternativo para satisfacer la demanda alimenticia del ganado lechero. De esta manera, la función básica de la manufactura del ensilaje es almacenar y reservar alimento para su uso posterior con pérdidas mínimas de calidad nutricional (Wattiaux 1999).

Según Bertoia (2004), existen ciertas consideraciones generales sobre cultivos para ensilar que deben tenerse en cuenta, y dentro de estas, ciertas cualidades tales como:

- alto rendimiento de materia seca por unidad de superficie
- alto valor nutritivo

- componentes del vegetal que faciliten el proceso, dentro de los cuales el contenido de carbohidratos solubles es fundamental. Su concentración está condicionada por la especie vegetal. Por supuesto, deberá ser alto y con una marcada supremacía sobre el contenido de proteínas. La relación azúcares/proteínas deberá ser elevada para evitar que el exceso de nitrógeno producido por los procesos degradativos forme productos tóxicos y/o que neutralicen el ácido láctico formado. Las leguminosas (alfalfa por ejemplo) presentan una relación azúcares/proteínas muy baja, razón por la cual su conservación mediante esta técnica es complicada y requiere procesos previos y construcciones especiales que disminuyan el riesgo de putrefacción del material (Bertoia 2004).

En el cuadro 1, se muestra la capacidad para ensilarse de diversos materiales forrajeros, según la relación de los azúcares solubles y la proteína presentes en ellos.

Cuadro 1. Concentración de azúcares solubles y proteínas en cultivos forrajeros.

Cultivo	Contenido de azúcares solubles	Contenido de proteínas	Aptitud para ensilaje
Maíz o sorgos	Muy alto	Muy bajo	Alta
Pasturas de gramíneas	Alto	Medio	Media
Pasturas asociadas con leguminosas	Medio	Alto	Regular
Alfalfa (leguminosa)	Bajo	Muy alto	Problemática

Fuente: Bertoia (2004)

Durante mucho tiempo lo que se aprovechaba del maíz eran sus granos, pero después de descubrir el valor nutricional de sus hojas, el tallo, el grano y la mazorca es que se incorporó como recurso alimenticio en la crianza de animales productores de carne y

leche (Manchin 1999). Posteriormente se aprovecharon sus propiedades fermentativas y nutricionales en la elaboración de ensilajes como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Calidad nutritiva de ensilajes de maíz.

Análisis	Ámbito (%)
Materia seca (MS)	31,7±5,9
Digestibilidad <i>In vitro</i> de materia seca (DIVMS)	61,1±5,1
Materia orgánica (MO)	93,7±1,3
Proteína Bruta (PB)	6,8±1,2
Carbohidratos solubles (CHS)	10,3±4,7
Fibra detergente neutro (FDN)	50,2±6,3
Fibra detergente ácida (FDA)	28,3±3,8
Almidón	17,4±6,4

Fuente: Abdelhadi (2007)

Para Manchin (1999), el maíz (*Zea maíz*) es una gramínea cultivada en muchas latitudes y que se cosecha, como forraje, entre 80 y 90 días (grano completamente desarrollado en estado pastoso), con producciones que van de 30 a 50 toneladas de materia verde (MV)/Ha (Cuadro 3). La planta entera de este forraje tiene la capacidad de ensilarse naturalmente ya que el material picado, incluyendo las mazorcas, presenta altas concentraciones de carbohidratos fermentables (5-20% de la materia seca), baja capacidad alcalinizante y la presencia de una abundante flora natural de microorganismos productores de ácido láctico (Manchin 1999; Otero y Esperance 1994). Desde el punto de vista nutricional, el maíz aporta una considerable concentración energética (1,49 Mcal/EN_L/kg) y, como limitante, el suministro de bajas cantidades de proteína cruda (7%) (Abdelhadi 2007).

Cuadro 3. Producción media (ton MV/ha) de diferentes híbridos de maíz para ensilar.

Híbrido	Media	Desviación estándar
Morgan 369	48,844	6,653
Dekalb 780 Silero	56,300	1,846
Dekalb 790 Silero	49,230	2,135
Dekalb Silero 3	50,341	1,239
Media híbrido, kg MV/ha	51,179	1,426
Maíz (<i>Cristiani Bukard</i> ®)	30-50*	-

Adaptado de Abdelhadi (2007) y Rojas A. (2008) Comunicación personal

**Datos para Costa Rica*

Para evaluar el proceso fermentativo en el ensilaje es necesario considerar indicadores, tanto, sensoriales como físico-químicos que puedan determinar la calidad de los ensilajes (León y Montenegro 2001). Los primeros se refieren a una evaluación subjetiva de la calidad de un ensilaje mediante el uso de los sentidos, mientras que en los indicadores físico-químicos se utilizan una serie de características dentro de las que se encuentran: el pH, las pérdidas de materia seca y la cantidad de nitrógeno amoniacal producida durante el proceso fermentativo (Cuadro 4 y 5).

Cuadro 4. Indicadores físicos y químicos que permiten valorar la calidad del proceso fermentativo en los ensilajes.

Indicador	Niveles
Pérdidas de MS (%)	6 – 8
pH	3,9 – 4,2
NH ₃ /NT (%)	< 7,0 óptimo > 20,0 pésimo
PC (%)	5,48 – 7,24
DIVMS (%)	62,88 – 70,28

MS = materia seca, NH₃/NT = nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total, PC = proteína cruda, DIVMS= digestibilidad in vitro de la materia seca

Fuente: Tobía (2004)

Cuadro 5. Valores de laboratorio indicativos de un buen proceso de fermentación en el maíz, sorgo y alfalfa.

Cultivo	pH	% de ácidos grasos volátiles de la MS			N amoniacal como % de N total	Calidad
		Láctico	Acético	Butírico		
Maíz	3,6	1,7	0,6	0,1	5,9	Muy bueno
Sorgo	4,0	1,8	0,6	0,2	7,1	Muy bueno
Alfalfa	5,7	0,0	1,1	1,9	39,6	Malo
Alfalfa somagada	4,6	1,4	0,7	0,5	9,7	Muy bueno

Fuente: Bertoia (2004)

2.1.1 Proceso fermentativo de los ensilajes

Generar un buen ensilaje es sinónimo de hacer todo de la mejor manera posible desde el inicio del proceso y hasta su final, lo cual implica considerar a la elaboración del ensilaje como un proceso que tiene etapas debidamente definidas las cuales hay que ajustar, monitorear y optimizar al máximo para llevar a buen término dicho proceso.

El principio de preservación de los forrajes como ensilajes se basa en la producción de ácidos en un medio libre de oxígeno. Estas condiciones inhiben la actividad enzimática de las plantas y el crecimiento de los microorganismos indeseables (Tobía 2004). Dicho proceso se realiza en un medio húmedo y permite obtener un alimento succulento y con valor nutritivo similar al material original. Similar opinión presenta Elferink *et al.* (2005), quien considera que la técnica de preservación de forraje se logra por medio de una fermentación láctica espontánea bajo condiciones anaeróbicas, en donde las bacterias de ácido láctico (BAL) fermentan los carbohidratos hidrosolubles (CHS) del forraje y producen ácido láctico y ácido acético en menor cantidad. Al generarse estos ácidos, el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la presencia de microorganismos que inducen la putrefacción. Una vez que el material fresco ha sido almacenado y compactado para excluir el aire, finalmente se procede a cubrirlo.

El proceso de producción de ensilajes puede ser dividido en cuatro pasos: 1. cosecha del forraje 2. transporte del material cortado 3. compactación del forraje y 4. sellado hermético del silo. La correcta ejecución de estos pasos tendrá un gran impacto en el éxito o fracaso del proceso fermentativo y en la calidad del ensilaje, de ahí que un adecuado control y optimización de cada uno de ellos asegurará un producto final con características idóneas (Tobía 2007).

Para Abdelhadi (2007), en el proceso de ensilaje hay fases y en cada una presenta puntos críticos a considerar:

- *Fase Pre-fermentativa:* (desde la cosecha al sellado), en donde son puntos críticos el tamaño de picado, la compactación, la tasa de llenado y el tapado o embolsado.
- *Fase Fermentativa* (desde el sellado a la estabilización), la relación entre los azúcares solubles, la capacidad buffer de la especie a ensilar y el tipo de bacterias que dominan el proceso de fermentación se consideran puntos críticos
- *Fase Pos-fermentación* (de extracción), considera la tasa de extracción, el tiempo en contacto con el oxígeno, así como el desechar el material en mal estado como puntos críticos.

Una descripción más detallada del proceso de ensilaje, para forrajes húmedos, es presentada por Tobía (2004), la cual se desarrolla en cuatro fases secuenciales que se describen a continuación:

- *Fase I. Aeróbica:* En esta fase aeróbica, que dura sólo pocas horas, el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además, hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el ámbito normal para el jugo del forraje fresco (pH 6,5 - 6,0).

- *Fase II. Fermentación:* Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad de las bacterias ácido láctico proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores que van de 5,0 a 3,8.
- *Fase III. Estable:* Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la segunda Fase lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, como *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos pero a menor ritmo.
- *Fase IV. Deterioro aeróbico:* Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al medio externo, lo que implica un contacto con el oxígeno del aire. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el ensilaje, pero puede ocurrir antes de iniciar la apertura del ensilaje por daño de la cobertura del silo por efecto de aves, roedores e incluso insectos.

2.2 Aditivos

Una vez que los productores de ensilajes tienen un manejo adecuado de las prácticas sobre las cuales ellos ejercen control y optimizan al máximo, es cuando y sólo cuando, los aditivos de ensilaje deben ser considerados (Kleinschmit y Kung 2006). Es hasta ese punto

que los ensilajes buenos pueden potencialmente ser mejorados a través del uso apropiado de aditivos.

De este modo, cada tipo de aditivo trabaja de manera diferente, modificando las pérdidas de materia seca almacenada, la calidad del ensilaje y el desempeño animal en formas específicas. Por lo tanto, dependiendo de los problemas, condiciones y metas del ensilaje de cada productor, un determinado tipo de aditivo puede ser más beneficioso que otro.

2.2.1 Inoculantes microbiales para ensilajes

Son productos comerciales que contienen una gran concentración de bacterias ácido lácticas (BAL) que incrementan la población natural de estos microorganismos, ayudando a que ocurra una rápida y eficiente fermentación dentro del silo (Tobía 2004). Estos productos funcionan como estimulantes de la fermentación e inhibidores del deterioro aeróbico.

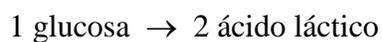
Los inóculos bacterianos promueven una rápida y eficiente fermentación de los materiales ensilados, lo cual incrementa la calidad y cantidad (incremento en la recuperación de materia seca) del producto ensilado. Estos aditivos presentan algunas ventajas, incluyendo su bajo costo, seguridad en su manejo, baja tasa de aplicación por tonelada de forraje picado y no contaminan el ambiente (Bolsen *et al.* 2001).

Estudios realizados con más de 1000 ensilajes de maíz y 25000 silos mostraron, en el 90% de los casos, respuestas favorables en la disminución de pH y en el incremento de relación ácido láctico:ácido acético, en comparación con los ensilajes no tratados con inoculantes. También, se observó una disminución en los contenidos de etanol y de nitrógeno amoniacal en los materiales a los que no se les adicionó BAL (Bolsen *et al.* 2001).

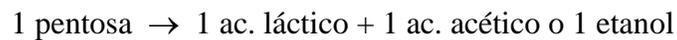
La microflora de los ensilajes juega un papel clave en el éxito del proceso de conservación, puede ser dividida en microorganismos deseables e indeseables. Los deseables son las bacterias productoras de ácido láctico naturales presentes en el alimento a ensilar (BAL naturales) y los indeseables, son aquellos que pueden producir deterioro anaeróbico (*Clostridium* y *Enterobacterias*), o bien, deterioro aeróbico (levaduras, bacillus, Listeria y hongos). Estos microorganismos perjudiciales no solo disminuyen el valor nutricional de los ensilajes, sino que pueden afectar la salud del animal y la calidad de la leche (Oude *et al.* 1999).

Según Tobía (2004), los inoculantes microbiales contienen bacterias seleccionadas para dominar la fermentación de los cultivos en el ensilado. Los inoculantes están divididos en categorías dependiendo del metabolismo (fermentación) de carbohidratos solubles en la planta como: homofermentativas obligadas, heterofermentativas facultativas y heterofermentativas obligadas.

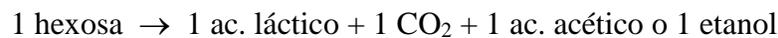
- Homofermentativas obligadas (*Lactobacillus ruminis* y *Pedicoccus damnosus*): En esta categoría se incluyen aquellos microorganismos que producen más del 85% de ácido láctico a partir de hexosas (glucosa). No pueden degradar pentosas (xilosa).



- Heterofermentativas facultativas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* y *Enterococcus faecium*): Este tipo de bacterias producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas y degradan algunas pentosas para producir ácido láctico, ácido acético o etanol.



- Heterofermentativas obligadas (*Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus buchneri*): Estas BAL degradan hexosas y pentosas con la misma intensidad. A diferencia de las homofermentativas ellas degradan hexosas en cantidades similares de ácido láctico, dióxido de carbono, ácido acético o etanol.



Para Contreras y Muck (2006), la diferencia en fermentación entre microorganismos de estas categorías radica en que, los homofermentativos son más eficientes en el uso de la energía que los heterofermentativos. Durante la homofermentación, cada molécula de glucosa produce dos moléculas de ácido láctico, una mayor recuperación de materia seca y poca pérdida de energía en el ensilaje. El ácido láctico es además un ácido fuerte que reduce más el pH en el ensilado que otros ácidos.

2.2.2 El rol de los aditivos en el ensilaje

La población nativa de bacterias es altamente variable a través de los cultivos y campos agrícolas, dependiendo de la planta y de las condiciones ambientales. La adición de inoculantes microbiales homofermentativos al material a ensilar, ayuda a disminuir más

rápido el pH, inhibiendo otras bacterias y conservando la proteína de la planta. Para Contreras y Muck (2006), una rápida disminución en el pH y un bajo pH al final puede inhibir las bacterias *Clostridiales* que producen ácido butírico (producto de la descomposición de materia orgánica). Normalmente menos ácido acético, butírico y etanol, es producido durante la homofermentación, la cual mejora la recuperación de materia seca en 2 a 3% comparado con la heterofermentación. Un aspecto en contra de los inoculantes homofermentadores es que el cambio hacia ácido láctico puede hacer los ensilajes de maíz, cereales de grano pequeño y otros con un pH normalmente bajo, un poco más susceptibles a calentarse durante el proceso de remoción del silo (la estabilidad aeróbica se reduce) (Mahanna 1993).

Un inoculante homofermentativo es una buena elección para ensilaje de leguminosas. De acuerdo con Neiker (2002) las leguminosas, como la alfalfa, tienen más baja cantidad de carbohidratos solubles y una mayor resistencia a bajar el pH que los pastos o el maíz. En consecuencia, el ensilado de leguminosas tiende a tener un pH más alto que el ensilado de maíz y pastos, lo que favorece una fermentación clostridial cuando se ensilan muy húmedos (>65% de humedad). Un inoculante homofermentativo hace un uso más eficiente de los carbohidratos solubles de la planta al bajar el pH, especialmente cuando el contenido de humedad es alto.

Según Boschini y Elizondo (2003), por el contenido de humedad, el ensilado se clasifica de humedad alta cuando el contenido de materia seca es inferior al 25%, de humedad media con un contenido de materia seca entre 25 y 35%, y de humedad baja cuando la materia seca es superior a 35%.

Los inoculantes homofermentativos son la mejor elección cuando se quiere mejorar la calidad del alimento de cualquier clase de ensilado y aumentan la recuperación de materia seca de un silo bien manejado porque la fermentación es más eficiente (Contreras y Muck 2006).

En cuanto a los inoculantes heterofermentativos, estos pueden ser una buena elección cuando se ha tenido la experiencia de una pobre estabilidad aeróbica en el pasado. La mayor concentración de ácido acético producido por estos inoculantes decrece el crecimiento de levaduras y hongos que provocan que el ensilado se caliente y pudra (Neiker 2002). Sin embargo, es importante reconocer que muchos problemas de calentamiento son provocados por otros aspectos de manejo del ensilaje como ensilar cultivos muy secos, una baja densidad de almacenamiento, un pobre sellado, baja tasa de remoción del ensilado y remover más material del silo de lo que se va utilizar inmediatamente. Estos aspectos deben de ser revisados antes de buscar la ayuda de un aditivo para ensilaje.

Aun cuando el manejo del ensilado es bueno, se pueden tener problemas de calentamiento durante la remoción del ensilado de maíz, de cereales de grano pequeño y de maíz de alta humedad, especialmente en el verano. Puesto que no se sabe que tan caliente va a estar el próximo verano, la aplicación de este tipo de microorganismos en anticipación a problemas de pudrición (por ejemplo en maíz) puede ser útil para evitar calentamiento en ensilados al momento de ser usados con los animales.

Las bacterias heterofermentativas usadas para ensilaje pueden convertir ácido láctico a ácido acético y otros productos. El ácido acético es un buen inhibidor de levaduras y hongos que provocan calentamiento y pudrición del ensilaje. Por tanto, el ácido acético puede mejorar la estabilidad aeróbica del ensilado. Comparado con los inoculantes homofermentativos, las pérdidas de materia seca son similares o mayores en 1 a

2%, y la digestibilidad no es afectada significativamente por estas bacterias, pero la estabilidad aeróbica es mejorada en los ensilados y maíces de alta humedad (Muck y Kung 1997).

Menciona Contreras y Muck (2006), que el pH final es más alto cuando la fermentación es dominada por bacterias heterofermentadoras comparado con bacterias homofermentadoras. Por cada molécula de glucosa usada en heterofermentación, es producida una molécula de ácido láctico, una de ácido acético o etanol, y bióxido de carbono. El bióxido de carbono sale del ensilaje como un gas, resultando en pérdidas de materia seca. El ácido acético no es un ácido fuerte como el láctico, y el etanol no tiene efecto en el pH.

2.2.3 Efecto de inóculos sobre el desempeño animal

Los inoculantes homofermentativos pueden mejorar el desempeño animal en un 3 a 5% (Contreras y Muck 2006). Mientras que los inóculos heterofermentativos no parecen mejorar la respuesta del animal más allá de solo mantener el ensilado fresco en el silo por más tiempo (larga vida del ensilaje).

El uso de inoculantes bacterianos además de mejorar la recuperación de nutrimentos y la estabilidad aeróbica de los ensilajes, también incrementan la digestibilidad de la materia seca del material ensilado. Estos indicadores están estrechamente ligados con las mejoras económicas registradas, debido al incremento de la producción de leche y carne en estudios realizados entre los años 1990 y 1995 (Muck y Kung 1997). Similares resultados describe Bolsen *et al.* (2001) al determinar incrementos en la producción de leche y carne equivalentes a \$6.0 y a \$14.0 por tonelada de maíz ensilado respectivamente. Igualmente,

Jaster (1995) menciona aumentos en la producción de leche de 3,78% en vacas alimentadas con ensilajes de forrajes tratados con inoculantes bacterianos.

Para Ranjit y Kung (2000), los alimentos ensilados sufren deterioro aeróbico, lo que, además de representar un riesgo para la salud, por contener microorganismos patógenos como *Clostridium botulinicum*, *Listeria monocotogenes* y otros, también constituye un vector de contaminación ambiental (por inadecuada eliminación de los alimentos deteriorados); por lo tanto, mejorar la estabilidad aeróbica de los ensilajes conferiría una ventaja sustancial para los productores.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en tres etapas. La primera etapa consistió en la recolección del material a ensilar, la cual se realizó en el distrito de Río Cuarto del cantón de Grecia, en la provincia de Alajuela. Esta región se encuentra a una latitud norte de 10° 20' 3'' y longitud oeste 84° 13' 15''. Presenta una altitud promedio de 999 m.s.n.m., temperatura ambiental entre los 17,5 y los 22,5 °C y una precipitación pluvial fluctuante entre 3500 a 4000 mm por año. La segunda etapa incluyó la preparación de los microsilos y su respectivo período fermentativo, proceso efectuado en la Sede Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, situada en San José. La última etapa comprendió los análisis de laboratorio para composición nutricional y proceso fermentativo, realizado en el laboratorio de bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal (C.I.N.A.) de la Universidad de Costa Rica.

3.2 Descripción del material experimental

Se utilizó follaje de maíz híbrido (Cristina Bukard®) de 90 días de edad, proveniente de la zona de Río Cuarto de Grecia, en Alajuela. El follaje se cosechó mediante cosechadora de 2 surcos (John Dear®), simultáneamente el material se pico a un tamaño de partícula de 2,5 cm.

Los microorganismos eficientes (BAL) fueron de dos clases, uno comercial y otro producido en finca. El primero formado por bacterias heterofermentativas facultativas y obligadas en forma de producto seco fermentado de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobasilum brevis*, *Pediococcus acido lacticis*, *Streptococcus diacetilactis*, suero seco y aluminato silico sódico. El segundo formado por tipos de bacterias desconocidas en clase y proporción debido a la naturaleza de su obtención gracias al método de cultivo artesanal en finca de microorganismos eficientes en un caldo de cultivo.

3.3 Fase de campo

Se tomó una muestra del material fresco para cada tratamiento, esta muestra fue utilizada como referencia (día cero), previo al proceso de ensilaje y así poder comparar sus características fermentativas y nutricionales.

Se elaboraron microsilos de aproximadamente 1,0 kg de peso fresco, en bolsas de polietileno transparente selladas al vacío (0,063 mm). Para el llenado de los microsilos se emplearon porciones aleatorias de material. El proceso de fermentación de los microsilos se llevó a cabo durante un período de 70 días.

El experimento se trabajó con tres niveles de inóculo microbioal artesanal, uno comercial y un control (ausencia de inóculo microbioal), con cinco repeticiones por tratamiento, para un total de 25 microsilos. Se empleo como inóculo microbioal comercial el CEN-SILE® según las especificaciones del fabricante, a razón de 0,5 kg/ton de material fresco, mientras que el inóculo microbioal artesanal, producido en finca utilizando microorganismos eficientes (EM) cultivado en melaza, suero líquido (de leche bovina) y agua, se utilizó en dosis de 0,5, 1,0 y 1,5 L/ton de follaje fresco.

3.4 Análisis de laboratorio

Luego del proceso de ensilaje se procedió a abrir los microsilos para extraer una muestra de cada repetición de 0,25 kg cada una, para el análisis de capacidad fermentativa. En los casos que ameritaban se procedió a descartar el material putrefacto en cada uno de los microsilos, registrando a su vez el peso del mismo. En el caso en que todo el material de un microsililo se encontrara en estado de putrefacción se consideraría como efecto del tratamiento aplicado.

Tanto en las muestras tomadas en el día cero del proceso, como en las tomadas después del proceso fermentativo, se analizó el contenido de materia seca (MS), en estufa a 60°C durante 48 horas, proteína cruda (PC) empleando el método de Kjendall, extracto etéreo (EE) y cenizas (AOAC 1991), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest y Robertson 1985). El contenido de nitrógeno amoniacal (porcentaje del nitrógeno total) y el pH se determinaron únicamente en las muestras obtenidas después del proceso fermentativo, mediante los procedimientos descritos por la AOAC (1991) y Rojas (2008), respectivamente.

La capacidad buffer del material después de ensilar se determinó mediante la metodología de Mc Donald *et al.* (1991), donde se utiliza 20,0 g de muestra fresca macerada y 80,0 mL de agua destilada como diluyente, se agitó 1 minuto cada 10 minutos durante una hora, luego de los cuales se realizó la medición de pH inicial, utilizando un pHmetro CORNIN® MODELO 220 Posteriormente, con se tituló con HCl 0,1 N hasta obtener un pH de 3, posterior a estos, se empleo NaOH 0,1 N para elevar el pH hasta 6, registrando el volumen requerido de NaOH para pasar el pH de 4 a 6. Por medio de una

Rojas A. 2008. *Comunicación personal. Escuela de Zootecnia*

ecuación se obtiene la capacidad buffer de la muestra expresada en mEq de NaOH por cada 100 g de MS.

Las estimaciones de nutrientes digestibles totales (NDT) (Weiss 1999) y de energía digestible, metabolizable, neta de mantenimiento, neta de ganancia y neta de lactación (Linn 2001) se le realizaron a los tratamientos que presentaron la máxima y mínima calidad nutricional en conjunto con los parámetros fermentativos.

3.5 Diseño experimental

Por medio de un diseño irrestricto al azar se evaluó el efecto de los cuatro niveles de inóculos para ensilajes empleados en este trabajo. El análisis de varianza se realizó mediante el modelo ANOVA de SAS (2003), de acuerdo a la siguiente ecuación estadística:

$$y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

y = variable de respuesta obtenida

μ = media experimental

T_i = efecto de tratamiento (inóculo comercial y los diferentes niveles de inóculo artesanal)

e_{ij} = efecto residual en el experimento

Para la determinación de diferencias estadísticas entre medias se aplicó la prueba de Waller y Duncan mediante el programa SAS (2003).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Composición del forraje de maíz antes y después del proceso de ensilaje

4.1.1 Composición del material antes del proceso de ensilaje

En el cuadro 6, se resume el valor nutritivo del material de maíz utilizado para cada tratamiento al inicio del proceso de ensilaje, considerado este momento en esta investigación como la muestra del día cero.

Cuadro 6. Composición nutricional del material de maíz utilizado para cada tratamiento

Indicador	Unidades	Tratamiento				
		Control	CEN-Sile®	EM 0,5	EM 1,0	EM 1,5
MS	%	18,30	17,90	17,90	18,80	18,20
PC	% MS	8,84	9,84	8,79	9,35	9,42
FDN	% MS	67,3	65,9	67,8	62,1	61,8
FDA	% MS	35,6	34,5	35,9	32,0	31,6
Cenizas	% MS	5,69	5,37	5,53	5,62	5,24

En el cuadro 6 se puede notar un efecto cuadrático sobre el contenido de materia seca, causada por la adición de cultivo microbial producido en finca, así como una tendencia a la disminución en el contenido de FDN y FDA conforme se incrementa la dosis

del mismo inóculo, lo cual puede atribuírsele al muestreo o al aporte de humedad del tratamiento en sus diferentes dosis lo que provoca un efecto de dilución. No obstante, para el indicador de materia seca la adición de inóculo comercial o producido en finca es muy similar al dato para el material fresco sin tratamiento o control, lo cual era de esperarse. Caso contrario, se presenta para el contenido de PC, pues su porcentaje tiende a elevarse conforme aumenta la dosis del inóculo, independientemente de si se trata del inoculo comercial o el producido en finca, situación que puede atribuirse a un efecto de muestreo o a la cantidad nitrógeno que podrían aportar los microorganismos. En el porcentaje de cenizas no se presenta una tendencia definida en función de la presencia del inóculo, por lo que no existe un efecto de los tratamientos sobre este indicador.

Sobre la materia seca, León y Montenegro (2001) y González (1988) citan valores para maíz fresco por encima de lo encontrado en esta investigación (32,02% mínima y 34,44% máxima y 22,48% mínima y 28,28% máxima respectivamente), esta diferencia en cuanto al contenido de este indicador se le puede atribuir a la edad de cosecha, condiciones ambientales durante la cosecha o al ecotipo de maíz empleado.

El contenido de proteína cruda obtenido en esta investigación, excede lo indicado por González (1988) y Jhonson *et al.* (2002) quienes señalan promedios de 7,0 % y 8,35% PC para material fresco de maíz híbrido 3845 y Quanta, cosechadas entre 90 y 110 días, pero coinciden con la información descrita por Forouzmand *et al.* (2005), para las variedades SC 704TM y TWC 647TM, por Chen *et al.* (1994), por Ranjit y Kung (2000) con porcentajes entre 8,42% hasta 9,34%, 9,33% y 9,70% respectivamente. Las concentraciones de FDN y FDA para el tratamiento sin aditivos, se encuentran por encima de los valores informados por Kung *et al.* (1993), Forouzmand *et al.* (2005), Chen *et al.* (1994), Jhonson *et al.* (2002), Neumann *et al.* (2007) y Ranjit y Kung (2000), en donde mencionan rangos de concentración de 44,1% a 55,88% para la FDN y de 23,0% a 28,4% para FDA. Las diferencias encontradas en estos indicadores se pueden atribuir a: la edad de

cosecha del forraje, condiciones ambientales al momento de la cosecha, ecotipo del maíz utilizado y/o al error experimental del análisis de laboratorio.

4.1.2 Composición nutricional del material ensilado

En el apéndice A2 se presenta en una tabla la composición nutricional y fermentativa del ensilaje de maíz con diferentes niveles de inóculo microbial producido en finca, comercial y el control.

4.1.2.1 Materia seca total (MST)

Se determinaron en este indicador diferencias por efecto de la adición del inóculo en los materiales ensilados ($p < 0,0001$). En la figura 1, se representa un comportamiento cuadrático en relación con las dosis crecientes del inóculo producido en finca. El contenido de MST varió significativamente por la adición del inóculo ($p < 0,0001$). Al comparar el tratamiento de inóculo comercial (CEN-Sile®) con el tratamiento control no se determinó diferencia significativa, caso contrario, al confrontar los tratamientos con inóculo producido en finca, el grupo control y el inoculo comercial ($p < 0,0001$). El mayor contenido de materia seca se obtuvo en el tratamiento control, mientras que, el tratamiento con la dosis menor de inóculo producido en finca fue el tratamiento con menor contenido de materia seca ($15,71\% \pm 0,11$ vs $14,63\% \pm 0,31$) ($p < 0,0001$). Lo anterior indica que el inóculo microbial producido en finca tiende a disminuir el porcentaje de materia seca en el ensilado de maíz mientras que el inóculo comercial no afecta este indicador en el material ensilado. Esta disminución de la MST puede ser causada por la o las poblaciones de microorganismos presentes en los tratamientos con inóculos producidos en finca que

descomponen más fracciones del material vegetativo que la población del inóculo comercial.

Los porcentajes de materia seca obtenidos en esta investigación están por debajo de los valores indicados por Boschini y Elizondo (2003) de 20,2%, Kung *et al.* (1993) de 32,9–33,3%, Kleinschmit y Kung (2006) de 30,70% \pm 1,15 o Tobía (2004) 24,5% para ensilajes de maíz sin inóculo. Este comportamiento podría ser explicado por efecto del microsilo empleado, el cual no permite la salida de efluentes y al procedimiento empleado para la toma de la muestra al momento de la apertura, en donde se mezcló la parte superior del material con la parte inferior, para homogenizar. Según Boschini y Elizondo (2003) los porcentajes obtenidos de materia seca clasifican a estos materiales fermentados como ensilajes con alta humedad, independientemente del tratamiento empleado, por lo que estos ensilados no favorecen al consumo de materia seca en animales en cuya dieta se suplementa con este tipo de material.

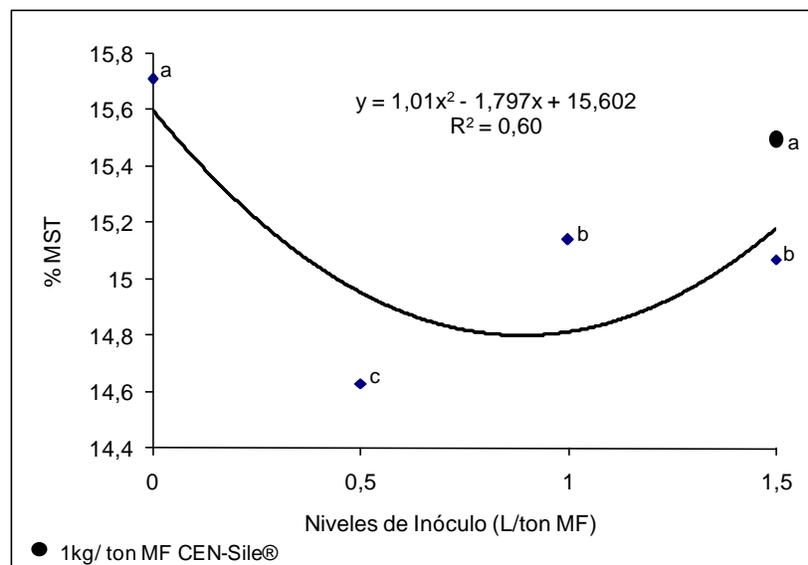


Figura 1. Contenido de materia seca total para el ensilaje de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación
Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Hag *et al.* (1982) obtuvieron el mismo resultado al comparar ensilajes de maíz con y sin inóculo (*Lactobacillus buchneri*), donde encontraron una disminución en el porcentaje de materia seca conforme aumentó la dosis del inóculo al material (36,73% para la dosis mayor y 35,90% para la menor) lo cual lo atribuyen al aporte de humedad presente en el material a ensilar, pues entre mayor sea el contenido de humedad menor será el porcentaje de materia seca presente al final del proceso fermentativo. Similar resultado obtuvieron Kung *et al.* (1993) al evaluar contenido de materia seca en dos experimentos utilizando el aditivo microbial Ecosyl® (*Lactobacillus plantarum*) en dosis indicada por el fabricante (1×10^6 cfu) a ensilajes de maíz (32,9% y 39,8% para tratamientos con inóculo contra 34,7% y 39,9% para el control, respectivamente).

4.1.2.2 Proteína cruda (PC)

Se determinó una tendencia cuadrática en relación con el contenido de PC (Figura 2) con respecto a las dosis crecientes del inóculo producido en finca. Los mayores contenidos de este indicador se presentan en el ensilaje con adición de 1,5 L/ton de inóculo artesanal, aunque no difiere del ensilaje con adición de CEN-Sile®. Además, la aplicación de inóculo microbial artesanal, con dosis 1,0 L/ton, produjo el ensilaje con menor porcentaje de proteína cruda respecto del tratamiento control.

Las concentraciones de PC descritas por Eun *et al.* (2007), Kung *et al.* (1993), Ferreira y Mertens (2005), Hemken *et al.* (1970) y Forouzmand *et al.* (2005) para ensilajes de maíz sin inóculo, son menores a las determinadas en este trabajo (6,6%; 7,71-8,68%; $7,8\% \pm 1,4$; 7,8% y 7,55-9,04%, respectivamente) pero similares a las descritas por Heinrich y Conrad (1984), Baxter *et al.* (1980), Ballard *et al.* (2001) para la variedad Cargill, Johnson *et al.* (2002) y Tobía *et al.* (2004) (8,5%; 9,3-9,7%; 8,7%; 8,0-8,8% y 8,9%, respectivamente). Similar comportamiento en el contenido de PC, se encontró en los

trabajos de Wohlt (1989), Hag *et al.* (1982), Ranjit y Kung (2000) y Kung *et al.* (1993) para ensilajes de maíz con aplicación de inóculos (8,4%; 9,59 y 9,98%; 7,60%; 9,70% y 7,57-8,51%, respectivamente).

Las variaciones de proteína cruda, encontradas en la literatura, podría deberse al tipo de variedad de maíz empleado, tipo de inóculo aplicado, edad de cosecha, momento cosecha, condiciones que afectan el contenido de PC y/o al error experimental del método de laboratorio empleado para obtener este indicador (WingChing-Jones 2006).

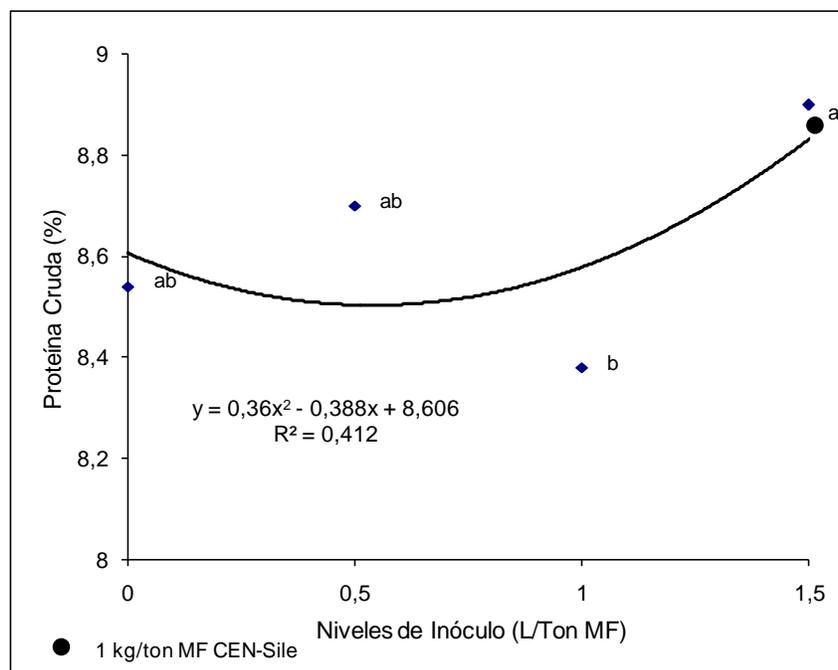


Figura 2. Contenido de proteína cruda para el ensilaje de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

4.1.2.3 Fracciones de la pared celular

a. Fibra detergente neutro (FDN)

En la figura 4, se muestra como existe diferencia significativa entre los tratamientos y el control ($p < 0,0033$). De esta manera, la aplicación del aditivo microbial aumenta la concentración de FDN conforme se incrementa la dosis del inóculo, sea este comercial o elaborado en finca, comportamiento que se explica debido a la utilización de otras formas de carbono por las poblaciones de bacterias presentes en el inóculo que la FDN, lo que causa el efecto de incremento de su concentración. Así, el mayor contenido de esta fracción de la fibra lo muestra el tratamiento con dosis de 1,5 L/Ton ($66,48\% \pm 1,55$), mientras que, el tratamiento con inóculo comercial y el control presentaron los valores menores para esta fracción ($59,74\% \pm 1,82$ y $58,64\% \pm 0,68$ respectivamente).

Eun *et al.* (2007) indican un valor para esta fracción de la pared celular de 43,8%, mientras que Kung *et al.* (1993) y McDonald (1981) mencionan un valor de 44,1% y de 41,3% respectivamente, para ensilajes sin inóculo microbial. Estos mismos autores mencionan un rango entre 43,1–43,8% para esta fracción en ensilajes inoculados; similar resultado describen Ranjit y Kung (2000) (44,2%), en ambos estudios se citan valores menores a los obtenidos en esta investigación, mientras que Forouzmand *et al.* (2005) mencionan para maíz inoculado un valor de 49,1–49,62%. Para Holland *et al.* (1995), los altos contenidos de esta fracción de la fibra podrían limitar la capacidad de consumo del animal por un llenado físico de la cavidad ruminal.

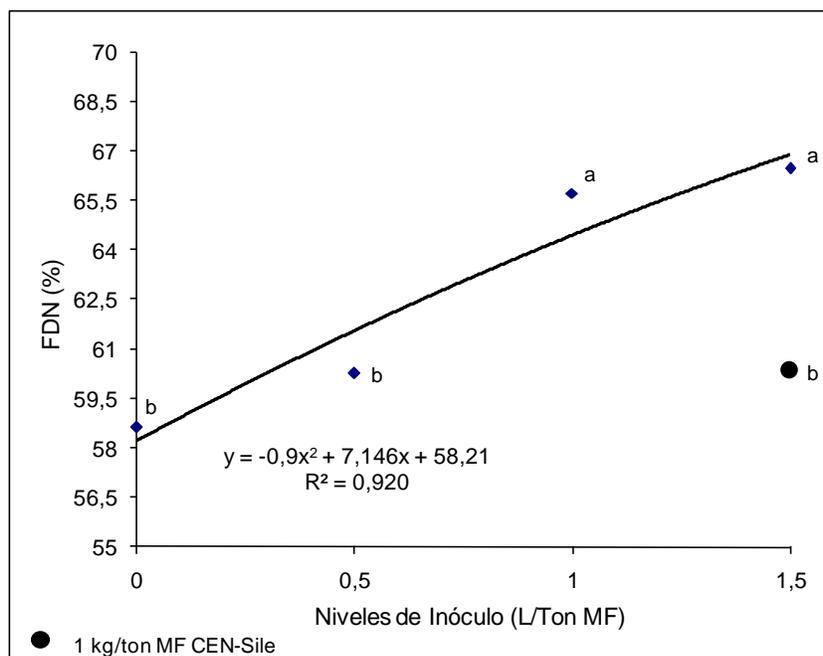


Figura 3. Contenido de fibra detergente neutro en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

b. Fibra detergente ácida (FDA)

Los efectos principales evaluados afectan significativamente el contenido de FDA ($p < 0,0380$) (Figura 3), lo que revela una relación directamente proporcional conforme se aumenta la dosis del inóculo producido en finca. Al comparar el tratamiento control y el tratamiento del inóculo comercial (CEN-Sile®) no se determinó una diferencia significativa entre ellos ($p > 0,05$). El tratamiento de mayor dosis de inóculo producido en finca obtuvo el porcentaje más alto de FDA, mientras que el tratamiento control presentó la menor concentración ($40,30\% \pm 1,18$ vs $37,00\% \pm 0,48$ respectivamente) ($p < 0,0380$).

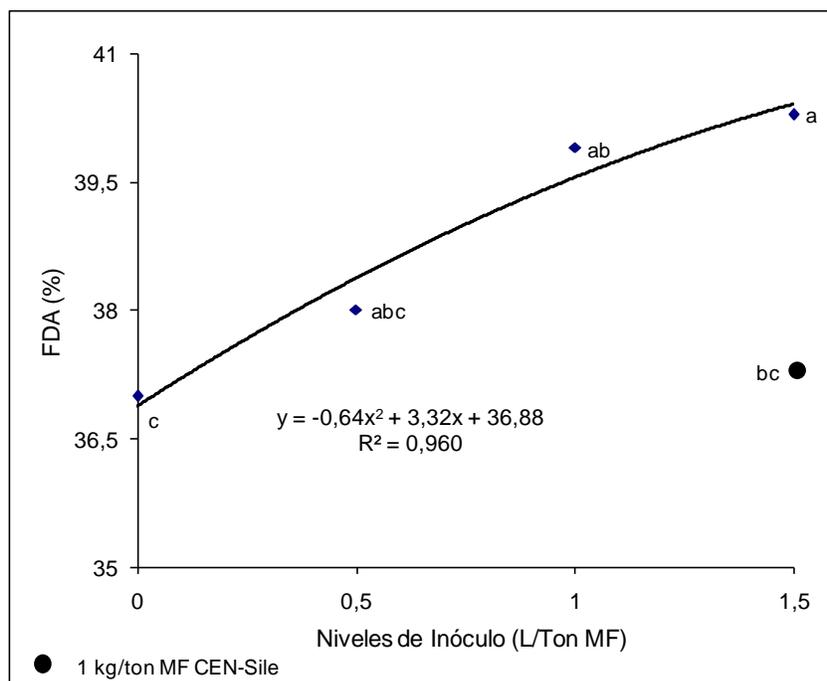


Figura 4. Contenido de fibra detergente ácida en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.
 Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Este efecto de la aplicación del inóculo sobre el contenido de FDA en el material ensilado es similar a lo informado por Kung *et al.* (1993), Wohlt (1989) y Luther (1986), los cuales lo atribuyen dicho aumento a un efecto en la estabilidad del material fermentado, que disminuye la descomposición de esta fracción de la pared celular, lo que provoca que otra fracción disminuya.

Este incremento en el contenido de FDA podría ser explicado por el o los tipos de poblaciones de bacterias presentes en el inóculo artesanal, los cuales provocan aumentos en la concentración de los componentes de la FDA en el material ensilado, por la utilización más eficiente de componentes más disponibles (no fibrosos) presentes en el material durante el proceso fermentativo. Estos porcentajes de FDA generan una reducción en el

aporte energético a la dieta de los animales, pues esta fracción de la pared celular se relaciona con la digestibilidad del material, razón por la cual ensilajes de maíz inoculados podrían tener un efecto negativo en la productividad de animales que son alimentados con este tipo de material (Roth y Heinrichs 1993), aunque Sheperd y Kung (1996) mencionan que ensilajes de maíz tratados con enzimas tienden a reducir las fracciones de FDA y la FDN, aunque su efecto sobre la fermentación del material es mínimo, lo que demuestra que, a diferencia del tratamiento con inóculo bacterial, el tratamiento de enzima tiene efecto sobre el componente fibroso del ensilaje de maíz, lo cual depende del tiempo de fermentación.

c. Lignina

En la figura 5 se observa un comportamiento cuadrático en donde la presencia de inóculo microbial artesanal produce un aumento en el contenido de esta fracción de la pared celular. El menor porcentaje de lignina lo presentó el tratamiento control (2,32%) y el mayor el tratamiento con una dosis de 1,0 L/ton. Existe una diferencia significativa ($p < 0,0001$) entre el inóculo comercial y el producido en finca tanto así que no hubo diferencia significativa entre el tratamiento con inóculo comercial y el control. Este incremento en el contenido de lignina, podría estar relacionado al incremento de la FDA analizado anteriormente, ya que, la FDA está constituida por la pared celular primaria que contiene celulosa y lignina, entre otras.

El incremento en esta fracción provoca una disminución de la digestibilidad del material ensilado lo cual va en detrimento de la calidad nutricional de dicho material fermentado.

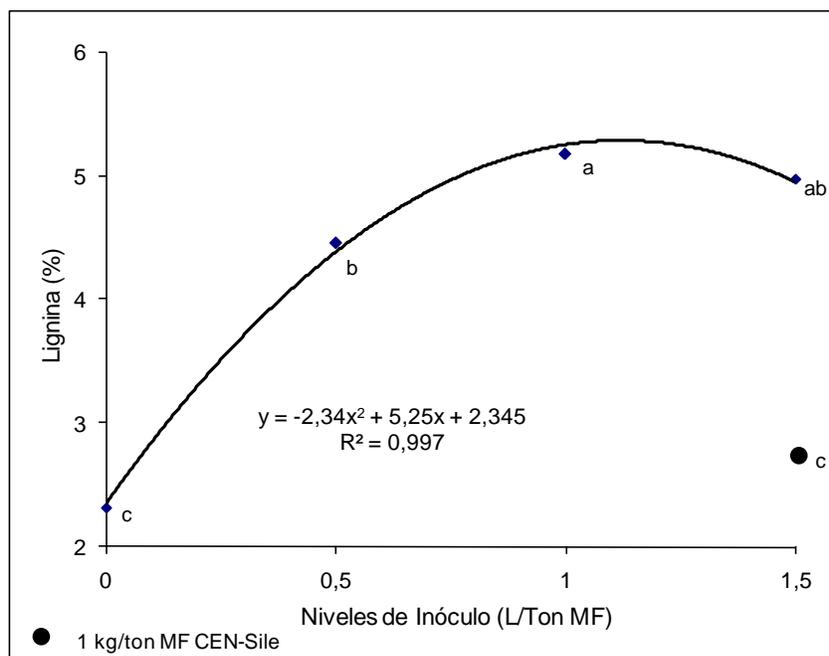


Figura 5. Contenido de lignina en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.
 Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

4.1.2.4. Cenizas

Los contenidos de ceniza encontrados en esta investigación (Figura 6), no difieren significativamente entre tratamientos ($p > 0,28$). Similar resultado obtuvo Sibanda *et al.* (1997) de 5,2% en ensilados de maíz mezclados con leguminosa (mezcla 85% y 15% respectivamente). Para Neiker (2002) los contenidos de cenizas en un ensilaje de maíz no deberían exceder el 10%, de lo contrario es muy probable que exista contaminación por suelo presente en la muestra analizada. Los valores encontrados en este trabajo coinciden con lo citado por McDonald (1981) y Jhonson *et al.* (2002) quienes mencionan porcentajes de cenizas de 5,5% y 4,5–4,7%, respectivamente, para ensilajes de maíz con inóculo, pero mayores a lo citado por Kung *et al.* (2008) quien indica valores de 3,48–3,78% para el

mismo material fermentado. Variables como el ecotipo, la frecuencia de corta, la deshidratación y la inclusión de aditivos afectan el contenido de cenizas en los materiales ensilados (WingChing-Jones 2006), así como el muestreo.

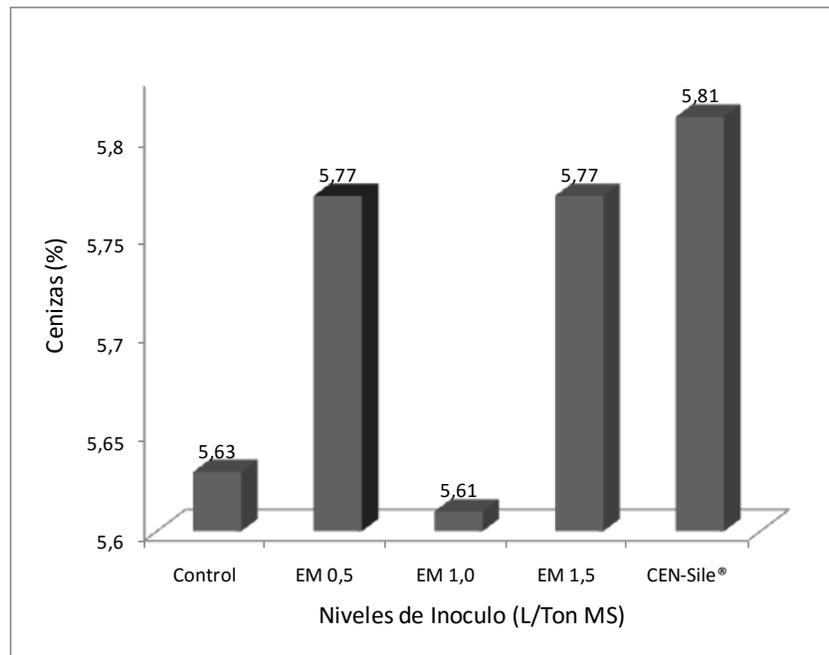


Figura 6. Contenido de cenizas en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

4.1.2.5. Extracto etéreo

La variación en el contenido de extracto etéreo no fue significativa para esta investigación ($p > 0,1677$) pues no existen diferencias entre los porcentajes de este indicador para los cinco tratamientos utilizados.

A pesar de lo anterior, los contenidos de extracto etéreo rondan entre 1,61% y 1,83%, valores que están dentro de los rangos normales para este tipo de material fermentado (Huffman y Duncan 1955). Por lo anterior, el contenido de extracto etéreo no se ve afectado por la inclusión de niveles crecientes de inóculo, sea este artesanal o comercial, lo cual podría deberse a que el inóculo no aporta cantidades suficientes de lípidos, vitaminas liposolubles, entre otros, que puedan incrementar sustancialmente dicho indicador. Además, los valores encontrados en esta investigación no aportan extracto etéreo suficiente como para considerar al ensilaje de maíz una fuente rica en este rubro. Según Tobía (2004) el contenido final de extracto etéreo en las formulaciones de dietas para vacas lecheras no debería superar el 5%, por lo cual debe suplementarse la dieta del animal con otras fuentes que satisfagan dicha necesidad.

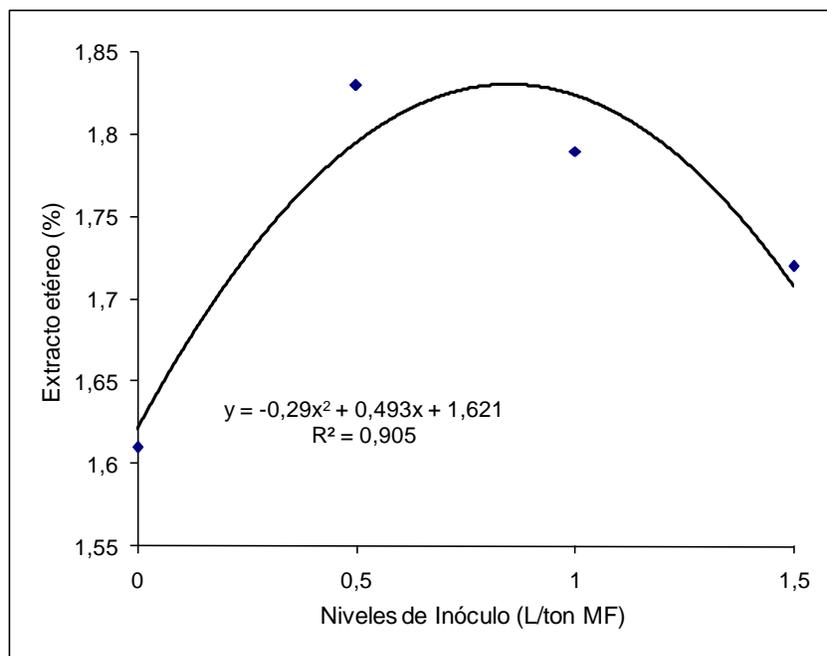


Figura 7. Contenido de extracto etéreo en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

4.1.2.6. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

El tratamiento control presentó una mayor digestibilidad en comparación con los tratamientos con inóculo producido en finca en sus diferentes dosis al igual que con el tratamiento con inóculo comercial, pese a lo anterior, no se presenta diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,1126$).

McDonald (1981) menciona valores para la digestibilidad del ensilaje de maíz (variedad Canadian) de 75% como mínimo y 86% como máximo, rango mayor al encontrado en este trabajo, 63%-70% según la figura 8, lo cual puede atribuirse al híbrido empleado, a la edad de corta del maíz, al período de fermentación y/o al error experimental del método. Mientras que, los resultados obtenidos por Tobía (2004) de 62,9 y 70,3%, concuerdan con lo obtenido en esta investigación.

Esta disminución de la digestibilidad del ensilaje por la adición de inóculo microbiano se asocia a la relación inversa que existe con la fracción de la pared celular, ya que conforme aumentan los contenidos de FDA y lignina, disminuye la digestibilidad del material fermentado, mientras que al aumentar la fracción de FDN se disminuye el consumo animal. En esta investigación queda demostrado dicha afirmación al comparar los porcentajes de la FDA, FDN y la lignina (Figuras 3, 4 y 5 respectivamente) con la tendencia mostrada en la figura 8 por la digestibilidad *in vitro* del ensilaje de maíz.

Según Quirós (1992) la digestibilidad del ensilaje de maíz dependerá de la digestibilidad del forraje en pie, además, las posibles variaciones en este indicador se deben a un desequilibrio en la proporción de los componentes estructurales que permanecen inalterados, durante el proceso fermentativo, con respecto a la transformación de la fracción

altamente digestible del componente celular. Coincide Baxter *et al.* (1980) y Di Marco *et al.* (2005) al citar porcentajes de digestibilidad menores para los forrajes ensilados cuando se comparan con los forrajes frescos y se lo atribuyen a las pérdidas inevitables, de diferentes fracciones del material, que ocurren durante la fermentación y la conversión de componentes químicos de la planta en otros menos provechosos.

Para Dado y Allen (1995) con aumentos en la degradación de la FDN se esperarían incrementos en el consumo de MS, en producción de leche y en la utilización de nutrientes por las vacas, pues mejoras en la digestibilidad *in vitro* de la FDN, permiten un mayor consumo voluntario por parte del animal, reduciendo el efecto del llenado físico en el rumen. Además, aumentando la degradabilidad de la FDN se logra incrementar la densidad de energía de dietas y estimular la producción de N microbial (Eun *et al.* 2007).

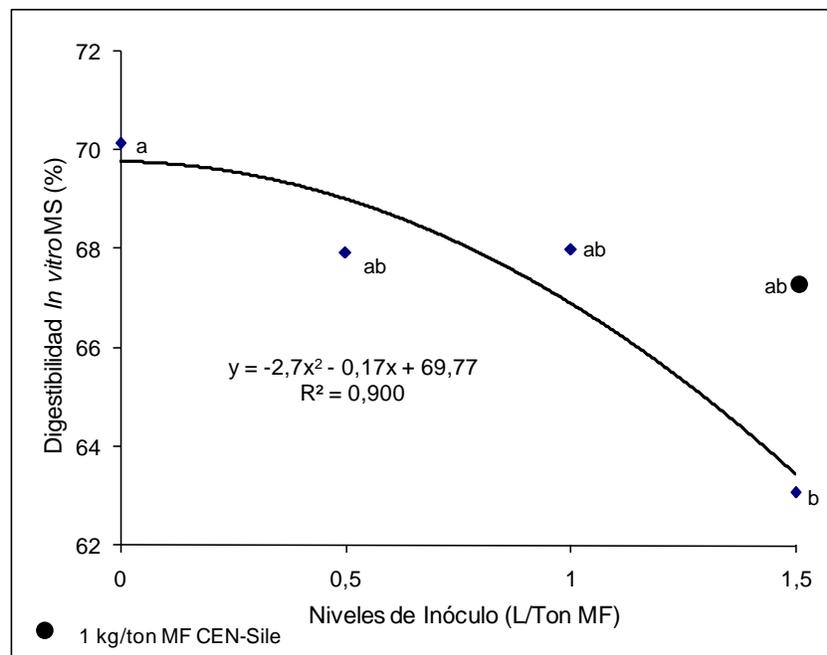


Figura 8. Porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la materia seca en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación. Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Un incremento en la digestibilidad del alimento ofrecido al animal influye en el proceso productivo, como indica Eun *et al.* (2007), un aumento del 10% en la digestión de la pared celular de cualquier forraje implica un aumento en la producción de leche y carne en los Estados Unidos, alrededor de \$380 millones, reduce la cantidad de sólidos en el estiércol por 2,3 millones de toneladas, así como el uso de grano por 3,0 millones de toneladas anualmente.

4.2 Características fermentativas del ensilaje de maíz

4.2.1. pH

Se presentó diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0,002$), todos los tratamientos de la investigación pueden considerarse como ideales para el indicador de pH pues categorizan al material fermentado como un buen ensilaje. La figura 9 muestra como los valores de pH disminuyen conforme se aumentó la concentración de inóculo producido en finca en el material fermentado. Por otro lado, los tratamientos con inóculo producido en finca de menor dosis y el inóculo comercial presentan un efecto similar sobre este indicador de la fermentación, aunque sus valores son ligeramente superiores con respecto de los demás tratamientos.

Estos datos coinciden con lo mencionado por McDonald (1981), Kung *et al.* (1993), Forouzman *et al.* (2005), Heinrich y Conrad (1984), Ballard *et al.* (2001), Hag *et al.* (1982) y Kleinschmit y Kung (2006), Wohlt (1989), Jhonson *et al.* (2002) quienes muestran en sus trabajos rangos para pH que fluctúan entre 3,7-4,50 para ensilajes de maíz sin inóculo. Los mismos autores citan rangos de pH para ensilajes de maíz inoculados entre 3,69-4,09

mientras que Ranjit y Kung (2000) citan un valor de pH para ensilaje de maíz inoculado de 5,48.

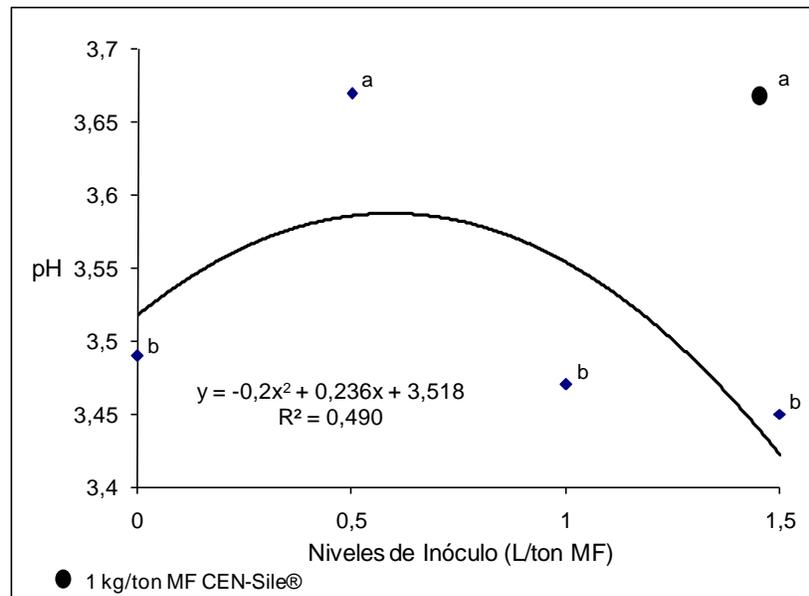


Figura 9. Valor de pH en los ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Estos niveles bajos de pH ponen de manifiesto que, la incorporación de inóculo microbial, sea este comercial o no, propician un proceso fermentativo más intenso, beneficiando así las fermentaciones deseadas (fermentación láctica) (Boschini y Elizondo 2003), lo que reduce las pérdidas por descomposición anaeróbica y evitan el crecimiento de las poblaciones de bacterias no deseadas, lo que provoca una menor capacidad buffer del material a ensilar, una reducción de los ácidos grasos acético y butírico y se minimiza la destrucción de la proteína del material por fermentaciones clostridiales (WingChing-Jones 2006).

En este estudio los valores obtenidos de pH, sin importar el tratamiento, son representativos de un ensilado de excelente calidad nutricional, según lo informa WingChing-Jones (2006), para quien un valor de pH de 3,5 clasifica al producto fermentado como excelente, mientras que uno de 4,2 es clasificado como bueno.

Paradójicamente ensilajes con un adecuado proceso fermentativo ($\text{pH} < 3,9$) son materiales que presentan problemas de consumo por los animales (Shaver *et al.* 1984), pues los bajos niveles de pH en los forrajes ensilados se consideran como un inhibidor del consumo en los animales. Los valores de pH obtenidos en esta investigación (3,45 mínimo y 3,67 máximo) se encuentran por debajo del rango de optimización del consumo de ensilaje de maíz (4,46 y 5,62) (Shaver *et al.* 1984), lo cual se podría atribuir al aumento en la proporción de ácido acético y/o láctico producto de la fermentación con inóculo microbial utilizados en esta investigación.

4.2.2. Capacidad buffer

Este indicador de la fermentación tiene un comportamiento lineal, se encontró una correlación positiva entre la concentración de inóculo y la capacidad amortiguadora (Figura 10). Existen diferencias significativas entre el tratamiento control y los niveles de 1,0 y 1,5 L/ton de inóculo producido en finca ($p < 0,001$), no así con el inóculo comercial y el nivel de 0,5 L/ton de inóculo artesanal.

Estos resultados son similares a los informados por McDonald (1981) para ensilaje de maíz (híbrido Inra 200) de 28,5 meq de NaOH/100 g de MS. Mayores valores menciona Chen *et al.* (1994) quien indica 89,8 y 91,6 meq de NaOH/100 g de MS para ensilajes de maíz cosechado a los 90 días con inóculo y sin inóculo respectivamente; Shaver *et al.* (1984) muestra valores de 44,2 meq de NaOH/100 g de MS. Tales diferencias pueden

deberse tanto por variaciones en el híbrido de maíz como en el método experimental empleado en las diferentes investigaciones, pues en algunos casos la muestra es macerada (licuada) y para este trabajo fue machacada (WingChing-Jones 2006). Además, menciona Jhonson *et al.* (2002) que la capacidad buffer del ensilaje de maíz se incrementa conforme aumenta el período de fermentación del material.

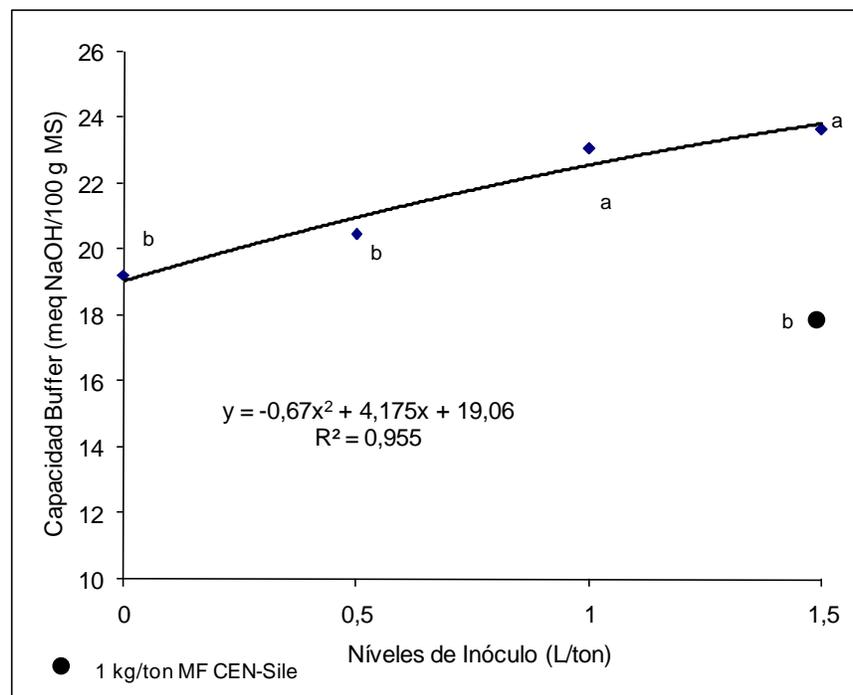


Figura 10. Comportamiento de la capacidad buffer en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.
Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

Según Jasaitis *et al.* (1987) la capacidad buffer se relaciona con la proporción de proteína existente en el material a fermentar, así, entre mayor contenido de proteína mayor será la capacidad amortiguadora del material vegetativo. Concuerdan Giger-Reverdin *et al.* (2002) y Montañez *et al.* (2006) en que entre mayor contenido de proteína presente un

forraje mayor será su capacidad amortiguadora. Lo anterior explica el bajo pH del ensilaje de maíz de esta investigación, pues al contar el material con bajos niveles de proteína (7,54 – 8,90%, figura 2), aunado a su alta concentración de carbohidratos solubles, implica una baja capacidad amortiguadora durante el proceso fermentativo.

El impacto de la capacidad buffer sobre el proceso fermentativo del ensilaje se refleja en los niveles de pH y el consumo del animal principalmente, pues un incremento en la capacidad amortiguadora del material ensilado origina un aumento tanto en el pH como en el consumo animal. Shaver *et al.* (1984) indica que una neutralización de la acidez (del pH de 1,0 a 1,5 unidades) en forrajes ensilados como el maíz produce aumentos en el consumo de 10% a 20% en ovejas, vacas jóvenes y novillos.

4.2.3. Nitrógeno amoniacal

El contenido de nitrógeno amoniacal presente en el ensilaje de maíz varía de manera significativamente según contenga o no inóculo microbial ($p < 0,0001$), así, todos los tratamientos con inóculo, artesanal o comercial, presentan (Figura 11) mayor contenido de $N-NH_3$ que el tratamiento control.

Aunque no hubo diferencia entre tratamientos del inóculo microbial producido en finca en las dosis de 1,0 y 1,5 Kg/ton y el tratamiento con inóculo comercial, caso contrario, se determinó con la dosis de 0,5 L/ton de inóculo producido en finca, donde se obtuvo el mayor porcentaje ($8,23 \pm 0,84$ % NH_3/N total) de nitrógeno amoniacal en el ensilaje.

La formación de nitrógeno amoniacal se favorece por la presencia del inóculo, sea este comercial o artesanal, lo cual se le puede atribuir a que el tipo de bacterias presentes en el inóculo descomponen la proteína, durante el proceso fermentativo, más eficientemente que en el tratamiento control, razón por la cual se presentan incrementos en este indicador de la fermentación. Además, Kung *et al.* (1993) señalan que la cantidad de humedad presente durante el proceso fermentativo se relaciona directamente con el contenido de nitrógeno amoniacal al final del proceso, lo cual explica los bajos porcentajes de este indicador para los tratamientos control y con inóculo comercial ya que estos poseen un mayor porcentaje de materia seca (Figura 1).

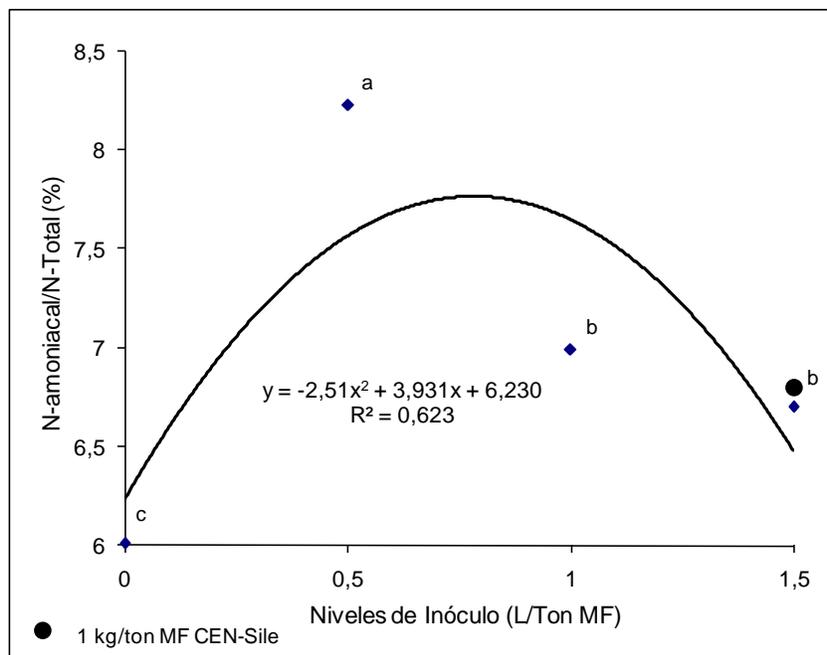


Figura 11. Contenido de nitrógeno amoniacal en ensilajes de maíz con adición de dos aditivos mejoradores de la fermentación.

Valores con diferentes letras difieren estadísticamente ($p < 0,05$)

El contenido de nitrógeno amoniacal en el material fermentado se correlaciona directamente con la degradación de las proteínas presentes en el mismo, lo cual repercute en una disminución de la calidad nutritiva del material vegetativo y en un incremento del porcentaje de material rechazado por los animales (WingChing-Jones 2006). En los apéndices A4 y A5 se muestran, respectivamente, una descripción de los principales parámetros utilizados y los porcentajes de consumos para evaluar la calidad de los ensilajes, en donde, basados en los porcentajes de nitrógeno amoniacal presente en el material fermentado, todos los ensilajes analizados en esta investigación clasifican como materiales de excelente a buena calidad y consumo.

4.3 Valor energético del ensilaje

Los valores determinados (Figura 12), demuestran que el tratamiento control presenta en promedio, una densidad energética mayor al 18,5% que las obtenidas por el tratamiento de 1,5 L/ton de adición de inóculo producido en finca. Los resultados de energía metabolizable, determinados en esta investigación son similares a los informados por Rojas y Manríquez (2001), los cuales mencionan valores de 2,62 Mcal/Kg para el cultivo de maíz en monocultivo.

Los contenidos de NDT (Nutrientes digestibles totales) para estos dos tratamientos fueron 66,80% para el control y de 57,65% para el inóculo producido en finca de 1,5 L/ton (figura 12). Huffman y Duncan (1955) mencionan valores de NDT de 62,68 y 66,56%, para ensilajes de maíz de la variedad Eureka y Ohio M15, cosechados a 90 y 70 días de edad respectivamente, valores inferiores a los obtenidos en esta investigación. En cambio, el manual de la Holland *et al.* (1995) indica un contenido de 70% de NDT para ensilajes de maíz con un tiempo de cosecha de 90 días de edad.

Lo anterior implica que la adición de inóculo artesanal, aunque sea este en altas dosis, no mejora los valores de ED, EM, EN_M, EN_G y EN_L para ensilajes de maíz, ni tampoco causa un efecto positivo sobre el contenido de NDT. Tal situación, esta explicada por el efecto encontrado en este trabajo sobre los componentes de la pared celular por efecto de la adición de inóculos bacteriales.

Esta diferencia de 9,15% de NDT entre el tratamiento control y el inoculado (1,5 L/ton) se traduce en un bajo consumo de energético en la dieta, que muchas veces representa un problema en animales jóvenes y en vacas de alta producción de leche. La ingesta de raciones hipocalóricas reduce el crecimiento corporal, la producción de leche, el contenido proteico de la leche y en algunas ocasiones el de la grasa, además, deteriora los índices reproductivos y la salud del animal (Tobía 2004).

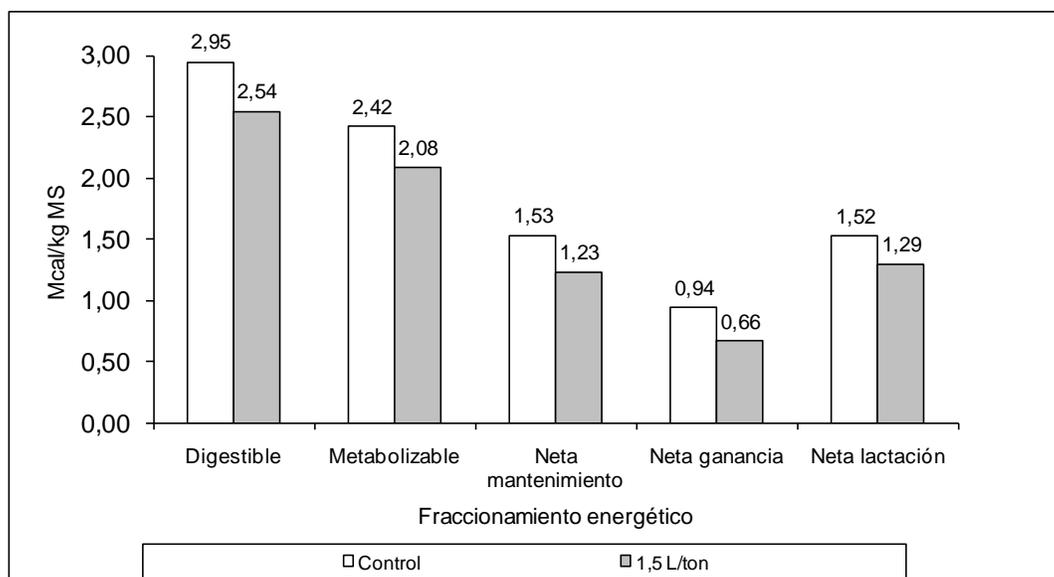


Figura 12. Densidad energética del ensilaje de maíz con el mejor y peor tratamiento, según la relación de sus indicadores fermentativos y nutricionales

Cabral *et al.* (2002) menciona una alta correlación entre la NDT y el contenido de FDN, así, aumentos en el porcentaje de FDN provocan disminuciones en el contenido de NDT, lo cual justifica los valores encontrados en esta investigación para este indicador. Así, el tratamiento con inóculo producido en finca presentó el menor porcentaje de NDT pues sus contenidos de FDA, FDN y lignina fueron los más altos con respecto al control y los demás tratamientos con inóculo.

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas sobre las características fermentativas y nutricionales en el ensilaje de maíz por la aplicación de inóculo microbial, sea este comercial o producido en finca.

Aunque el impacto del inóculo microbial, comercial o artesanal, en el proceso fermentativo del maíz no es sobresaliente, el uso de inóculo producido en finca es factible y presenta resultados competitivos ante el inóculo comercial, lo cual disminuye los costos de producción de ensilajes con uso aditivos de este tipo, con lo cual se logra una mayor eficiencia en el uso de los recursos en finca.

La caracterización del tipo de organismos y sus diferentes proporciones es fundamental para evaluar adecuadamente el proceso fermentativo del ensilaje de maíz. Conociendo el tipo de poblaciones presentes en el inóculo se puede predecir cuál(es) será(n) los aportes de éste al proceso fermentativo del material a fermentar.

El hecho de desconocer la o las poblaciones de microorganismos presentes en el inóculo y sus proporciones puede explicar los efectos de este aditivo en el proceso fermentativo del maíz. Desconocer las proporciones de las bacterias presentes en el inóculo puede afectar y deteriorar el ensilaje lo cual va en detrimento del valor fermentativo y nutricional del material a ensilado.

El maíz es un cultivo tropical que se ensila adecuadamente sin ayuda de aditivos, por lo tanto el impacto que tiene un aditivo microbial sobre su proceso fermentativo es mínimo, por lo que la utilización de este tipo de biotecnologías es recomendable en otros forrajes

verdes como las leguminosas o gramíneas tropicales, cuyo proceso fermentativo es más restringido, en donde su impacto fermentativo y nutricional sería de mayor relevancia.

RECOMENDACIONES

Repetir y continuar con la evaluación y comparación de los efectos de la aplicación de inóculos microbiales artesanales y comerciales sobre las características fermentativas y nutricionales no solo del maíz sino también en otros forrajes tropicales de importancia en el país.

Considerar, dentro de la evaluación y comparación entre inóculos artesanal y comercial, la respuesta en el comportamiento animal.

Realizar el análisis de ácido grasos volátiles a los materiales ensilados con la finalidad de comprender mejor el proceso fermentativo del material vegetativo utilizado.

En forrajes difíciles de ensilar, como las leguminosas, que presentan bajos contenidos de azúcares solubles, alta capacidad amortiguadora y los pastos tropicales, que presentan baja cantidad de BAL (bacterias ácido lácticas) y carbohidratos fermentables es conveniente el uso de inoculantes bacterianos.

Buscar alternativas en la metodología de microsilos que permitan un adecuado drenaje de efluentes durante el proceso fermentativo y evitar así interferencias en el análisis de las características nutricionales y fermentativas en el ensilaje.

Probar a nivel de finca los efectos de inóculos comercial y artesanal sobre la estabilidad aeróbica del material ensilado.

APÉNDICES

APÉNDICE A1. Categorías de aditivos para el ensilaje

Tipo de Aditivo	Ingrediente Activo Típico	Comentarios
Estimulantes de fermentación	BAC	Puede afectar la estabilidad aeróbica
	Azúcares (melaza)	
	Enzimas	
Inhibidores de fermentación	Ácido fórmico*	
	Ácido láctico*	
	Ácidos minerales	
	Nitritos	Inhibidores de clostridios
	Sulfitos	
	Cloruro de sodio	
Inhibidores de deterioro aeróbico	BAC	
	Ácido propiónico*	
	Ácido benzoico*	
	Ácido sórbico	
Nutrientes	Urea	Puede mejorar la estabilidad aeróbica
	Amoníaco	Puede mejorar la estabilidad aeróbica
	Minerales	
Absorbentes	Pulpa seca de remolacha azucarera	
	Paja	

Fuente: Adaptado de McDonald et al. (1991) y Stefanie et al. (2001)

**o su sal correspondiente*

APÉNDICE A2. Composición nutricional de los ensilajes de maíz con diferentes niveles de inóculos producidos en finca, con inóculo comercial y el control

Indicador nutricional	Tratamiento				
	EM 0,5 L/ton	EM 1,0 L/ton	EM 1,5 L/ton	CEN-Sile® 0,5 Kg/ton	Control
MST (%)	14,63	15,14	15,07	15,50	15,71
pH	3,67	3,47	3,45	3,67	3,49
Capacidad buffer	20,47	23,09	23,65	18,9	19,24
Extracto Etéreo (%)	1,83	1,79	1,72	1,73	1,61
Cenizas (%)	5,77	5,61	5,77	5,81	5,63
NH ₃ (%)	8,23	6,99	7,00	6,65	6,01
Proteína Cruda (%)	8,70	8,38	8,90	8,87	8,54
FDN (%)	60,28	65,74	66,48	59,74	58,64
FDA (%)	38,02	39,92	40,30	37,30	37,00
Lignina (%)	4,46	5,18	4,98	2,36	2,32
DIVMS	67,92	68,00	63,08	67,58	70,14
CNF (%)	23,42	18,48	17,13	23,85	25,58

ELN=extracto libre de nitrógeno

APÉNDICE A3. Densidad energética y contenido de NDT del ensilaje de maíz con el mejor y peor tratamiento, según la relación de sus indicadores fermentativos y nutricionales

Fracción Energética en Mcal/kg MS	Tratamiento	
	Control	EM 1,5 L/ton
Digestible	2,95	2,54
Metabolizable	2,42	2,08
Neta de mantenimiento	1,53	1,23
Neta de ganancia	0,94	0,66
Neta de lactación	1,52	1,29
Nutrientes digestibles totales	66,80	57,65

APÉNDICE A4. Descripción de los principales parámetros de calidad en ensilajes

Clasificación	pH	% Ácido butírico de la Materia Seca	% Nitrógeno amoniacal del total de nitrógeno
Excelente	3,5	0,1	5-8
Bueno	4,2	0,2	9
Medio	4,3-4,5	0,3-0,5	9-15
Malo	>4,5	>0,5	>15

Fuente: WingChing-Jones (2006)

APÉNDICE A5. Contenido de nitrógeno amoniacal en ensilajes y su relación con la calidad de fermentación y consumo animal

Nitrógeno amoniacal (% del nitrógeno total)	Calidad de fermentación	Consumo animal relativo (%)
0-5	Excelente	100
5-10	Buena	98
10-15	Moderada	95
>15	Deficiente	90

Fuente: Berndt (2002)

LITERATURA CITADA

- ABARCA R., MADRIZ A. 1999. Determinar la competitividad económica de la explotación lechera especializada de las zonas altas del valle central (Cartago) y San Carlos ante el convenio marco del GATT. Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo con énfasis en zootecnia. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 165 pp
- ABDELHADI L. 2007. Los silajes en la producción animal: importancia de la calidad. XI Seminario manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal. 114 – 131 pp
- AOAC. 1991. Association of official Agricultural Chemist. Official methods. 11th edition. Washington D.C., USA. 1015 pp
- BALLARD C., THOMAS E., TSANG D., MANDEBVU P. 2001. Effect of corn silage hybrid on dry matter yield, nutrient composition, *in vitro* digestion, intake by dairy heifers, and milk production by dairy cows. Journal Dairy Science 84(2): 442 – 452
- BAXTER H., MONTGOMERY M., OWEN J. 1980. Digestibility and feeding value of corn silage fed with boot stage wheat silage and alfalfa silage. Journal Dairy Science 63(2): 255 - 261
- BERNDT A. 2002. Composición nutricional y calidad de ensilajes de la zona sur. Tesis para optar al grado de Licenciado en Agronomía. Universidad de Austral de Chile. Valdivia, Chile. 114 pp

- BERTOIA L. 2004. Algunos conceptos sobre ensilaje. Agricultura-22 de agosto del 2007- Disponible en: <http://mejoirpasto.com.ar/UNLZ/2004/TX3.htm> consultada el 22 de agosto del 2007 a las 10:43, 14 pp
- BOLSEN K., BRENT B., URIARTE E. 2001. The silage triangle and important practices often overlooked. California Animal Nutrition Conference. California, USA. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/436/43627202.pdf> 60 – 65 pp
- BOSCHINI C., ELIZONDO J. 2003. Curso teórico y práctico de ensilaje de forrajes. Serie Agrotecnológica 1. Universidad de Costa Rica. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. 16 pp
- CABRAL L., CAMPOS S., DETMANN E., TILEMAHOS J., GOMES O., GONCALVES R., SALES E. 2002. Cinética ruminal das fracoes de carbohidratos , producao de gás, digestibilidade *in vitro* da materia seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporcoes de graos. Bras. Zootec. 31(6): 2332 – 2339
- CHEN J., STOKES M., WALLACE C. 1994. Effects of enzyme-inoculant. Systems on preservation and nutritive value of haycrop and corn silages. Journal Dairy Science 77(2): 501 – 512
- CONTRERAS F., MUCK R. 2006. Inoculantes microbiales para ensilaje. Focus on forage. University of Wisconsin. 8(4): 4 pp
- DADO R., ALLEN M. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. Journal Dairy Science 78: 118 – 133

- Di MARCO O., AELLO M., ARIAS S. 2005. Digestibility and ruminal digestión kinetics of corn silage. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnia*. 57(2): 223 – 226
- ELFERINK O., DRIEHUIS F., GOTTSCHAL J., SPOELSTRA S. 2005. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. Institute for Animal Science and Health. Holanda. Estudio 2.0, 113 pp
- EUN J., BEAUCHEMIN K., SCHULZE H. 2007. Use of Exogenous fibrolytic enzymes to enhance *in vitro* fermentation of alfalfa hay and corn silage. *Journal Dairy Science*. 90(3): 1440 - 1451
- FERREIRA G., MERTENS D. 2005. Chemical and physical characteristics of corn silages and their effects on *in vitro* disappearance. *Journal Dairy Science* 88(12): 4414 – 4425
- FOROUZMAND M., GHORBANI G., ALIKHANI M. 2005. Influence of hybrid and maturity on the nutritional value of corn silage for lactating dairy cows. *Pakistan Journal of Nutrition* 4 (6): 435-441
- GINGER-REVERDIN S., DUVAUX-PORTER C., SAUVANT C., MARTIN O., NUNES do PARADO I., MÜLLER R. 2002. Intrinsic buffering capacity of feeds. *Animal Feed Science Technology*. 96: 83 – 102
- GONZALEZ J. 1988. Evaluación de la elaboración del ensilaje de maíz en cinco fincas del cantón de Alfaro Ruiz. Tesis para optar al grado de licenciatura en ingeniería agronómica con énfasis en zootecnia. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 50 pp

- HAG M., VETTER R., KENEALY M. 1982. Effects of silage additives on fermentation characteristics of corn silage and performance of feedlot heifers. *Journal Dairy Science* 65(2): 259-266
- HEINRICH A., CONRAD H. 1984. Fermentation characteristics and feeding value of ammonia-treated corn silage. *Journal Dairy Science* 67: 82-87
- HEMKEN R., CLARK N., GOERING H., VANDERSALL J. 1970. Nutritive value of corn silage as influenced by grain content. *Journal Dairy Science* 54(3): 383 – 389
- HOLLAND C., KEZAR W., QUADE Z. 1995. The pioneer forage manual. A nutritional guide. Pioneer Hi-Bred International, Inc. Des Moines, Iowa, U.S.A. 40 p.
- HUFFMAN C., DUNCAN C. 1955. Comparison of silages made from field corn (Ohio M15) and silage corn (Eureka) for milk production. Department of Dairy and Agricultural Chemistry, Michigan State University. Article N° 1833. 998 - 1005
- JASAITIS D., WOHLT J., EVANS J. 1987. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. *Journal of Dairy Science* 70(7):1391 – 1403
- JASTER E. 1995. Legum and grass silage preservation. *Post-Harvest Physiology and Preservation of Forages* 22(1): 91-111
- JOHNSON L., HARRISON J., DAVIDSON D., ROBUTTI J., SWIFT M. 2002. Corn silage management I: effect of hybrid, maturity, and mechanical processing on chemical and physical characteristics. *Journal of Dairy Science* 85(4): 833 – 853

- KLEINSCHMIT D., KUNG L. 2006. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus bucheri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science* 89(10): 4005-4013
- KUNG L., CHEN J., KRECK E., KINUTSEN K. 1993. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76 (12): 3763-3770
- KUNG L., MOULDER B., MULROONEY C., TELLER R., SCHMIDT R. 2008. The effects of silage cutting height on the nutritive value of a normal corn silage hybrid compared with brown midrib corn silage fed to lactating cows. *Journal Dairy Science* 91(4): 1451 – 1457
- LEON B., MONTENEGRO A. 2001. Sistema de cultivo de maíz asociado con soya para la elaboración de ensilaje. Tesis para optar al grado de licenciatura en ingeniería agronómica con énfasis en zootecnia. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 90 pp
- LINN J. 2001. XVII Curso de especialización: Necesidades nutritivas del Ganado vacuno lechero. Department of Animal Science. University of Minnesota. 24 pp
- LUTHER R. 1986. Effect of microbial inoculation of whole-plant corn silage on chemical characteristics, preservation and utilization by steers. *Journal of Animal Science* 63(1): 1329 – 1336
- McDONALD P. 1981. The biochemistry of silage. John Wiley & Sons. Chichester, University of Edinburgh. 226 pp

- McDONALD P., HENDERSON A., HERON S. 1991. The biochemistry of silage. Segunda edición. Marlow, UK: Chalcombe Publications. 340 pp
- MAHANNA W. 1993. Silage fermentation and additive use in North America. Silage production. From seed to animal. National production conference. Syracuse , New York. 85 – 95 pp
- MANCHIN D. 1999. The potencial use of tropical silage for livestock production wiht special referente to smallholders. F.A.O. Electronic conference on tropical silage. 5 pp. Consultado el 22 de agosto del 2007 a las 11:05, disponible en: <http://fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/contents.htm>
- MONTAÑEZ O., BARCENA R., GONZÁLEZ S., ORTEGA M., COBOS M., AVELLANEDA J. 2006. Evaluación de la capacidad amortiguadora de ingredientes utilizados en la formulación de dietas para rumiantes. Agronomía Mesoamericana. 17(1): 7 – 10
- MUCK R., KUNG L. 1997. Effects of silage additives on ensiling proceedings from the silage: field to feedbunk. North American Conference. Hershey, Pennsylvania, USA, February 11(13): 187-281 pp
- NEIKER D. 2002. Recomendaciones en valoraciones de silos. Corporac. 5 pp. Consultado el: 23 de abril del 2008 alas 9:23, disponible en: <http://www.Corporac/agricultura/fraisoro/documentos/recomenvaloraciondesilos.doc> ,

- NEUMANN M., FRENZEL P., LAERTE J., RESTLE J., OST P. 2007. Efeito do tamanho de particular e da altura de colheita das plantas de milho (*Zea mays* L.) sobre as perdas durante o proceso fermentativo e o período de utilizacao das silagens. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36(5): 1395 – 1405
- OTERO M., ESPERANCE M. 1994. Estudio de la sensibilidad de la Guinea Likoni (*Panicum maximum Jacq*) según el índice de azúcar/capacidad tampón. *Pastos y forrajes (Cuba)* 17(3): 277 – 281
- OUDE E., DRIEHUIS S., KROONEMAN F., GOTTSCHAL J., SPOELSTRA S. 1999. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway, the anaerobic degradation of latic acid to acetic acid and 1,2-propanediol. 266 – 267, in: Pauly, 1999, q.v.
- OUDE E., STEFANIE J. 1997. Uso del ensilaje en el trópico, privilegiando opciones para pequeños campesinos. Estudio 2.0 Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. F.A.O., Departamento de Agricultura. Depósito de documentos de la F.A.O. 6 pp
- QUIROS G. 1992. Efecto de niveles crecientes de seudotallo de banano en combinación con ensilaje de maíz, sobre el crecimiento de terneras Jersey en confinamiento. Tesis para optar al título de licenciado en ingeniería agronómica con énfasis en zootecnia. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 75 pp
- RANJIT N., KUNG L. 2000. The effect of *Lactobasillus buchneri*, *Lactobaillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*. 83(3): 526 – 535

- ROJAS C., MANRÍQUEZ M. 2001. Comparación de ensilaje de trigo y de maíz en la engorda invernal de novillos. Agricultura técnica 61(4) octubre. Consultado el: 23 de abril del 2008 a las 15:49 disponible en: <http://www.arp.org.py/articulo.php?ID=494>
- ROTH G., HEINRICHS A. 1993. Corn silage production and management. Agronomy Facts 18. College of Agricultural Sciences. Pennsylvania State University. consultado el: 23 de abril del 2008 a las 11:05 disponible en: <http://www.cas.psu.edu>,
- SAS. 2003. SAS 9.1.3 for Windows. Service Pack 4. Win_Pro plataforma. Copyright (c) 2002-2003 by SAS Institute Inc. Cary NC.USA.
- SINBANDA S., JINGURA J., TOPPS J. 1997. The effect of level of inclusion of de legume Desmodium uncinatum and de use of molasses or ground maize as aditives on the chemical composition of grass and maize-legume silages. Animal Feed Science Technology 68(1): 295 – 305
- SHAVER S., ERDMAN R., VANDERSALL J. 1984. Effects of silage pH on voluntary intake of corn silage. Journal Dairy Science 67(9): 2045-2049
- SHEPERD A., KUNG L. 1996. Effects of an enzyme additive on composition of corn silage ensiled at various stages of maturity. Journal of Dairy Science Vol. 79(10): 1760-1766
- STAPLES C., EMANUELLE S., PRINE G. 1997. Intake and nutritive value of florigraze rizoma peanut silage for lacting dairy cows. Journal Dairy Science 80: 541-549

- STEFANIE J., OUDE E., DRIEHUIS F., GOTTSCHAL J., SPOELSTRA F. 2001. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. Institute for Animal Science and Health. Groningen State University. Lelystad, Holanda. Deposito de documento de la FAO. Estudio 2.0, 17 - 30 pp
- TITTERTON M., BAREEBA F. 2006. Ensilaje de gramíneas y leguminosas en los trópicos. Estudio 4.0, 9 de diciembre del 2006. Consultada el 23 de abril a las 14:53, disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s06.htm>
- TOBÍA C. 2004. Introducción del ensilaje de soya en un sistema de producción intensiva de leche en el trópico húmedo de Costa Rica. Tesis presentada al programa de doctorado en sistemas de producción agrícola tropical sostenible para optar al grado de *Philosophiae Doctor*. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 120 pp
- TOBÍA C. 2007. Experiencias en la elaboración de silaje de maíz-soya en dos sistemas de producción bovina en Venezuela. XI Seminario Manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal. 78 – 87 pp
- TOBÍA C., ROJAS A., VILLALOBOS E., SOTO H., URIBE L. 2004. Sustitución parcial del alimento balanceado por ensilaje de soya y su efecto en la producción y calidad de la leche de vaca, en el trópico húmedo. *Agronomía Costarricense*: 28 (2): 27-35
- VALLEJO M. 1995. Efecto del premarchitamiento y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C.R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 117 pp.
- VAN SOEST P., ROBERTSON J. 1985. Analysis of forages and fibrous food: A laboratory manual for animal science. Cornell University, New York. 613 pp

- WATTIAUX M. 1999. Introducción al proceso de ensilaje. Instituto Babcock. University of Wisconsin. Feeding N° 502. 7
- WEISS W. 1999. Silage for dairy cattle. In: curso de actualización en nutrición de ganado de leche. Asociación Americana de la Soya. Indiana Soybean Board, y United Soybean Board. Balsa de Atenas, Costa Rica. 10 pp
- WINGCHING-JONES R. 2006. Evaluación del proceso de ensilaje de *Arachis pintoí*. Tesis presentada a la Comisión del programa de estudios de posgrado en ciencias agrícolas y recursos naturales para optar al grado de *Magíster Scientiae* en ciencias agrícolas y recursos naturales con énfasis en nutrición animal. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 65 pp.
- WOHLT J. 1989. Use of a silage inoculant to improve feeding stability and intake of a corn silage –grain diet. *Journal Dairy Science* 72(2): 545-551