

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

Comparación del efecto de tres mezclas de melaza y suero de leche y dos tipos de inóculo microbial sobre las características nutritivas y fermentativas del ensilaje de pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*)

Cinthya María Granados Marín

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2010

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura

M.Sc. Augusto Rojas Bourrillón

Director de Tesis
Subdirector de Escuela

M.G.A. Luis Villalobos Villalobos

Miembro del Tribunal

M.Sc. Rodolfo WingChing-Jones

Miembro del Tribunal

M.Sc. Luis Pineda Cordero

Miembro del Tribunal

Lic. José Arce Cordero

Miembro del Tribunal

Cinthya María Granados Marín

Sustentante

DEDICATORIA

A Dios por sobre todas las cosas.

A mis padres Marco y Ana por su incondicional apoyo y confianza que han puesto en mí.

A ellos debo lo que soy.

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme tantas bendiciones, ser la fortaleza y el guía de mi vida, sin Él no hubiera sido posible llegar hasta donde estoy.

A mis familiares por su apoyo, en especial a mis padres por todo su sacrificio, por su tiempo, por estar siempre conmigo y por la formación personal que me dieron.

Al Ing. Augusto Rojas Bourrillón, director de la tesis, por su valiosa colaboración y guía en la tesis. Al Ing. Rodolfo WingChing por sus importantes observaciones, su interés, guía y dedicación. Gracias a ambos que hicieron posible la presentación de dicho trabajo.

A mis amigos, en especial a Jennifer Solórzano y Luis Martin Valverde, por brindarme su apoyo desinteresado, amistad sincera y siempre estar en los momentos oportunos a lo largo de mi vida y carrera universitaria.

A todas las personas que de alguna u otra manera colaboraron para darme la oportunidad de presentar dicho trabajo y desarrollarme profesionalmente.

ÍNDICE

| CONTENIDO | PÁGINA |
|---|--------|
| TRIBUNAL EVALUADOR..... | ii |
| DEDICATORIA | iii |
| AGRADECIMIENTO | iv |
| ÍNDICE..... | v |
| LISTA DE CUADROS..... | vii |
| LISTA DE FIGURAS..... | viii |
| RESUMEN..... | x |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| 2.1 Generalidades de los pastos tropicales..... | 4 |
| 2.2 Proceso de ensilaje..... | 6 |
| 2.3 Estudios realizados sobre ensilajes de <i>Cynodon sp.</i> | 13 |
| 2.4 Aditivos a utilizar | 14 |
| 2.4.1 Melaza | 15 |
| 2.4.2 Inóculos bacteriales..... | 16 |
| 2.4.3 Suero de leche | 19 |
| 3. OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 Objetivo General | 22 |
| 3.2 Objetivos Específicos..... | 22 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 23 |
| 4.1 Ubicación de la prueba | 23 |
| 4.2 Características del material vegetativo..... | 23 |
| 4.3 Preparación de los microsilos y toma de la muestra | 24 |
| 4.4 Tratamientos | 24 |
| 4.5 Variables evaluadas..... | 26 |

| | |
|---|----|
| 4.6 Descripción del análisis de varianza..... | 27 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 29 |
| 5.1 Composición nutricional de los materiales antes de ensilar..... | 29 |
| 5.2 Características organolépticas de los ensilajes de Estrella Africana con la adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 33 |
| 5.3 Composición nutricional de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales..... | 34 |
| 5.3.1 Materia seca total..... | 34 |
| 5.3.2 Proteína cruda..... | 36 |
| 5.3.3 Cenizas..... | 38 |
| 5.3.4 Fibra detergente neutra..... | 39 |
| 5.3.5 Fibra detergente ácida..... | 42 |
| 5.3.6 Lignina..... | 44 |
| 5.3.7 Extracto etéreo..... | 46 |
| 5.3.8 Digestibilidad “in vitro” de la materia seca..... | 47 |
| 5.4 Variables fermentativas de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales..... | 49 |
| 5.4.1 pH..... | 49 |
| 5.4.2 Capacidad amortiguadora (mEqNaOH.100gMS ⁻¹)..... | 51 |
| 5.4.3 Nitrógeno amoniacal (% N-N total)..... | 53 |
| 5.5 Estimación del contenido energético del ensilaje de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales..... | 54 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 57 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA..... | 59 |
| ANEXOS..... | 67 |
| Anexo 1. Composición nutricional en base seca de los diversos tratamientos ensilados de pasto Estrella Africana..... | 68 |

LISTA DE CUADROS

| CUADRO | | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1 | Promedios de los valores nutricionales de los pastos tropicales de Costa Rica, expresados como porcentaje de materia seca. | 5 |
| 2 | Clasificación de un ensilaje según sus características químicas y organolépticas. | 9 |
| 3 | Rango de pH para ensilajes de forrajes según su contenido de materia seca. | 12 |
| 4 | Características del ensilaje del pasto Estrella (<i>Cynodon nlemfuensis</i> Vanderyst) según horas de premarchitamiento. | 14 |
| 5 | Composición química de la melaza, según diversos autores. | 16 |
| 6 | Composición química en base seca del suero de leche líquido, según diversos autores. | 20 |
| 7 | Fuentes de carbohidratos, de inóculos bacteriales y número de repeticiones que se emplearon. | 25 |
| 8 | Composición nutricional en base seca de pasto Estrella Africana con la aplicación de inóculos microbiales de origen comercial y artesanal; y la adición de melaza (3%) y mezclas de melaza y suero de leche antes de iniciar el proceso de ensilaje. | 30 |
| 9 | Contenido energético estimado en base seca de los tratamientos después de la fermentación. | 55 |

LISTA DE FIGURAS

| FIGURA | | PÁGINA |
|--------|--|--------|
| 1 | Ensilaje de pasto Estrella abierto luego de 60 días de fermentación..... | 33 |
| 2 | Contenido de MS de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 34 |
| 3 | Contenido de PC de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 36 |
| 4 | Contenido de cenizas de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 38 |
| 5 | Contenido de FDN de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 40 |
| 6 | Contenido de FDA de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 42 |
| 7 | Contenido de lignina de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 45 |
| 8 | Contenido de EE de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 46 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 9 | DIVMS de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 48 |
| 10 | Valores de pH de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 50 |
| 11 | Valores de CB de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 52 |
| 12 | Valores de N-NH ₃ de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales..... | 53 |

RESUMEN

Se realizó un estudio en microsilos para determinar la composición nutricional y fermentativa del ensilaje de pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*), para valorar el efecto de la aplicación de niveles crecientes de suero de leche y melaza, con y sin la presencia de inóculos microbiales (comercial y artesanal).

El material fue cosechado en la finca “Ríos de Leche S.A.” ubicada en el cantón de Moravia a los 60 días de edad con altura aproximada de 80 cm, medida desde el suelo al dosel de la planta. El proceso de ensilado se llevó a cabo en las instalaciones de la Sede Rodrigo Facio, cuya duración fue de 60 días, y los análisis de laboratorio se efectuaron en el Centro de Investigación de Nutrición Animal, Universidad de Costa Rica.

Los quince tratamientos (60 microsilos en total) consistieron en el uso de inóculos microbiales: artesanal, comercial y en ausencia de inóculo, a los cuales se les incluyó fuentes de carbohidratos (3% p.p⁻¹), tales como melaza (3%) y mezclas de melaza y suero de leche con las siguientes relaciones 2:1, 3:1 y 4:1. Se recolectaron las muestras antes y después del proceso fermentativo para evaluar el contenido nutricional y las variables fermentativas, en donde la información generada fue analizada a través de un análisis de varianza (ANOVA).

Dentro de los resultados obtenidos se determinó que el uso de inóculo tuvo efectos significativos en la concentración de diversas variables, en donde el inóculo artesanal disminuye el contenido de materia seca ($26,42 \pm 0,70\%$) y aumenta las concentraciones en la proteína cruda ($11,68 \pm 0,20\%$), cenizas ($12,74 \pm 0,14\%$), fibra detergente neutra ($64,88 \pm 2,02\%$) fibra detergente ácida

(36,51 ± 1,53%), lignina (4,29 ± 0,39%), pH (4,56 ± 0,27), capacidad buffer (91,20 ± 3,34 mEqNaOH.100gMS⁻¹) y nitrógeno amoniacal (1,78 ± 0,28%). Por otro lado el inóculo comercial influyó de forma significativa en el contenido de fibra detergente neutra (63,00 ± 1,57%), en disminuir la lignina (2,87 ± 0,17%) y la capacidad buffer (76,87 ± 8,77 mEqNaOH.100gMS⁻¹) de los silos.

Con respecto a la adición de fuentes energéticas como melaza y suero de leche, se favorecieron de forma significativa los contenidos de materia seca (MS), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), pH y el nitrógeno amoniacal (N-N total).

Para la estimación del contenido energético de los ensilados se realizó una preselección, donde se desarrolló tres posibilidades de trabajo según la ausencia de inóculo y uso de inóculo comercial y artesanal, cuyo análisis determinó que el uso de inóculo artesanal disminuye significativamente los contenidos de NDT, energética digestible, energía metabolizable, energía neta de ganancia y neta de producción de leche.

Los resultados muestran que el mejor tratamiento fue el de la mezcla de melaza y suero de leche en la relación de 4 a 1 sin adición de inóculo microbial, ya que presentó mejores características nutricionales y fermentativas.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los sistemas pecuarios desarrollan diversos métodos de producción y tecnologías para la obtención de máximos resultados en menor tiempo, al racionalizar los procesos e disminuir la conversión alimenticia.

Dichos sistemas necesitan aumentar la carga animal actual y trabajar en el mejoramiento genético para intensificar su producción animal. Lo que conlleva al requerimiento de alimentos altos en nutrientes aprovechables por el animal, especialmente energía y proteína, adquiridos cuando se mejora la calidad y cantidad del recurso forrajero. Esto eleva el costo de alimentación de forma significativa, debido a que los alimentos balanceados incrementan su precio por la utilización de ciertas materias primas, como en el caso del maíz, ingrediente base para muchas fórmulas balanceadas, de costo elevado en los últimos años.

Hoy en día, se han difundido nuevas técnicas de producción animal, entre las más conocidas se pueden mencionar el manejo racional de los suelos y la obtención de buenas pasturas, la inclusión de subproductos agroindustriales en la dieta como complementos o sustitutos a los concentrados comerciales, la implementación de la siembra de árboles dentro de los potreros, asociaciones gramíneas-leguminosas y hasta la reducción de animales por hectárea por enfoques agroforestales (Vallejo 1995).

En las zonas tropicales, se utilizan las técnicas antes mencionadas, la conservación de los forrajes (prácticas de ensilajes y henificación) y/o siembra de pastos mejorados para disminuir el impacto negativo en las épocas de escasez de alimento, y así las pérdidas en la producción animal no sean elevadas, dado que las condiciones ambientales en dichas zonas impiden una producción constante de las pasturas.

El ensilaje es el resultado de un procedimiento que se lleva a cabo mediante la fermentación anaeróbica de forrajes u otros alimentos con altos niveles de humedad (Boschini y Elizondo 2003). Su propósito es conservar dichos alimentos por un tiempo prolongado y hasta enriquecer sus nutrientes si se le adicionan otros componentes, lo que mejora su palatabilidad, para ser usados como complemento alimenticio o sustentar al ganado en época de escasez (Méndez 2000).

Es una técnica de fácil elaboración que se puede adaptar a las necesidades del productor y a los requerimientos alimenticios de los animales, al aprovechar la producción en exceso de forrajes en ciertas épocas y disponer a través del año de dichos materiales y así disminuir problemas alimenticios en los animales (Cubero 2008). Además, se puede mejorar la calidad del ensilado de pastos tropicales al adicionar algún tipo de fuente de carbohidratos solubles, ya que dichos forrajes son deficientes en éstos (Vallejo 1995).

Entre los forrajes más utilizados como materias primas para ensilar, tanto a nivel de campo como para su investigación, se encuentran los cereales y cultivos como el maíz, sorgo y trigo, algunos pastos de piso, pastos de corta y leguminosas como la alfalfa, el maní forrajero y la cratylia (Cubero 2008). En el presente trabajo se utilizará una gramínea, la cual ha sido poco estudiada como forraje para elaborar ensilajes y, se puede decir que, es una de las especies que se observa en mayor cantidad a nivel de campo, pues se disemina con facilidad.

A dicha técnica se le pueden realizar variaciones según las condiciones ambientales que se posea, entre ellas se menciona el proceso de premarchitado. Dicho proceso consiste en secar el material cortado durante 3 a 24 horas antes de ensilar para lograr cerca de un 65% de materia seca, es una forma de controlar las condiciones del material, al mismo tiempo que ayuda a mejorar el valor nutritivo del ensilado (Vallejo 1995), aunque en cierta forma incide en la pérdida de carotenos (Méndez 2000). Si las condiciones climáticas de la zona

son inestables o los forrajes son de tallos gruesos y difíciles de manipular, conllevaría a un período mayor de secado; lo que resultaría en una fermentación no deseada del producto, al obtener una magnitud de nitrógeno amoniacal superior a la establecida como un ensilaje de buena calidad (Mühlbach 2001). Por lo que, una buena opción es el uso de aditivos para sustituir el premarchitado y evitar una mala fermentación o un exceso de secado en el material.

El uso de aditivos colabora en las condiciones del ensilado y a mejorar el valor nutricional del mismo, pero sujeto al tipo de aditivo utilizado y la cantidad adicionada. Hay gran variedad de aditivos que se pueden utilizar, entre los cuales se encuentran las siguientes categorías: los estimulantes de fermentación, inhibidores de fermentación, los inhibidores de deterioro aeróbico, nutrientes y los absorbentes, los cuales se escogen según lo requerido por el forraje a ensilar, condiciones ambientales, técnica de ensilado, efectividad del producto y el costo total (Cubero 2008).

La melaza es uno de los aditivos de mayor uso, sobre todo en la zona tropical, debido a que colabora en aumentar la cantidad de azúcares y de materia seca en el sistema (Valencia 2008). Existen experiencias con el suero de leche como alimento o aditivo para optimizar las raciones de vacas en lactancia y de becerras, entre los diversos estudios se determinó que 40 kg de suero de leche equivalen a un kilogramo de concentrado, además se considera que el suero condensado puede llegar a ser de igual valor nutricional que la melaza (Valencia 2008), situación que permite considerar la sustitución de la melaza por suero de leche y así disminuir los costos de elaboración del ensilado cuando se utiliza la melaza en fincas que tengan acceso al suero de leche a un bajo precio.

En el presente trabajo, se evaluó la aplicación de dos tipos de inóculo microbial y la capacidad del suero de leche de sustituir parcialmente a la melaza, como aditivo, sobre las características nutricionales y fermentativas del ensilaje del pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades de los pastos tropicales

La composición nutricional de los pastos tropicales difiere significativamente según la época climática, donde sus valores nutricionales son mayores en la época lluviosa (Sánchez y Soto 1998). Dichos pastos se caracterizan por tener un alto contenido de pared celular y bajos contenidos de proteína y energía; en comparación con los lugares de climas templados (Cubero 2008); valores que no llegan a cubrir los requerimientos nutricionales de los animales para obtener una producción deseada (Perla 1973).

Al poseer una producción limitada debido a las condiciones climáticas, se requiere de medidas preventivas para las épocas de escasez, como lo son: el uso de técnicas para la conservación del forraje o el hacer uso racional del forraje al delimitar una adecuada carga animal según la estación del año. Además, en dichas épocas se busca la utilización de otros forrajes o subproductos para complementar la dieta; suplir los requerimientos de los animales en producción o combinaciones de las mismas.

Aunado a la limitante en la producción por el clima, el mejoramiento genético que se implementa por parte de los productores en la zona tropical, hace que los animales sean más productivos, lo que conlleva a mayores demandas en los requerimientos de materia seca para suplir sus necesidades (Chaves 2005), dentro de lo cual ha conllevado a diversas investigaciones para ampliar los conocimientos y hasta encontrar posibles alternativas con respecto a mejorar la composición nutricional de los forrajes, así como una mejor y mayor

concentración de nutrientes en los alimentos para la obtención de mejoras en la producción animal.

En el cuadro 1, se observan los promedios obtenidos en varios estudios cuyas muestras fueron tomadas mediante simulación de pastoreo en distintas épocas climáticas en el cantón de San Carlos, Costa Rica. Se utilizaron muestras de San Juan (*Setaria anceps*), Brachiaria ruzi (*Brachiaria ruzizensis*) y Kikuyo (*Kikuyuochloa clandestina*) a una edad de rebrote de 26 a 30 días. El pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*) se muestreó a distintas edades de rebrote y el King Grass (*Pennisetum purpureum*) fue cosechado en prefloración a una edad de 50 a 60 días.

Cuadro 1. Promedios de los valores nutricionales de los pastos tropicales de Costa Rica, expresados como porcentaje de materia seca.

| Forraje | Estrella Africana ¹ | Estrella Africana ² | San Juan ² | Brachiaria ruzi ² | Kikuyo ² | King Grass ³ |
|---|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------|-------------------------|
| Materia Seca | 22,70 | 22,00 | 13,25 | 18,00 | 15,40 | 17,10 |
| Proteína Cruda | 15,30 | 15,40 | 12,70 | 11,90 | 17,40 | 9,20 |
| Fibra Detergente Neutro | 71,20 | 71,90 | 68,30 | 67,20 | 67,00 | 72,50 |
| Fibra Detergente Ácida | 40,00 | 39,90 | 39,40 | 38,70 | 34,40 | 51,10 |
| Lignina | 5,31 | 5,20 | 4,88 | 5,22 | 3,66 | 6,89 |
| NISDN ⁴ | 0,94 | 0,92 | 0,75 | 0,67 | 0,94 | 0,82 |
| NISDA ⁵ | 0,30 | 0,30 | 0,24 | 0,25 | 0,24 | 0,27 |
| Nutrientes digestibles totales | 54,10 | 53,60 | 54,50 | 53,70 | 56,70 | 47,80 |
| Energía Digestible (Mcal.kgMS ⁻¹) | 2,39 | 2,36 | 2,40 | 2,37 | 2,50 | 2,11 |
| Extracto Etéreo | 2,08 | 1,89 | 2,65 | 2,20 | 2,35 | 1,73 |
| Cenizas | 9,20 | 9,40 | 11,00 | 10,80 | 11,30 | 11,80 |

1: Rebrote de 21 a 25 días; 2: Rebrote de 26-30 días; 3: cosecha prefloración, 50-60 días.

4: NISDN: nitrógeno insoluble en solución detergente neutro.

5: NISDA: nitrógeno insoluble en solución detergente ácido.

Fuente: Adaptado de Sánchez y Soto (1996), Sánchez y Soto (1998), Sánchez y Soto (1999), Sánchez (2000).

Dentro de los pastos tropicales evaluados en los estudios mencionados anteriormente, se observa que el pasto Estrella posee el mayor contenido de materia seca. Dicho pasto se caracteriza por ser un pasto perenne estolonífero de hasta 70 cm de altura con estolones de 2 a 3 mm de ancho, por tener un tallo erecto y que no produce rizomas, sus estolones crecen a nivel del suelo y emiten tallos aéreos, suaves, robustos y delgados, sus hojas son simples y alternas, además posee una inflorescencia que es un verticilo de espigas delgadas y flexibles con colores verdes manchadas de rojo o púrpura (Nilsson et al. 2005).

Esta gramínea es originaria de África Oriental, con una rápida distribución en trópicos y subtrópicos, posee un alto rendimiento, resistencia al pastoreo, se adapta a climas cálidos y medios de altitudes de 0 a 2000 m.s.n.m, es resistente a sequías y a suelos con pH entre 4,5 a 8,0, además contiene en promedio un contenido de proteína de 10 a 15% y una digestibilidad entre 60 a 70% (Franco et al. 2003).

2.2 Proceso de ensilaje

El ensilaje se define como el producto final de un proceso cuyo fin es conservar las plantas o subproductos agropecuarios con altos niveles de humedad (entre un 60 a 70%) mediante una fermentación anaeróbica, a través de una adecuada compactación del material y expulsión del aire, para obtener un alimento palatable con mayor cantidad de nutrimentos y con mínimo de pérdidas (Méndez 2000), pues un adecuado proceso de ensilaje obtiene como producto final un valor nutritivo similar al forraje antes de ser ensilado o, si se usan aditivos, hasta podría ser mejorado. Es un producto que se realiza a partir del desdoblamiento de los azúcares solubles del alimento hasta ácido láctico (Britos et al. 2007), lo cual se lleva a cabo por microorganismos (primordialmente por la acción de los microorganismos endófitos), donde se podría comparar la

fermentación inicial del ensilaje con la fermentación que se produce dentro del rumen de los animales rumiantes (Orskov 1990).

A partir de una revisión bibliográfica sobre las distintas fases que suceden a través del proceso de ensilaje, se definen dos postulados. El primer postulado, según indica Cobos (1989), el proceso de ensilaje consiste principalmente de 2 fases:

- Aeróbica: es un período que debe ser limitado lo más pronto posible. En esta fase implica el considerar ciertos factores en el material a ensilar, entre ellos se encuentra la humedad (60 a 70%), el porcentaje de carbohidratos solubles (8 a 12% de la materia seca), su capacidad amortiguadora (se quiere que sea un material de ninguna o poca resistencia a la acidificación), el tamaño de partícula (1 a 2 cm). Además de obtener una adecuada compactación del material para evitar que éste se expanda e ingrese aire entre las capas del silo, al cumplir lo anterior se esperaría que la temperatura no sea mayor a los 30 °C.
- Anaeróbica: comienza cuando el oxígeno que quedó capturado dentro de las capas del material es consumido. Posteriormente, se inicia la formación de dióxido de carbono, agua y un alza en la temperatura (Vargas 1979), lo que procede a la actividad acidificante del medio gracias a las bacterias lácticas. Se esperaría que en esta etapa la temperatura del material se encuentre entre los 15 y 25 °C, pues esto indicaría que aún hay oxígeno en el medio.

La segunda teoría, mencionada por Méndez (2000) define que el ensilaje se obtiene como resultado de 3 etapas: respiración, fermentación y estabilización, en donde las dos primeras y más importantes etapas tendrían una duración aproximada de 3 a 5 días, con un tiempo total de 21 días para que el proceso finalice, pero se recomienda que los silos sean abiertos hasta después de haber cumplido un mínimo de 30 días.

- Respiración: proceso que puede continuar de 12 a 24 horas luego de ser cortado el forraje. Es un período que agota el oxígeno atrapado entre las capas del silo para evitar que se desarrolle gran cantidad de bacterias aeróbicas dentro del proceso. Se requiere que la mayor cantidad de aire sea eliminado por medio de la compactación. Rojas (1999) indica que la duración de esta etapa depende del estado de madurez del forraje, el contenido de humedad, el procesamiento del material, método de extracción del oxígeno y el tipo de silo.
- Fermentación: se inicia luego de que el aire del sistema se agota, al crearse un medio anaeróbico. Esta fase es generada debido a la acción de microorganismos anaeróbicos, ya que funcionan como estimulantes de la fermentación al degradar los carbohidratos disueltos en los alimentos e inhibir el deterioro aeróbico al formar ácido láctico y acético (Tobía y Vargas 2000).
- Estabilización: momento en el cual se logra un ambiente ideal, donde se llega a considerar que el forraje posee el medio adecuado para conservarse durante un periodo prolongado. Dentro de las consideraciones pertinentes, está que el nivel de ácido láctico se encuentre en magnitudes entre 1 a 2%. Esta condición se asegura con un pH de 3 a 4, y así evitar el desarrollo de bacterias no deseadas, como por ejemplo las bacterias del género *Clostridium*, que producen ácido butírico, situación que provoca un aumento en compuestos nitrogenados, lo que resulta en un producto de olor desagradable y perjudicial para la salud de los animales que lo llegaran a consumir.

En general, un buen ensilaje inicia desde la calidad del forraje empleado, puesto que la calidad del producto depende del valor nutritivo de la materia prima, hasta el último paso de la técnica (Mannetje 2001), por lo que se debe tomar precaución en cada una de las etapas que se llevan a cabo durante el procedimiento, debido a que la forma en que se ejecute cada una, puede llevar al éxito o fracaso del proceso y, por ende, la calidad del ensilaje. Si la producción

de ácido láctico es predominante, produce una rápida disminución del pH, situación que mejora la retención de nutrientes en el ensilado, lo que afecta de forma positiva su calidad (Pioneer 1995).

Según las características químicas que se obtenga al final del proceso, el material se puede clasificar su calidad como buena, mala o pobre. Si se analizan las características organolépticas se cataloga en satisfactorio, malo o sobrecalentado, tal como se indica en el cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación de un ensilaje según sus características químicas y organolépticas.

| Características Químicas | Calidad | | |
|--------------------------------|---|--|--|
| | Buena | Media | Pobre |
| pH | 3,5 a 4,8 | 4 a 4,8 | 5,2 a 5,7 |
| Ácido láctico (%MS) | 3 a 13,2 | 2,5 a 9,6 | En decrecimiento |
| N-amoniacal (%MS) | ≤ 2,9 | ≤ 3,2 | > 3,2 |
| N-amoniacal (%N total) | < 7 | 9 a 15 | > 20 |
| Ácido butírico (%MS) | < 0,1 | 0,8 a 1,6 | > 1,6 |
| Características Organolépticas | Fermentación | | |
| | Satisfactoria | Mala | Sobrecalentado |
| Color | Verde claro amarillo, verde marrón | Verde oliva parduzco, verde azulado | Marrón claro u oscuro |
| Olor | Agradable | Ofensivo, putrefacto, rancio | Agradable, a azúcares quemados |
| Textura | Conserva la textura original, hojas no se separan | Viscoso, hojas se destruyen en la mano | Hojas intactas y secas, hasta el punto de desmenuzarse |

Fuente: Adaptado de Ojeda et al. (1991), Peña y Del Pozo (1992), Méndez (2000).

Ojeda et al. (1991) indican que la cantidad de nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$) como porcentaje del nitrógeno total se usa como parámetro en los ensilajes, ya que la presencia de amoniaco en los ensilajes depende del metabolismo de los aminoácidos y de los nitratos presentes en las plantas por las bacterias, debido a que su concentración evidencia la cantidad de proteínas que se han desdoblado durante el proceso, por lo que los autores lo definen como un parámetro que refleja una fermentación negativa.

Además de las características mencionadas anteriormente, otro factor de referencia un buen proceso de los ensilados es la capacidad buffer o capacidad amortiguadora, que se define como los miliequivalentes de hidróxido de sodio requeridos para llevar el pH de un forraje o un ensilaje de 4,0 a 6,0 por kilogramo de materia seca (McDonald 1981). Este factor está relacionado con la habilidad de una solución a resistir cambios en el pH, debido a la adición o sustracción de un ácido o álcali (Giger-Reverdin et al 2002). Según Gutiérrez et al (2003), esta variable puede elevarse debido a los niveles crecientes de nitrógeno soluble durante el proceso, provocando un aumento en el pH final por la inhibición en la producción de los ácidos láctico y acético, lo que desfavorece la fermentación.

En un estudio realizado por Montañez et al. (2006) se concluye que la capacidad amortiguadora varía según el tipo de forraje a utilizar, en donde se considera alta para los alimentos con contenidos elevados de proteína (15 a 35%) y leguminosas debido a su concentración de compuestos nitrogenados, intermedia para los alimentos energéticos y fermentados, y baja para las gramíneas.

El proceso de ensilaje puede verse afectado por varios factores, entre los que se destacan: la calidad, especie, estado de madurez y humedad del material a ensilar, así como las condiciones climáticas, época del año, el tamaño de la partícula, la compactación del material y el medio que se obtiene según el tipo de sellado (Méndez 2000).

Aún si se realizara un adecuado proceso de ensilaje, las pérdidas de nutrientes durante el procedimiento son inevitables, donde se registran disminuciones en un rango de 6 a 8% de la materia seca (Tobía y Vargas 2000), debido a la producción de los efluentes, sustancias volátiles (Méndez 2000) y de amoníaco (Orskov 1990). Otros factores que pueden causar pérdidas en materia seca son el contacto con el aire luego de abrir el silo o por la destrucción del plástico por algún tipo de animal, como roedores o pájaros, los cuales rompen el sello hermético y dañan el ensilaje de una manera parcial o total (Orskov 1990).

Dentro de las ventajas que se mencionan de los ensilajes, una de ellas es que se considera como una buena opción para alimento en la dieta diaria de los animales, debido a que es un producto que posee una buena composición nutricional y es palatable gracias a sus características físicas y químicas, además que por sus propiedades involucra un buen consumo y permite obtener más cantidad de alimento y nutrientes por hectárea, ya que se almacena mayor cantidad de materia seca en poco espacio (Méndez 2000).

Conjuntamente, con otras recomendaciones dadas para el proceso de ensilaje, se menciona el uso de forrajes que posean mayor producción de biomasa o mayor rendimiento en la producción del material verde por unidad de área, un adecuado contenido de materia seca y un elevado contenido de carbohidratos solubles, debido a que esto va a afectar el proceso de fermentación valorado en términos de pH (Cuadro 3) y la palatabilidad del ensilado.

Cuadro 3. Rango de pH para ensilajes de forrajes según su contenido de materia seca.

| Contenido de materia seca | Rango de pH |
|---------------------------|-------------|
| Menor a 30% | 4,3 – 4,8 |
| 30 – 35% | 4,3 – 4,7 |
| Mayor a 35% | 4,4 – 5,0 |

Fuente: Chaves (2005).

Debido a lo anterior, si se va a ensilar algún pasto tropical se recomienda que se les adicionen algún tipo de fuente energética para elevar el contenido de materia seca y de los carbohidratos, con el fin de que, dicha fuente, funcione como sustrato para los microorganismos anaeróbicos y la adecuada producción de ácido láctico (Boschini y Elizondo 2003). Los pastos tropicales más recomendados para ensilar, en especial por su contenido de materia seca, son: Gigante (*Pennisetum purpureum*), Jaragua (*Hyparrhenia rufa*), Pangola (*Digitaria decumbens*), Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*), Guinea (*Panicum maximum*) y el King grass (*Pennisetum purpureum*) (Méndez 2000). Asimismo, por el alto contenido de carbohidratos no estructurales, se recomiendan los cereales y gramíneas para la elaboración de ensilajes en comparación con las leguminosas (Rojas 1999).

Al momento de la corta, se deben de tomar ciertas consideraciones como: la madurez del pasto y el grosor de los tallos (Boschini y Elizondo 2003), pues si está muy maduro y sus tallos son gruesos podrían ser difíciles de manejar, por lo que la compactación no va a ser la adecuada, lo que afecta la cantidad de oxígeno dentro del sistema, la temperatura y provocaría una mala fermentación. Por el contrario, si se cosecha muy tierno va a contener una gran cantidad de humedad, ésta genera una mala fermentación y un aumento en la cantidad de líquidos que se pierden, que el material se pudra o haya crecimiento de organismos no deseados (bacterias u hongos). Una recomendación pertinente

es que el forraje a ensilar se encuentre dentro de la explotación para que se utilice de forma inmediata luego de su corta o posterior al premarchitamiento, si éste se realiza dentro del proceso (Vallejo 1995).

Otro factor a tomar en cuenta para el proceso de ensilaje, es que el pasto a utilizar se coseche antes de la floración y esté libre de malezas, pues en esta etapa de crecimiento es que las gramíneas poseen la mayor cantidad de biomasa producida, además se encuentran en un estado de maduración con los mejores niveles de nutrientes y sus tallos son fáciles de manejar y succulentos, situación que favorece su manipulación durante la compactación de las capas del ensilaje (Méndez 2000). Si para el proceso se requiere disminuir la cantidad de humedad, lo más recomendable es exponer el material alrededor de 2 a 3 horas para concentrar los nutrientes, técnica llamada premarchitado (Vallejo 1995).

2.3 Estudios realizados sobre ensilajes de *Cynodon sp.*

Ferreira et al. (2006) evaluaron los efectos del premarchitado y la aplicación de aditivos en las características fermentativas y nutricionales de ensilajes de Bermuda Tifton 85 (*Cynodon dactylon* (L) Pers.), donde los tratamientos fueron sometidos a premarchitamiento con y sin la aplicación del aditivo microbial y enzimático. Los aditivos que se utilizaron en el estudio presentaron concentraciones de $1,0 \times 10^9$ unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus faecium* y de *Lactobacillus plantarum* por gramo; y $1,0 \times 10^8$ UFC de *Pediococcus acidilactici* por gramo, además de las enzimas hemicelulasa, celulasa y amilasa.

Con respecto al efecto de premarchitamiento, se concluyó que a niveles de 45% de materia seca, se mejoraron las características fermentativas y la composición química de los ensilajes. Además, la adición de las colonias y

enzimas provocan cambios significativos en el pH asociado con niveles adecuados de materia seca.

En un estudio realizado por Evangelista et al. (2000) sobre las características del ensilaje del pasto Estrella (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst) cosechado a los 45 días de rebrote y almacenado durante 35 días, se llegó a la conclusión de que este forraje podría preservarse bajo la técnica del ensilado si se almacena de forma inmediata luego del corte o si es sometido a un proceso de premarchitado de hasta tres horas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características del ensilaje del pasto Estrella (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst) según horas de premarchitamiento.

| Característica | Tiempo de premarchitamiento (horas) ¹ | | | |
|--|--|----------------------|----------------------|---------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Materia Seca (%) | 26,30 ^{Cb} | 34,80 ^{Bb} | 33,40 ^{Bb} | 41,80 ^{Ab} |
| pH | 4,00 ^{Ba} | 4,10 ^{Ba} | 4,30 ^{ABa} | 4,50 ^{Aa} |
| Proteína Bruta (%) | 13,80 ^{Aa} | 14,10 ^{Aa} | 13,60 ^{Aa} | 12,60 ^{Aa} |
| FDN (%) | 82,70 ^{Aa} | 80,00 ^{ABa} | 80,80 ^{ABa} | 78,40 ^{Ba} |
| FDA (%) | 38,40 ^{Ab} | 40,60 ^{Ab} | 40,50 ^{Ab} | 39,80 ^{Ab} |
| Energía Bruta (Mcal.kg ⁻¹) | 4,38 ^{Ab} | 4,44 ^{Aa} | 4,41 ^{Aa} | 4,41 ^{Aa} |
| Cenizas (%) | 2,30 ^{Ca} | 2,60 ^{BCa} | 2,70 ^{Ba} | 3,10 ^{Aa} |

¹ Promedios con misma letra en mayúsculas por columna y en minúsculas por fila para cada parámetro no son significativamente diferente, prueba de Tukey (p <0,05).

Fuente: Evangelista et al. (2000).

2.4 Aditivos a utilizar

Como se mencionó anteriormente, la adición de los aditivos es para mejorar el proceso de ensilaje y para reducir las pérdidas propias del sistema, por lo que se requiere tener cuidado en los tipos de aditivos a utilizar pues pueden producir un ensilaje de baja calidad nutritiva y disminuir su palatabilidad, lo que produce una

reducción en el consumo de los animales. De la gran variedad de aditivos que se pueden utilizar, para el presente trabajo se va a considerar el uso de los inóculos microbiales y como fuentes de carbohidratos la melaza y el suero de leche.

2.4.1 Melaza

La melaza se clasifica como un aditivo energético pues es una fuente rica en carbohidratos solubles que no se cristalizan para formar sacarosa (Perla 1973), lo cual mejora la condición energética del alimento y favorece al desarrollo de los microorganismos deseados para una fermentación láctica (Méndez 2000). Algunos de los beneficios con el uso de dicha fuente es que se fermenta con facilidad, puede ser adicionada de forma pura o diluida, es un aditivo aceptado por el ganado debido a su palatabilidad y colabora a que la digestibilidad del material forrajero no se vea afectada por el proceso de ensilaje, también se ha demostrado que estimula el aumento en la concentración de la materia seca, cenizas, calcio, proteína cruda y la disminución de la fibra detergente neutro (Vargas 1979).

Cuando se adiciona la melaza al material a ensilar se deben de considerar dos puntos principalmente: primero, se debe tener el cuidado de que esta fuente se difunda de forma homogénea entre las capas del forraje; las cuales deben estar picadas de forma previa a un adecuado tamaño de partícula (1,5 a 3 cm) y que se encuentren lo más compactas posibles; y segundo, que su uso se defina en un rango de 3 a 5%, lo que equivale a cantidades de 30 a 50 kg de melaza por cada tonelada de materia fresca de gramínea, o un rango de 35 a 45 kg por cada tonelada de mezcla gramínea-leguminosa (3,5 a 4,5%) (Méndez 2000).

La principal desventaja que se considera con el uso de dicho aditivo es que se aumenta la producción de exudados, los cuales provocan pérdidas de la materia

seca de hasta 50% del nivel nutricional, debido al escurrimiento de los líquidos (Méndez 2000), de lo cual Vargas (1979) indica que la cantidad de efluentes se disminuye o aumenta según el porcentaje de inclusión de la melaza. Este mismo autor, al experimentar con tres niveles de inclusión de melaza (0, 5 y 10%) y con un promedio de 21,58% de materia seca del forraje para ensilar, concluyó que el nivel óptimo para evitar pérdidas fue de un 5% de melaza.

Según Montañez et al. (2006), la melaza presenta un pH de 5,98 y una capacidad amortiguadora de $84,12 \text{ mEq} \times 10^{-3}$, dato similar al obtenido por Peña (2001) de $86,58 \text{ mEq} \times 10^{-3}$. En el cuadro 5 se muestra la composición nutricional de la melaza con base en la materia seca.

Cuadro 5. Composición química de la melaza, según diversos autores.

| Componente | Lara (1977) | Hernández (1968) | Promedio |
|------------------------------------|-------------|------------------|----------|
| Materia seca (%) | 76,40 | 73,13 | 74,76 |
| Humedad (%) | 23,60 | 26,87 | 25,23 |
| Nitrógeno (%) | 0,44 | 0,73* | 0,58 |
| Proteína cruda (%) | 2,75* | 4,57 | 3,66 |
| Sacarosa (%) | 39,50 | - | 39,50 |
| Extracto etéreo (%) | - | 2,20 | 2,20 |
| Fibra cruda (%) | - | 0,70 | 0,70 |
| Extracto libre de nitrógeno (%) | - | 82,60 | 82,60 |
| Cenizas (%) | - | 11,10 | 11,10 |
| Nutrientes digestibles totales (%) | - | 54,30 | 54,30 |

* Datos estimados.

2.4.2 Inóculos bacteriales

La superficie de los forrajes posee de forma natural microorganismos necesarios o, también llamados, microflora epifítica, donde el recuento microbial normal es de 1×10^4 a 4×10^8 bacterias por gramo vegetal (Silveira y Franco

2006). Dentro de este conteo natural, se ha determinado la presencia de bacterias ácido lácticas sobre la superficie de hojas, tallos y demás estructuras externas que fermentan los carbohidratos solubles (Tobía y Vargas 2000).

El éxito de la fermentación en los ensilajes depende de la cantidad existente de bacterias lácticas y el nivel de carbohidratos solubles del material (Tobía y Vargas 2000). Por lo que, la inclusión de los inóculos (inoculación de los forrajes) se lleva a cabo con el fin de optimizar el proceso, para poder incrementar la tasa de acidificación y promover una adecuada preservación del material por la producción de ácido láctico en lugar de ácidos grasos volátiles (como ácido acético o butírico), etanol y CO₂ (Vendramini et al. 2010).

Por lo anterior, el resultado positivo o negativo en el proceso de fermentación de los ensilajes depende de la cantidad y especies existentes de microflora, la cual, según Tobía y Vargas (2000), se puede dividir en dos grupos:

1. Los microorganismos deseables: se refiere a los microorganismos naturales del forraje que producen ácido láctico. Crecen de forma espontánea sobre el material de la planta y aumentan en el tiempo entre la cosecha y el ensilado. Pertenecen a los géneros de *Lactobacillus*, *Pedicoccus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. Además pueden ser clasificadas como homofermentativas obligadas, heterofermentativas facultativas o heterofermentativas obligadas.
2. Los microorganismos indeseables: son todo aquellos que producen el deterioro anaeróbico y aeróbico de los ensilajes, lo que disminuye su valor nutricional y hasta pueden llegar a afectar la salud animal. Algunos ejemplos de los microorganismos que participan en el deterioro anaeróbico son *Clostridium* y *Enterobacterias*, y en el aeróbico son levaduras, *Bacillus*, *Listeria* y hongos.

En general, los inóculos bacteriales son aditivos a base de bacterias lácticas, cuya función es la producción de ácido láctico y, en poca cantidad, de ácido acético, a partir de la fermentación de los carbohidratos hidrosolubles del forraje (Cubero 2008). Promueven la aceleración del proceso de fermentación, situación que garantiza un adecuado proceso para la conservación del forraje ensilado, motivo por el cual es importante que se mantenga un adecuado equilibrio entre la concentración de dichas bacterias y la cantidad de azúcares disponibles, por lo que se recomienda una dosis de 100 000 bacterias por cada gramo de materia fresca (Méndez 2000).

Méndez (2000) señala que los microorganismos que entran en juego en el proceso de elaboración del ácido láctico son las bacterias *Streptococcus faecium* y los *Lactobacillus plantarum*. Donde las primeras se encargan de la disminución del pH para provocar un ambiente en donde se inhiba el desarrollo de bacterias no deseadas y las segundas son las que dan inicio a la fermentación del ensilaje.

Para el conveniente desarrollo de bacterias lácticas, se consideran las siguientes condiciones como las más adecuadas (Méndez 2000):

- Temperatura entre los 5 a 60 °C, como óptima los 35 °C.
- Un ambiente anaeróbico o en ausencia de oxígeno.
- Que el contacto entre la bacteria y el sustrato suceda lo más pronto posible.
- La humedad esté dentro de un rango entre 60 a 70%.
- El pH se encuentre entre 3 a 4.
- Se realice una buena compactación del forraje.
- Emplear un tipo de sellado adecuado para evitar movimientos hacia dentro del sistema de aire y agua.

Dentro de las ventajas acerca de la inclusión de inóculos microbiales, se pueden mencionar: que su uso en los ensilados presenta una disminución en la degradación de la proteína y del nitrógeno no proteico, hay menor pérdida de materia seca y demás nutrientes por la disminución de efluentes producidos, se aumenta la palatabilidad, digestibilidad del producto y la velocidad del proceso de acidificación, es un producto no corrosivo, de fácil manejo y aplicación en el ensilaje y, lo más importante, es que se puede utilizar con gran variedad de forrajes (Méndez 2000).

2.4.3 Suero de leche

El suero de leche, o también llamado lactosuero, es el principal subproducto de la industria quesera, el cual es la fracción de la leche que queda luego de que la cuajada se remueve (88 a 90% del total de leche) y se caracteriza por ser transparente, turbio, poseer una coloración amarillo verdoso, termosensible y tener un sabor ligeramente ácido bastante agradable (Ledesma 1984).

Hoy en día, a nivel nacional esta fuente energética es utilizada en diversas áreas industriales. Según Cambroner (1996), una parte de la producción de este líquido es incluida en las raciones alimenticias diarias de cerdos y gallinas para reducir costos de alimentación, otra parte es utilizada a nivel industrial para la elaboración de alimentos o como medio de cultivo en la producción de levaduras, además se encuentra el porcentaje de dicha producción nacional que se desecha. Según el mismo autor, el suero se debe desechar de forma adecuada, pues en caso contrario, puede producir consecuencias perjudiciales al contaminar el ambiente por su alto contenido de la Demanda Biológica de Oxígeno ($30 - 40 \text{ g O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ suero) cuando es arrojado de forma directa a ríos, también menciona que el lactosuero puede ser un buen fertilizante, pero si se usa en exceso puede provocar un efecto negativo por su alto contenido de sales.

Cambronero (1996) también afirma que las características y composición nutricional del suero de leche líquido (Cuadro 6) varían según el tipo de queso que se produce, en donde se obtiene un suero de leche dulce cuando proviene del procesamiento de un queso tipo Cheddar y un suero ácido de un queso tipo Cottage, además dependen de la calidad de la leche, el proceso de fabricación y las condiciones de almacenamiento. Según el mismo autor, es un subproducto de fácil obtención y posee un alto valor nutricional, pero su aprovechamiento es afectado por su gran cantidad de agua, lo que dificulta el transporte y reduce su vida útil, esto delimita su uso en la alimentación animal para explotaciones ubicadas cerca de lugares en donde se produce queso.

Cuadro 6. Composición química en base seca del suero de leche líquido, según diversos autores.

| Componente | Cambronero (1996) | | Ledesma (1984) | Promedio |
|---------------------|-------------------|-----------|----------------|----------|
| | Dulce | Ácido | | |
| pH | 5,9 – 6,3 | 4,4 – 4,8 | 7,00 | 5,68 |
| Sólidos totales (%) | 6,30 | 6,50 | 5,41* | 6,07 |
| Humedad (%) | 93,70 | 93,50 | 94,59 | 93,93 |
| Materia seca (%) | 6,30 | 6,50 | 5,41 | 6,07 |
| Grasa (%) | 0,50 | 0,40 | 0,20 | 0,37 |
| Proteína total (%) | 0,80 | 0,75 | 0,84 | 0,80 |
| Lactosa (%) | 4,85 | 4,90 | 4,75 | 4,83 |
| Minerales (%) | 0,50 | 0,80 | - | 0,65 |
| Ácido láctico (%) | 0,05 | 0,40 | 1,50 | 0,65 |
| Cenizas (%) | - | - | 0,58 | 0,58 |

* Dato estimado.

El alto valor nutricional de este líquido se debe a su alto contenido de carbohidratos y proteínas, en donde el principal carbohidrato es la lactosa y las proteínas son lactoalbúminas y globulinas que poseen un alto valor de aminoácidos de excelente calidad. Este carbohidrato es un excelente aditivo en ensilajes debido a que promueve la producción de bacterias ácido lácticas al ser un sustrato para su proliferación (Britos et al. 2007).

Sin embargo, su alto contenido de humedad limita su uso en los ensilajes pues eleva la cantidad de exudados y puede provocar una mala fermentación, por lo que no es común su uso en dicho proceso y sea más utilizado en la alimentación directa de otras especies animales (Silveira y Franco 2006), como ejemplo en gallinas y en cerdos, en donde también se debe limitar su uso debido a que, la alta cantidad de lactosa contenida en el suero, puede ser causante de diarreas en los animales porcinos jóvenes (Britos et al. 2007).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

1. Determinar los efectos de una mezcla de melaza y suero de leche en el ensilaje de pasto Estrella (*Cynodon nlemfuensis*) con y sin la aplicación de inóculos microbiales.

3.2 Objetivos Específicos

1. Valorar el efecto de la aplicación de una mezcla líquida de melaza y suero de leche sobre el contenido bromatológico (MS, PC, FDN, FDA, lignina, Cenizas, EE y DIVMS) de la mezcla antes de ensilar.
2. Cuantificar la variación en las características bromatológicas del ensilaje de Estrella Africana con aplicación de tres niveles crecientes de suero de leche y melaza con y sin la presencia de inóculos microbiales.
3. Cuantificar la variación en las características bromatológicas del ensilaje de Estrella Africana con y sin la aplicación de dos tipos de inóculo microbial a niveles crecientes de suero de leche y melaza.
4. Determinar el efecto sobre las variables fermentativas (pH, capacidad amortiguadora y nitrógeno amoniacal) del ensilaje de Estrella Africana por la aplicación de niveles crecientes de suero de leche y melaza con y sin la presencia de inóculos microbiales.
5. Estimar los contenidos de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía de mantenimiento (ENm), energía neta de ganancia de peso (ENg) y energía neta de lactancia (ENI) de los materiales ensilados.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación de la prueba

Para el presente trabajo, la cosecha del material a utilizar se realizó en la Finca “Ríos de Leche S.A.”, cuyo propietario es el señor Arturo Solano Pacheco. Se encuentra ubicada en el Distrito de San Jerónimo, Cantón de Moravia, Costa Rica. El distrito de San Jerónimo se sitúa a una latitud norte de 10° 06' 35' y a una longitud oeste de 84° 21' 58' con una altitud de 1110 m.s.n.m.

El proceso de ensilado se llevó a cabo en las instalaciones de la Sede Rodrigo Facio y los análisis de laboratorio se efectuaron en el Centro de Investigación de Nutrición Animal (CINA), Universidad de Costa Rica.

4.2 Características del material vegetativo

La finca se dedica a la producción de ganado de leche. El recurso forrajero se basa en el pastoreo y corta del pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfluensis*), en donde el material forrajero que se usa en el sistema de corta y acarreo, se cosecha a una edad entre los 45 y 60 días de rebrote.

Poseen un sistema de fertilización orgánica con base en el compostaje de las excretas de los bovinos, las cuales se aplican al voleo en los potreros el propio día o un día después de haber terminado el pastoreo.

4.3 Preparación de los microsilos y toma de la muestra

Se recolectó material fresco del pasto Estrella Africana de 60 días de edad en el mes de mayo del 2009, en donde la altura aproximada de la planta, medida desde el suelo al dosel de la planta, fue de 80 cm. La producción de biomasa de dicho forraje, calculada a partir del área de corta y el peso total del material, es de 25 000 kg MF.ha⁻¹. Este material se picó a 2,5 cm de largo con una picadora de cuatro cuchillas.

Una vez aplicado los tratamientos (Cuadro 7), el material se depositó en bolsas plásticas transparentes para empaque al vacío con una capacidad de 1,0 kg y un grosor de 0,0063 mm. La extracción del aire se realizó mediante una bomba de succión o aspiradora, procediendo a sellar las bolsas con cinta plástica adhesiva para evitar la entrada de aire.

Se tomó una muestra compuesta del material fresco para cada tratamiento, previo al proceso de ensilaje, para su respectivo análisis de composición nutricional, la cual se utilizó como referencia (día cero).

Al finalizar el tiempo del ensilado (60 días) se procedió a abrir las bolsas de los microsilos, primero se descartó las partes superficiales en descomposición; donde no se determinó la cantidad por ser un total prácticamente inapreciable; para proceder con la caracterización organoléptica de los ensilajes y finalizar con la separación del material de las bolsas en dos muestras para su respectivo análisis de las características fermentativas y nutricionales en el laboratorio.

4.4 Tratamientos

Se utilizó un total de quince tratamientos en asignación irrestricta al azar, con cuatro repeticiones por cada uno, para un total de 60 microsilos. Se aplicó 2

tipos de inóculos microbiales: artesanal y comercial, y se trabajó un tratamiento con ausencia de inóculo. Asimismo, a dichos tratamientos se les incluyó por separado distintas fuentes de carbohidratos solubles al 3% p.p⁻¹, en donde se adicionó melaza al 3% y tres mezclas de melaza:suero de leche en las siguientes relaciones: 2:1 (2%:1%), 3:1 (2,25%:0,75%) y 4:1 (2,4%:0,6%). El suero se obtuvo un día antes de la cosecha del pasto, se conservó a 4 °C en refrigeración y previo al experimento se expuso a temperatura ambiental.

En el laboratorio de química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), Universidad de Costa Rica se determinó el valor de humedad de las diversas fuentes de carbohidratos que se incluyeron en los tratamientos. Los resultados obtenidos de dicho análisis son que la melaza tuvo un 22,4%, el suero de leche puro 93,0% y para las mezclas de melaza:suero en las relaciones 2:1, 3:1 y 4:1 se contabilizó 46,4%, 39,8% y 36,2% de humedad, respectivamente.

Como se aprecia en el cuadro 7, se utilizó un tratamiento control (sin fuente de carbohidratos) y tratamiento sin la aplicación de inóculo, además de los comparadores meta (inclusión de melaza al 3%) de cada tratamiento.

Cuadro 7. Fuentes de carbohidratos, de inóculos bacteriales y número de repeticiones que se emplearon.

| Tratamientos | Control | Melaza (3%) | Mezcla melaza:suero de leche | | |
|-------------------|---------|-------------|------------------------------|-----|-----|
| | | | 2:1 | 3:1 | 4:1 |
| Sin inóculo | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Inóculo comercial | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Inóculo artesanal | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

Como inóculo comercial se empleó el producto Silopak® (Prokura) según las especificaciones del fabricante, el cual indica que cada gramo de producto contiene 50×10^{12} UFC (bacterias de ácido láctico). En este caso se empleó la dosis que el fabricante recomienda, la cual es equivalente a 188 gramos del producto por cada 50 toneladas de material fresco (1×10^{12} UFC.10 kg pasto⁻¹).

El inóculo artesanal fue producido en finca, donde se inició en un recipiente con tapa y una capacidad de 20 litros, se mezcló 1 litro de microorganismos eficientes (EM®) y 3,78 litros de melaza, se aforó con agua y se dejó fermentar durante 10 días (Producto activado). En el momento que se empleó, se agregó 1 galón de melaza, 1 galón de suero de leche y 1 galón del producto activado a un estañon de 200 litros, el cual se llenó con agua hasta alcanzar su capacidad y dicha mezcla se utilizó de forma inmediata a razón de 1 litro por tonelada de material fresco.

La concentración de microorganismos presentes en el inóculo artesanal utilizado en este experimento fue de $1,0 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ de bacterias, $< 1,0 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ de hongos, $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ de levaduras y $2,4 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ de *Lactobacillus*, análisis que se realizó en el laboratorio de microbiología del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA), Universidad de Costa Rica.

4.5 Variables evaluadas

A las muestras recolectadas antes y después del proceso fermentativo se les analizó el contenido de materia seca (MS) en una estufa a 60 °C durante 48 horas, la proteína cruda (PC) se determinó mediante el método de Kjeldahl, extracto etéreo (EE) y cenizas (Ce) se estimaron según la AOAC (2000), la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina a partir de Van Soest et al. (1991), el nitrógeno ligado tanto a la FDN (N-FDN) como a la FDA (N-FDA) se determinó según Licitra et al. (1996).

Con respecto a las características fermentativas, la capacidad buffer y el pH del material se determinaron mediante la metodología descrita por McDonald (1981) y los valores de nitrógeno amoniacal (N-amoniacaI.N-total⁻¹) mediante los procedimientos descritos por Rojas (1985).

Los contenidos de los nutrientes digestibles totales (NDT) y de energía se estimaron a partir de las ecuaciones propuestas por Weiss (2004) y el NRC (2001), respectivamente. Para dichos análisis se llevó a cabo una selección previa de los tratamientos, donde se utilizó como variable de selección el pH menor para escoger los mejores ensilajes, con lo que se desarrolló tres distintas posibilidades de trabajo según la inclusión de inóculo.

Las características organolépticas que se evaluaron son el color, el olor y la textura del material descritas en el cuadro 2. Con relación al color puede fluctuar desde un color verde (satisfactorio) hasta café oscuro (indeseable). Su olor puede variar de agradable o dulce (ácido láctico), avinagrado (ácido acético) o putrefacto (ácido butírico). Mientras que su textura puede diferir entre la conservación de la textura original del forraje hasta viscoso.

4.6 Descripción del análisis de varianza

El análisis de varianza se realizó mediante el modelo ANOVA, de acuerdo a la siguiente ecuación estadística:

$$y_{ij} = \mu + M_i + I_j + (M \times I)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde: y_{ij} = observación individual
 μ = media
 M_i = efecto de la melaza, $i = (1, 2, 3, 4, 5)$
 l_j = efecto de los inóculos, $j = (1, 2, 3)$
 $(Mxl)_{ij}$ = efecto de interacción
 e_{ijk} = error experimental, $k = (1, 2, 3, 4)$

Para la determinación de diferencias estadísticas entre las medias de los materiales ensilados se aplicó la prueba de Waller y Duncan mediante el programa de SAS (2003), donde se incluyeron todos los componentes bromatológicos y fermentativos de los materiales ensilados a excepción de la variable de extracto etéreo. Además en el análisis de los resultados, se describen las tendencias obtenidas de los efectos principales de dicha investigación.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Composición nutricional de los materiales antes de ensilar

Los contenidos nutricionales y variables químicas obtenidas en este trabajo de las mezclas de pasto estrella, cosechado a 60 días, con la aplicación de inóculos microbiales, melaza y mezclas de melaza y suero de leche antes de iniciar el proceso de fermentación, se describen en el cuadro 8.

Referente al contenido de materia seca (MS), se determina un promedio de 24,83% para el pasto Estrella sin adición de aditivos. Al compararlo con contenidos de MS de los pastos en Costa Rica (Sánchez y Soto 1996), se observa que los datos obtenidos en este trabajo presentan un valor similar al que se obtuvo para el Estrella Africana (22,35%), pero elevado en relación con los pastos San Juan (13,25%) y Kikuyo (15,40%). Según indica Chaves (2005), para asegurar un adecuado proceso de fermentación, se requiere de valores de 30 a 35% de materia seca, por lo tanto al poseer un nivel inferior se limita el proceso y la apropiada preservación del material, lo que podría involucrar la aceptación o rechazo del producto por parte del ganado (Vendramini et al. 2010).

La inclusión de melaza al 3% p.p⁻¹ en los tratamientos provoca un aumento en la cantidad de materia seca (27,41 ± 0,42%), debido a que dicha fuente de carbohidratos solubles contiene mayor cantidad de materia seca (77,6%) en comparación con los otros aditivos energéticos aplicados, según lo indican los datos obtenidos a nivel de laboratorio.

Cuadro 8. Composición nutricional en base seca de pasto Estrella Africana con la aplicación de inóculos microbiales de origen comercial y artesanal; y la adición de melaza (3%) y mezclas de melaza y suero de leche antes de iniciar el proceso de ensilaje.

| Inóculo | Fuente de carbohidratos | | Variables Nutricionales | | | | | | | | Variables Químicas | |
|-----------|-------------------------|-----------|-------------------------|--------------------|-------------|---------|---------|-------------|---------------------|-----------|--------------------|---|
| | Melaza (%) | Suero (%) | Materia Seca Total (%) | Proteína Cruda (%) | Cenizas (%) | FDN (%) | FDA (%) | Lignina (%) | Extracto etéreo (%) | DIVMS (%) | pH | Capacidad Buffer (mEqNaOH. 100gMS ⁻¹) |
| Ausente | 0 | 0 | 24,83 | 11,50 | 11,62 | 67,20 | 35,45 | 3,45 | 1,48 | 56,99 | 5,00 | 48,35 |
| | 3 | 0 | 26,93 | 11,25 | 11,46 | 61,26 | 32,01 | 4,64 | 1,10 | 61,49 | 4,80 | 50,66 |
| | 2 | 1 | 26,22 | 11,55 | 11,26 | 64,40 | 34,03 | 5,11 | 1,53 | 57,90 | 4,90 | 49,37 |
| | 2,25 | 0,75 | 26,96 | 11,68 | 11,63 | 61,58 | 32,20 | 4,25 | 1,40 | 59,13 | 4,80 | 56,14 |
| | 2,40 | 0,60 | 26,55 | 11,25 | 11,49 | 62,96 | 32,40 | 4,23 | 1,26 | 59,12 | 4,70 | 50,20 |
| Comercial | 0 | 0 | 25,41 | 11,82 | 11,42 | 67,05 | 36,05 | 3,47 | 1,32 | 53,24 | 4,95 | 48,84 |
| | 3 | 0 | 27,65 | 11,47 | 11,71 | 63,92 | 33,17 | 4,57 | 1,51 | 59,76 | 4,70 | 51,44 |
| | 2 | 1 | 25,90 | 11,25 | 11,90 | 61,96 | 33,07 | 3,43 | 1,62 | 62,32 | 4,70 | 47,05 |
| | 2,25 | 0,75 | 27,46 | 11,73 | 11,61 | 62,03 | 32,81 | 2,92 | 1,74 | 62,64 | 4,75 | 53,22 |
| | 2,40 | 0,60 | 27,29 | 11,51 | 11,61 | 60,08 | 31,82 | 3,17 | 1,70 | 63,26 | 4,70 | 53,29 |
| Artesanal | 0 | 0 | 24,34 | 11,33 | 12,55 | 65,56 | 36,00 | 4,11 | 1,55 | 57,17 | 7,40 | 21,34 |
| | 3 | 0 | 27,65 | 11,29 | 11,78 | 55,38 | 29,14 | 4,26 | 1,74 | 63,74 | 4,75 | 46,65 |
| | 2 | 1 | 27,24 | 11,73 | 11,61 | 62,65 | 31,69 | 3,33 | 1,55 | 59,60 | 4,75 | 48,07 |
| | 2,25 | 0,75 | 26,70 | 11,38 | 11,28 | 62,48 | 33,31 | 3,66 | 1,36 | 58,58 | 4,70 | 55,32 |
| | 2,40 | 0,60 | 26,52 | 11,55 | 11,46 | 61,16 | 32,89 | 3,54 | 1,42 | 57,63 | 4,70 | 52,19 |

Con respecto al contenido de proteína cruda (PC) del forraje (11,50%), este se encuentra dentro de los rangos obtenidos por Sánchez y Soto (1996) para forrajes tropicales. Al comparar dichos valores de forma individual se evidencia que en esta investigación se presenta un valor inferior al obtenido por estos mismos autores para el pasto Estrella (15,35%) cosechado entre 21 a 30 días. En cambio, Vendramini et al. (2010) informan de un contenido de 12,0% de PC para el pasto Estrella cosechado en verano a 42 días de rebrote. Dentro de la misma investigación, se analizaron pastos del género *Cynodon*, de los cuales informan valores de 10,2% para el Tifton 85 (*Cynodon sp.*) y 12,0% en promedio para especies de bermuda (*Cynodon dactylon*).

La inclusión de fuentes de carbohidratos no afecta el contenido de PC, pero en promedio, presenta una tendencia a disminuir el contenido de dicha variable en el caso de la melaza y de incrementar en el caso de las mezclas de melaza y suero.

El nivel de cenizas en las muestras analizadas en esta investigación (11,62%) es elevado en comparación con los valores obtenidos por Sánchez y Soto (1996) de 9,3% para el pasto Estrella y de 10,8% para *Brachiaria ruziziensis*, pero similar al contenido del pasto Kikuyo (11,3%) y del pasto King grass (11,8%). Una posible explicación a este comportamiento, es el contenido de minerales existentes en los suelos, el manejo que se le brinde al cultivo, las condiciones durante la cosecha del material y el tipo de forraje por sus características propias.

En relación a los contenidos de la pared celular, se indica un valor promedio de fibra detergente neutra (FDN) de 67,20%, el cual se encuentra dentro del rango de 65 a 72% de FDN descrito por Sánchez y Soto (1998) para pastos tropicales, pero al comparar de forma individual, este valor promedio se encuentra por debajo de los contenidos de FDN para el pasto Estrella (71,5%), King grass (72,5%) y San Juan (68,3%). Asimismo, presenta valores similares al del pasto Kikuyo (67,0%) y *Brachiaria ruzi* (67,2%), nombrados en el mismo estudio. En este caso, el valor bajo de FDN promueve un mejor consumo de materia seca, debido a que el alto

contenido de fibra del pasto Estrella influye en el consumo voluntario de los animales, además, afecta el rendimiento y la calidad del ensilaje.

Se nota una disminución promedio de 5,75 y 7,01% en el contenido de FDN debido a la adición del inóculo artesanal y a la adición de melaza pura, respectivamente, lo cual podría deberse a un efecto de dilución.

Sánchez y Soto (1998) también comentan los contenidos de fibra detergente ácida (FDA) y lignina, donde el Estrella (21 a 30 días), contiene valores de 39,9% de FDA y 5,31% de lignina. En otro estudio, se encontró un promedio de 37,18% de FDA entre cinco especies de *Cynodon* en la época de verano (Vendramini et al. 2010). En ambos estudios los datos son mayores a los obtenidos en la presente investigación, donde se informan valores para el tratamiento control de 35,45% de FDA y 3,45% de lignina, al comparar cada parámetro entre los estudios se concluye que con los datos resultantes del presente trabajo habría un mayor aprovechamiento en lo referente a la digestibilidad del forraje.

Por otro lado, en el cuadro 8 se observa que el contenido promedio de FDA ($31,44 \pm 2,07\%$) disminuye al incluir melaza en comparación con el tratamiento testigo. Asimismo, para la lignina se nota una disminución de hasta un 2,92% al incluir inóculo y algún tipo de mezcla de melaza y suero de leche.

El extracto etéreo posee una concentración de 1,48% para el tratamiento control, lo que resulta en un valor menor al promedio del Estrella (1,98%) reportado en Sánchez y Soto (1996). Además, se concluye que el valor obtenido se favorece al incluir fuentes de carbohidratos hasta un 1,74%.

La Digestibilidad *In Vitro* de la Materia Seca (DIVMS) del tratamiento control corresponde a 56,99%, nivel mayor al compararlo con datos obtenidos para el pasto Estrella Africana de 42% (Fernández et al. 1991) y 50,23% cosechado a 73 días (Ruíz 1978), pero inferior a los pastos Kikuyo y Brizantha analizados por

Estrada et al. (1998) y al pasto King grass mencionado por Chaves (1990), los cuales corresponden a 63,89, 66,25 y 65,11%, respectivamente.

5.2 Características organolépticas de los ensilajes de Estrella Africana con la adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales

En general, no hubo presencia de hongos al abrir los microsilos posterior a los 60 días de fermentación. Se inició con el descarte de la capa más externa para proceder al análisis de las características organolépticas a cada uno de los microsilos. Todos los tratamientos presentaron un color verde-olivo, indicativo de una fermentación satisfactoria.

En lo que concierne a la variable de olor, los ensilajes presentaron un aroma dulce-avinagrado, lo cual supone la producción de ácido láctico y acético. Además, no se presentó ninguna muestra con viscosidad ni aglomeración, todas presentaban una textura deseable y muy conservada con respecto al material original. En la figura 1, se puede observar de forma representativa la coloración y viscosidad existente en un ensilaje luego de su apertura.



Figura 1. Ensilaje de pasto Estrella abierto luego de 60 días de fermentación.

5.3 Composición nutricional de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales

A continuación se describen las variables nutricionales de los ensilajes y sus distintos tratamientos, donde se analizan los contenidos de materia seca total (MS), proteína cruda (PC), cenizas (Ce), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina, extracto etéreo (EE) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), parámetros esenciales para el análisis nutricional de los alimentos para los animales.

5.3.1 Materia seca total

En la figura 2, se describen comportamientos cuadráticos del contenido de MS en los ensilajes de pasto Estrella Africana, los cuales se obtuvieron en este estudio debido a la adición de carbohidratos (3% p.p⁻¹) y el tipo de inóculo aplicado: sin inóculo, con inóculo comercial o artesanal.

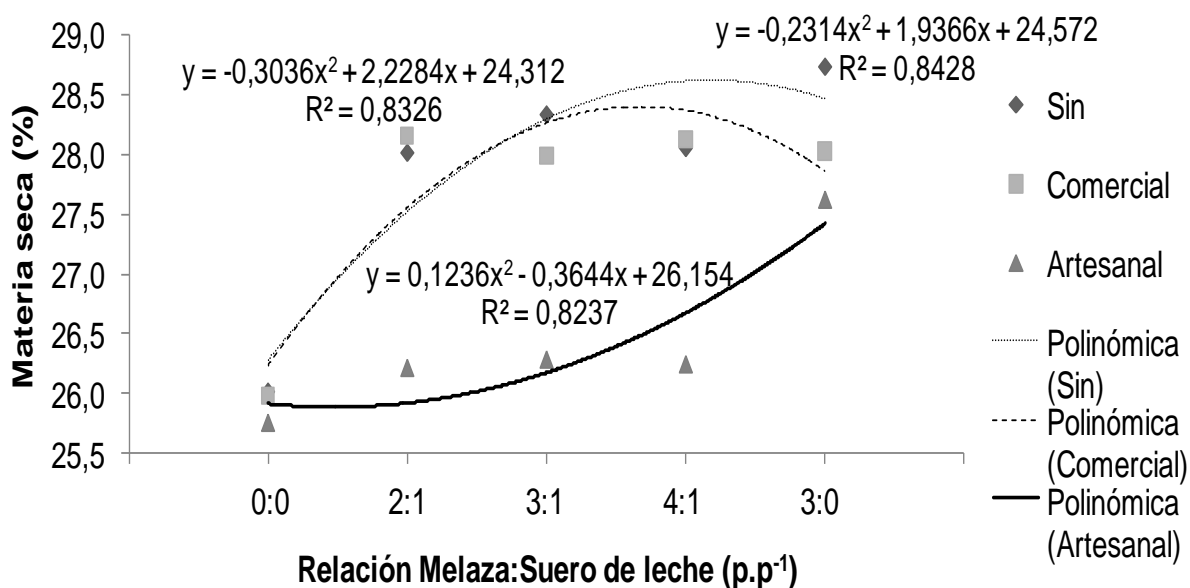


Figura 2. Contenido de MS de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Al comparar los tratamientos de forma individual se observan diferencias en el contenido de la MS, los cuales se agrupan en dos rangos de 25,75 a 26,28% como datos inferiores contra los valores mayores de 27,99 a 28,24% de MS, en donde los valores inferiores fueron obtenidos por los tratamientos control (26,02%), con inóculo comercial sin carbohidratos (25,98%) y los que contienen inóculo artesanal con excepción del tratamiento que posee melaza pura (Anexo 1).

Referente al efecto de los inóculos microbiales, se encontró una diferencia significativa ($p < 0,05$) cuando se adiciona el inóculo artesanal, ya que se obtuvo valores menores de materia seca con un promedio de $26,42 \pm 0,70\%$. Lo cual también se puede notar en las funciones de la figura 2, donde los tratamientos sin inóculo y con inóculo comercial poseen funciones cóncavas, a diferencia de la pendiente de inóculo artesanal que, aunque posee una pendiente creciente, se encuentra a un nivel inferior con respecto a las demás, lo cual puede deberse a los tipos de microorganismos existentes en las muestras con dicho inóculo. Según Vendramini et al. (2010) los inóculos microbiales mejoran la fermentación y la recuperación de MS, pero dependiendo de la población existente en el inóculo artesanal (EM[®]) puede ser que se degraden nutrientes valiosos y producir una pérdida de dicha variable al sintetizar sustancias no deseadas dentro del proceso.

Con respecto a la adición de carbohidratos, se ven diferencias significativas ($p < 0,05$) en dos tratamientos, donde se consigue un efecto negativo cuando no se adicionan fuentes energéticas ($25,92 \pm 0,15\%$) y un efecto positivo con la inclusión de melaza pura ($28,13 \pm 0,57\%$). Además se observa un efecto progresivo al adicionar proporciones crecientes de melaza, concluyendo que la melaza, al poseer menor cantidad de humedad que el resto de los aditivos (inóculos y suero de leche), ayuda en el incremento de MS del material ensilado.

Esta misma tendencia la encontraron Vallejo et al. (1994), donde la adición del 5% de melaza en los ensilajes de morera aumentó el contenido de materia seca de 26,9 a 30,4%.

5.3.2 Proteína cruda

Para la cantidad de proteína cruda de los ensilajes se describieron tendencias cuadráticas entre los diversos tratamientos lo que resulta en dos funciones decrecientes (tratamientos con inóculos) y una creciente (sin inóculo).

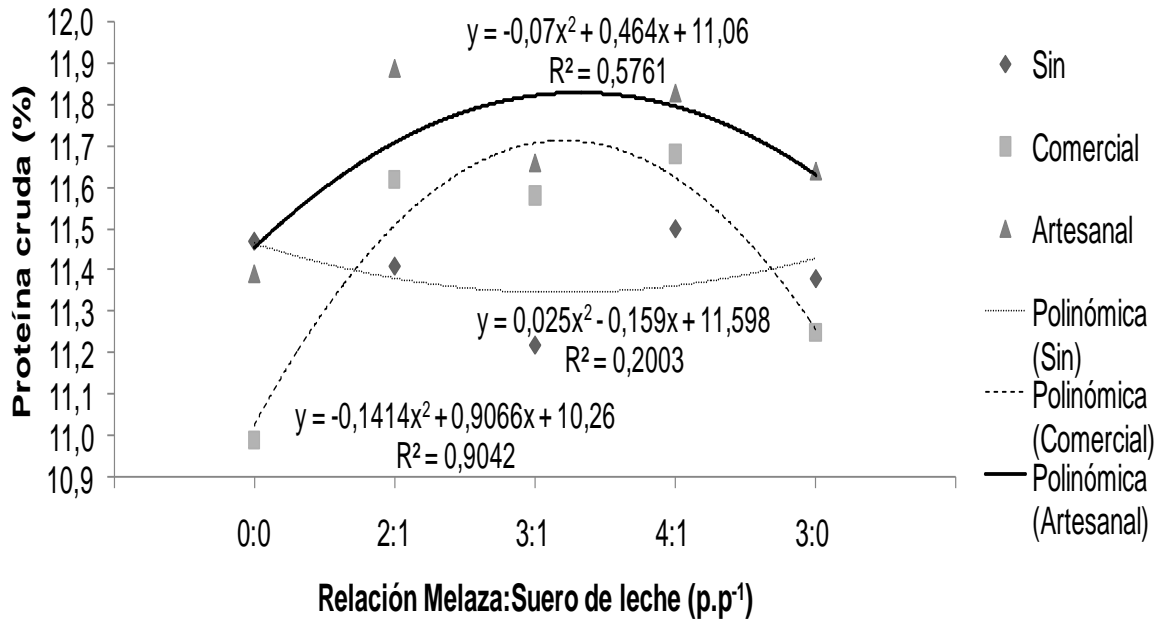


Figura 3. Contenido de PC de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

En el presente estudio se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en los contenidos de proteína cruda al comparar de forma individual los diversos tratamientos, con lo que se definen dos rangos principalmente, los que poseen de 10,99 a 11,41% y las muestras que se encuentran entre 11,47 y 11,89% de proteína cruda, donde el dato menor corresponde al tratamiento con inóculo comercial sin fuente energética y el valor más elevado se refiere al tratamiento con inóculo artesanal y la mezcla de melaza-suero de leche en la relación de 2 a 1 (Anexo 1).

Por otra parte, al comparar la ausencia o adición de inóculo microbial se apreció diferencia significativa ($p < 0,05$) en los tratamientos a los que se les incluyó inóculo microbial, en específico los que poseían inóculo artesanal, los cuales presentaron un dato elevado ($11,68 \pm 0,20\%$) con respecto a los demás tratamientos. Dicha tendencia podría explicarse por la diversa cantidad de microorganismos existentes en la mezcla y su beneficio sobre el contenido de proteína en el medio.

No se encontró diferencias significativas ($p > 0,05$) según el análisis realizado por la inclusión de mezclas de carbohidratos, lo cual es de esperar debido a la baja cantidad de proteína que pueden contener los aditivos energéticos, en donde la melaza contiene únicamente en promedio un 3,66% de proteína cruda (Cuadro 5) y el suero de leche un 0,80% de proteína total (Cuadro 6).

El valor de PC obtenido por el tratamiento control del presente trabajo (11,47%) es superior en comparación con las concentraciones de los ensilados de maíz y sorgo, cuyo valor es de 9,1% de proteína cruda para ambos productos fermentados, obtenidos por Jones et al. (2004).

Los niveles de proteína de los ensilajes con inóculo ($11,55 \pm 0,18\%$) son mayores al promedio que señalan Vendramini et al. (2010) para los ensilajes de pasto Estrella tratados con una solución de inoculantes (10,9%).

El valor de proteína de los ensilajes de Estrella Africana (11,47%) presenta un dato similar al obtenido para el ensilaje de *Cratylia* (11,77%) pero superior para los ensilajes de Sorgo forrajero (6,83%), presentados por Chaves (2005). Según el mismo autor, al adicionar 5% de melaza al ensilaje, los valores de dichos productos aumentaron a 12,04 y 7,73%, respectivamente, debido a que la adición del aditivo permitió una acidificación más rápida del forraje y mejoró la conservación del mismo, situación contraria a lo obtenida en el presente trabajo, en donde su concentración disminuye según la adición creciente de melaza.

5.3.3 Cenizas

En la figura 4 se incluyen las tendencias una lineal y dos cuadráticas, donde se muestra que los valores de los tratamientos con inóculo artesanal (12,58 a 12,96%) son mayores con respecto a los otros dos métodos evaluados.

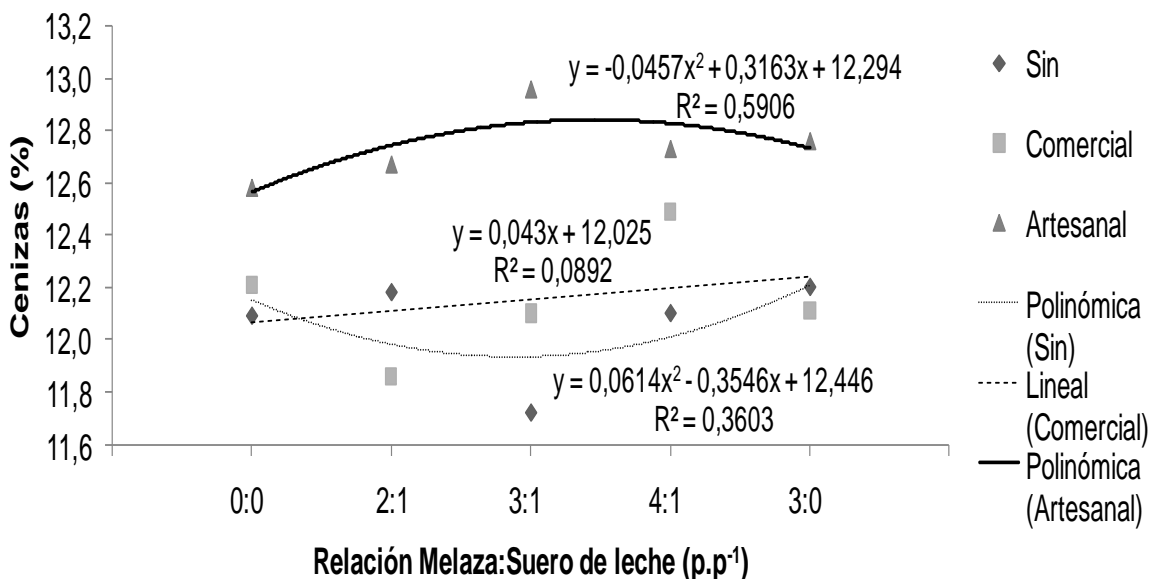


Figura 4. Contenido de cenizas de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

La cantidad de cenizas varía significativamente ($p < 0,05$) al comparar los tratamientos de forma individualizada, en donde se destacan principalmente dos agrupamientos: aquellos que se encuentran entre valores de 11,86 a 12,21%; que en su mayoría se sitúan en los tratamientos sin inóculo y con inóculo comercial; y los que poseen entre 12,49 a 12,76% de minerales.

Al comparar el efecto de la adición o ausencia de inóculo sobre los ensilajes, se advierte que hay un efecto positivo al incluir inóculo en las muestras, donde se

presenta cantidad significativa ($p < 0,05$) mayor con la adición de inóculo artesanal, cuyo promedio es de $12,74 \pm 0,14\%$ de cenizas.

Por el contrario, no se evidenció un efecto significativo ($p > 0,05$) cuando se adicionan carbohidratos solubles en el medio, aunque se denota una leve elevación en los valores cuando se adiciona la mezcla de melaza y suero de leche en relación de 4 a 1 ($12,44 \pm 0,32\%$) y melaza al 3% ($12,36 \pm 0,35\%$) en comparación al resto de los tratamientos que poseen menor cantidad de melaza, ya que según Vargas (1979) la melaza estimula el aumento en la concentración de cenizas.

Caso contrario a lo obtenido en la presente investigación, López (2008) obtiene una disminución del contenido de cenizas, por efecto de dilución, al agregar mejoradores fermentativos en el ensilado de rastrojo de piña, según el autor esto se debe al contenido de minerales de las fuentes energéticas que se adicionaron.

El contenido de cenizas del ensilado de Estrella Africana (12,09%) obtenido en este estudio es mayor al obtenido por López (2008) para el ensilaje de rastrojo de piña (10,8%) y para el ensilado de *Arachis pinto* (CIAT 18744) a 8 semanas de rebrote (10,26%) descrito por WingChing y Rojas (2006).

5.3.4 Fibra detergente neutra

Según los análisis realizados, el tratamiento con mayor contenido de FDN es el que presenta la inclusión de inóculo artesanal pero sin carbohidratos (67,34%). Por el contrario, se percibe una disminución significativa ($p < 0,05$) con la adición de melaza al 3% pero sin inóculo con lo que se obtuvo una concentración de FDN de 59,64% en el material (Anexo 1).

En la figura 5, se observa que al adicionar inóculo comercial se forma una pendiente convexa y una pendiente decreciente al adicionar inóculo artesanal, debido al efecto de la aplicación creciente de melaza y suero de leche en ambos casos.

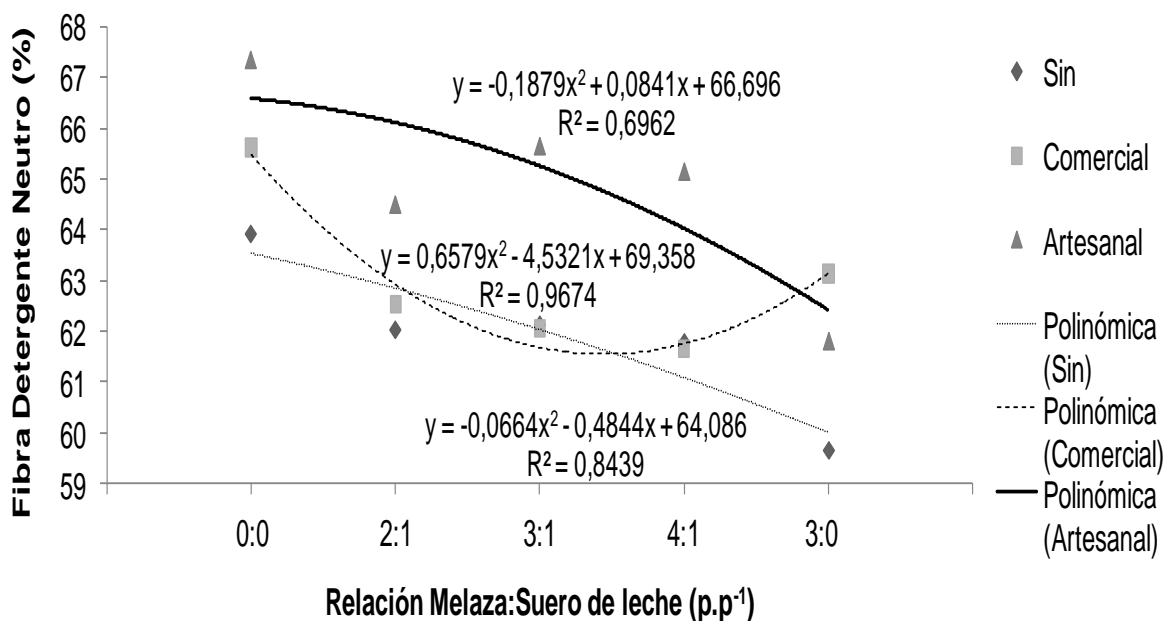


Figura 5. Contenido de FDN de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

En el análisis comparativo del efecto de la aplicación o ausencia de inóculos microbiales se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$), en donde se determinaron concentración de FDN de $61,90 \pm 1,53\%$ para los tratamientos con ausencia de inóculo, de $63,00 \pm 1,57\%$ con inóculo comercial y $64,89 \pm 2,02\%$ con artesanal. Aun así, los contenidos más elevados de FDN al adicionar inóculos, presentan niveles inferiores a los reportados por Vendramini et al. (2010) sobre los ensilados con inóculos de Estrella Africana (65,4%), pasto Elefante (66,6%) y *Cynodon sp.* (68,5%).

Al comparar el contenido de FDN según la inclusión de aditivos energéticos, se percibieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en dos tratamientos, los cuales corresponden como el tratamiento con el contenido menor aquellos microsilos que se les incluyó melaza al 3% ($61,52 \pm 1,76\%$) y como el valor mayor los microsilos sin inclusión de carbohidratos ($65,63 \pm 1,71\%$). Como se mencionó anteriormente, la inclusión de melaza estimula una disminución de la cantidad de FDN en los ensilajes, lo que explica tal disminución en la concentración de dicha variable al adicionar dicha fuente energética. Esta reducción de fibra al complementar el forraje a ensilar con fuentes de carbohidratos, supone un beneficio en el consumo del material y una reducción en su efecto de llenado físico en los animales al tener menor tiempo de retención dentro del rumen.

En un estudio realizado por Britos et al. (2007) se concluyó que el uso de suero de leche al 2% p.p⁻¹ induce un aumento en los niveles de FDN en los ensilajes de pasturas (60,05%) comparado si se utiliza melaza pura como aditivo (54,91%), situación que se percibe en este caso aún al utilizar un nivel inferior del 1%. Contrario al mismo estudio, en la presente investigación se manifiesta un aumento en la concentración de FDN al incrementar las cantidades de suero de leche como aditivo. Una posible explicación a dicha circunstancia es que el suero de leche sea un sustrato de lenta fermentación, lo que provoca que se disminuya la degradabilidad de la fracción fibrosa. Al respecto, Weisbjerg et al. (1998) demostraron que la lactosa tiene una tasa de fermentación ruminal correspondiente a la mitad de la tasa de sucrosa (540 contra 1302%.h⁻¹).

Chaves (2005) informa valores de FDN menores para los ensilados de *Cratylia* (62,84%) y valores mayores para los ensilados de sorgo forrajero (66,28%), en comparación a los obtenidos en este trabajo (63,93%). Este mismo autor encontró una alta diferencia significativa por la adición de melaza, debido a que los contenidos de FDN disminuyeron para los ensilados en 55,74 y 56,47%, respectivamente, asociado al aumento de azúcares naturales en el ensilaje (Bernal et al. 2005).

5.3.5 Fibra detergente ácida

Los valores de FDA presentan diferencias significativas ($p < 0,05$), específicamente en el tratamiento con inóculo artesanal pero sin carbohidratos incluidos cuyo valor elevado es 38,69%. El tratamiento con menor cantidad de FDA se obtuvo al incluir melaza al 3% como único aditivo con un 33,82% ($p > 0,05$).

En la figura 6, se evidencian pendientes cuadráticas para los ensilajes de Estrella Africana, en donde se muestra que la adición creciente de las mezclas de melaza y suero de leche favorecen a los tratamientos con inóculos microbiales, caso contrario en las muestras sin la adición de inóculo, cuya pendiente posee un comportamiento decreciente.

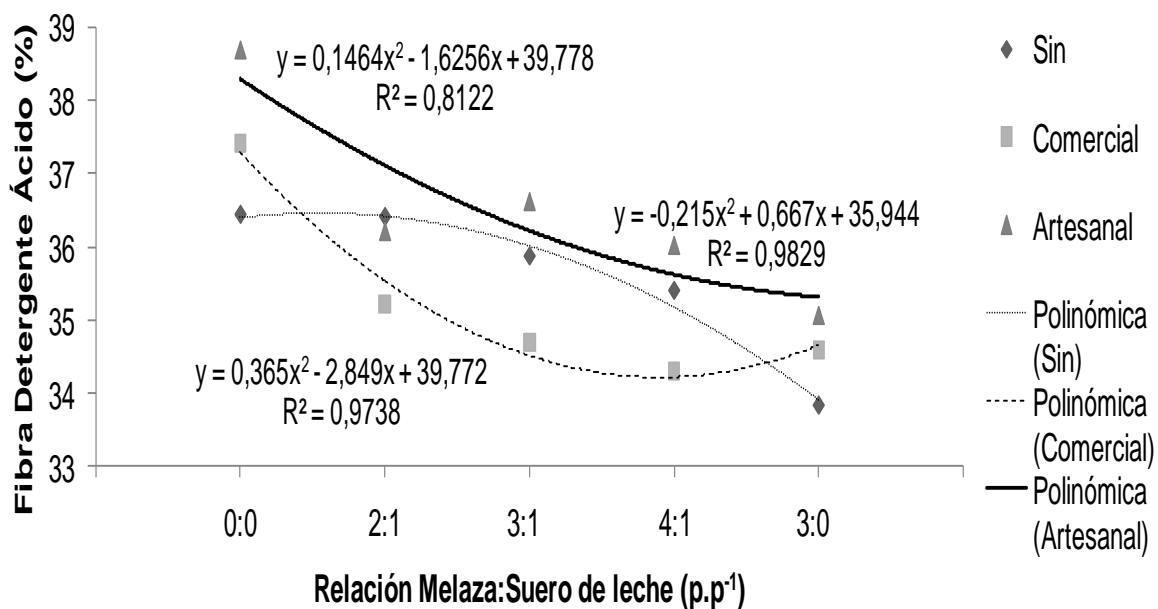


Figura 6. Contenido de FDA de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Se observó una diferencia al adicionar inóculos microbiales, donde fue significativo ($p < 0,05$) para los tratamientos con inóculo artesanal con un dato elevado de $36,51 \pm 1,53\%$. No se determinó una diferencia significativa ($p > 0,05$) al comparar el tratamiento control ($35,58 \pm 1,07\%$) con el tratamiento de inóculo comercial ($35,24 \pm 1,26\%$). Este incremento en el contenido de FDA, según Cubero (2008), se podría deber a la población microbial presente en el inóculo artesanal, pues dichos microorganismos crean un efecto de estabilidad del forraje fermentado al disminuir la descomposición de los componentes fibrosos y utilizar los componentes más disponibles o no fibrosos del forraje, lo que provoca un aumento en la concentración de la FDA en el material que se ensiló.

Luego de un análisis sobre el efecto en la inclusión de los niveles de fuentes energéticas, se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en dos tratamientos, obteniendo un dato elevado de FDA cuando los ensilajes no contienen fuentes de carbohidratos ($37,51 \pm 1,13\%$) y un dato inferior en los tratamientos con melaza al 3% ($34,48 \pm 0,62\%$), así como se comentó para la FDN, dicha situación de obtener menor cantidad de FDA mejora la digestibilidad del material al compararse con los demás tratamientos.

La disminución de FDA por la inclusión de melaza se asemeja a la situación en López (2008), donde en la presente investigación se obtuvo una disminución de los componentes de la pared celular en ensilajes de rastrojos de piña conforme se aumentaba la inclusión de aditivos energéticos.

El dato de FDA obtenido en los ensilajes de Estrella Africana (36,43%) es inferior a los encontrados por Vendramini et al. (2010) para el pasto Estrella (41,3%), especies de bermuda (42,23%) y el pasto Tifton 85 (41,1%). En cambio, presenta un valor similar según los obtenidos por López (2008) para los ensilados de rastrojo de piña con 35% de FDA.

5.3.6 Lignina

En los contenidos de lignina no se encontró diferencias significativas para un tratamiento en particular, pero sí entre rangos de dicha variable, en donde se definen dos grupos principalmente, el agrupamiento con los valores inferiores son los tratamientos con mezclas de melaza-suero de leche sin inóculo y los tratamientos con inóculo comercial, el segundo grupo con valores superiores es el de los tratamientos testigo, con melaza al 3% pero sin inóculo y las muestras con inóculo artesanal. Donde la muestra con el dato inferior corresponde a 2,74% de lignina del tratamiento con inóculo comercial y mezcla de melaza-suero de leche en relación 4 a 1, y el dato superior resultante de 4,88% del tratamiento con inóculo artesanal (Anexo 1).

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de lignina por el efecto de la aplicación o ausencia de los inóculos microbiales. Se cuantificó un valor bajo con la inclusión de inóculo comercial ($2,87 \pm 0,17\%$), un dato medio sin el uso de inoculantes ($3,38 \pm 0,40\%$) y un dato alto al aplicar EM[®] como inóculo artesanal ($4,29 \pm 0,39\%$).

Los resultados mencionados en el párrafo anterior coinciden con lo obtenido en ensilajes de maíz (2,32%) por Cubero (2008), donde obtiene cantidades de lignina mayores en los tratamientos que se les adicionó inóculo artesanal (5,18%). Dicho autor lo relaciona con el aumento obtenido en el análisis de FDA, ya que dicha fracción está constituida por la pared celular primaria donde se incluye la lignina. Caso contrario se presenta en el estudio de Ferreira et al. (2006), donde no se encontraron diferencias entre los resultados obtenidos en el contenido de dicha variable a partir del uso de aditivos bacteriales en ensilajes de pasto Estrella.

No se encontró diferencias significativas ($p > 0,05$) en los contenidos de lignina por la adición de fuentes de carbohidratos, pero se manifestó que los tratamientos con la mezcla de 2:1 de melaza y suero de leche obtuvieron el

promedio más bajo con $3,25 \pm 0,55\%$, observándose una tendencia creciente conforme aumenta la cantidad de melaza en el medio. Pero los microsilos que alcanzaron el dato mayor de $3,71 \pm 0,48\%$ de lignina fueron los tratamientos en ausencia de aditivos energéticos.

En la figura 7 se describe una tendencia lineal creciente para los tratamientos con inóculo artesanal y tendencias cuadráticas para las muestras sin inóculo y con inóculo comercial conforme aumenta la relación de melaza y suero de leche.

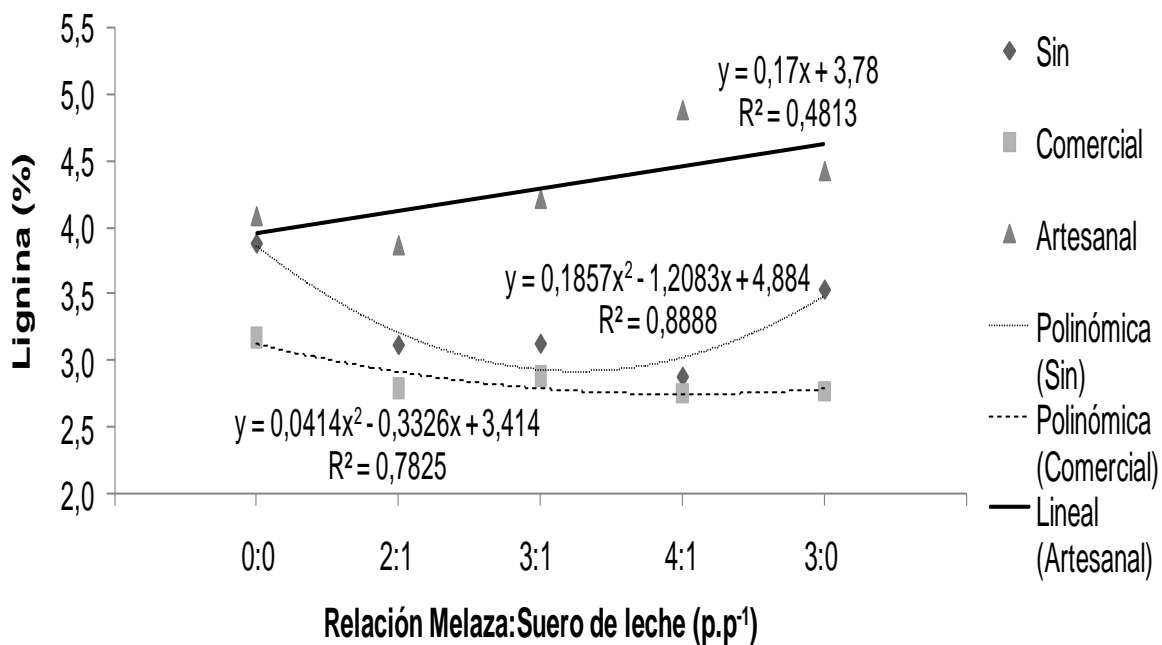


Figura 7. Contenido de lignina de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

La concentración de lignina en los ensilados de pasto Estrella Africana (3,88%) son superiores a los obtenidos por López (2008) para el ensilado de rastrojo de piña (2,83%), pero inferior según los datos informados por Jones et al. (2004) para ensilados de sorgo (6,5%) y soya (6,5%). Tal comportamiento se debe a que el

material inicial contenía niveles bajos de lignina, por lo que es de esperar que luego de su fermentación se mantenga en un rango similar e inferior a otros forrajes como gramíneas o leguminosas.

5.3.7 Extracto etéreo

En la figura 8, se observa que los tratamientos poseen una tendencia lineal creciente cuando no se incluye inóculo microbial, y tendencias cuadráticas decreciente y creciente para los tratamientos con inóculos comercial y artesanal, respectivamente.

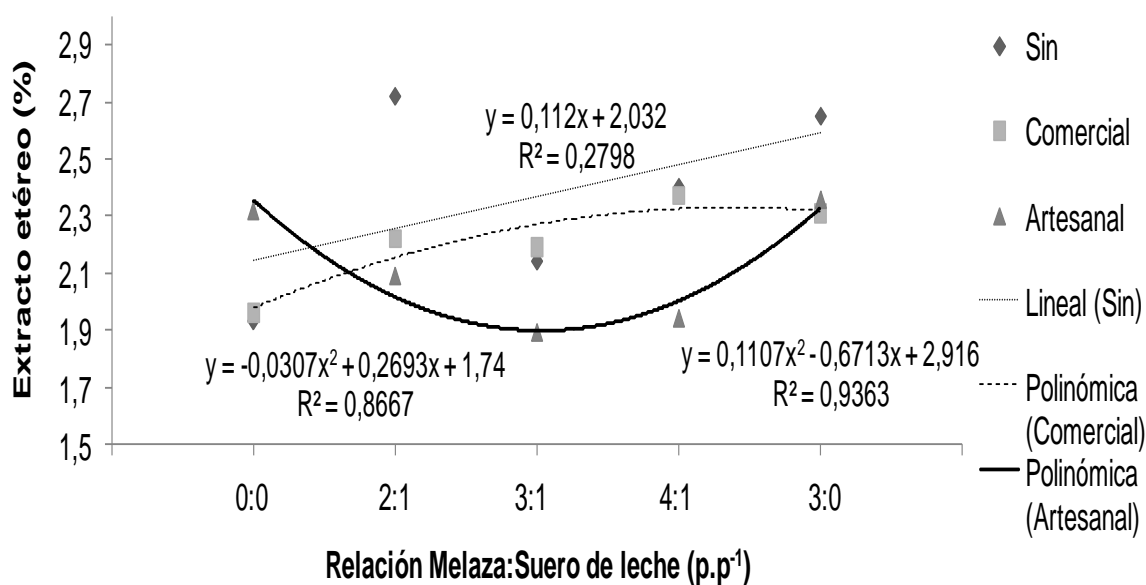


Figura 8. Contenido de EE de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos analizados. Se obtuvo un promedio de $2,37 \pm 0,33\%$ para las muestras sin aditivo microbial y un $2,17 \pm 0,06\%$ para los tratamientos a los que se les adicionó

inoculantes. En donde, para los microsilos con inóculo ausente se encontró una fluctuación entre 1,93 y 2,75% de EE y para las muestras con inóculo se obtuvieron rangos de 1,96 a 2,37% para el comercial y de 1,89 a 2,36% para el inóculo artesanal. Además, se notó un leve aumento en la concentración de EE al adicionar melaza al 3% con un nivel de $2,44 \pm 0,18\%$ con respecto a los tratamientos sin fuentes de carbohidratos.

El aporte de EE por parte del ensilado de Estrella Africana (1,96%) es menor con respecto al promedio nacional de los pastos tropicales frescos, cuyo valor es de 2,18%, el cual varía entre 1,98% para el pasto Estrella a 2,65% para el pasto San Juan (Sánchez y Soto 1996).

5.3.8 Digestibilidad “in vitro” de la materia seca

Los datos obtenidos de la DIVMS (51,65 a 64,88%) son levemente inferiores al rango indicado por Méndez (2000), donde menciona que los ensilajes de forrajes poseen entre 65 a 70% de digestibilidad. Como la digestibilidad del ensilado depende de la digestibilidad del material inicial, al comparar los datos iniciales (Cuadro 8) y los de los ensilados (Anexo 1) se observa una leve pérdida en la mayoría de los tratamientos en el porcentaje de DIVMS luego de la fermentación.

Según lo anterior, Villegas (1990) menciona como situación común el que la digestibilidad de los ensilados sea menor a los contenidos en el forraje fresco, debido a que se reduce la digestibilidad de los principios nutritivos por las pérdidas durante el proceso y la conversión de componentes químicos de la planta en otros menos aprovechables.

Los resultados presentaron tendencias cuadráticas según se demuestra en la figura 9, donde es creciente para los tratamientos sin inóculo y decrecientes para

los tratamientos a los que se les adicionó inóculos microbiales, tanto comercial como artesanal.

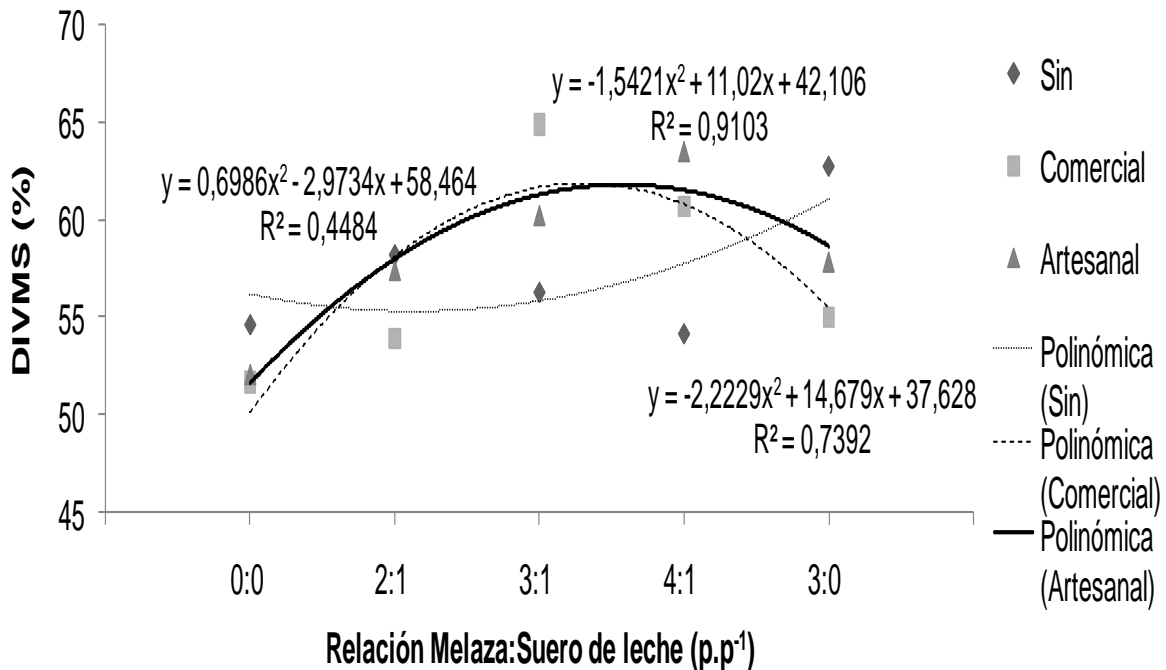


Figura 9. DIVMS de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Se obtuvo una fluctuación entre 51,66 a 64,88% de DIVMS para los materiales ensilados, en donde para los tratamientos sin inóculo el promedio fue de $57,23 \pm 3,48\%$, para las muestras con la adición de inóculo comercial $57,21 \pm 5,43\%$ y con inóculo artesanal $58,20 \pm 4,21\%$.

Según los análisis, no hay diferencia ($p > 0,05$) en la inclusión o ausencia de inóculo microbial, por lo que en dicha situación quedaría a criterio del productor si adiciona o no algún tipo de inóculo a los ensilajes, cuya decisión se define a partir del interés del mismo según la variable que quiera modificar en los ensilajes.

Se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) en los tratamientos sin aditivos energéticos con un $52,78 \pm 1,63\%$ como cantidad menor de digestibilidad. Además se observó un promedio mayor en la DIVMS al adicionar la mezcla de melaza y suero de leche en relación 3:1 con un nivel de $60,47 \pm 4,29\%$.

El valor obtenido en la presente investigación del tratamiento control (54,65%) es similar al indicado por Chacón (1987) para el ensilaje de pasto Elefante (58,09%) y donde, además, encontró aumentos en la DIVMS al adicionar melaza. Por el contrario, es inferior al obtenido por López (2008) de 74,88% para el ensilado de rastrojo de piña, lo que podría deberse a que el pasto Estrella posee mayor concentración de los componentes de la pared celular, lo cual afecta la disponibilidad de los nutrientes para ser degradados.

5.4 Variables fermentativas de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales

5.4.1 pH

Debido al contenido de materia seca del forraje previo a la fermentación (Cuadro 8), los datos obtenidos de pH se encuentran dentro el rango descrito por Chaves (2005) detallado en el cuadro 3, por lo que, según la clasificación mencionada en el cuadro 2, dichos ensilajes se catalogan en una calidad media. Además, Vendramini et al. (2010) mencionan que los ensilajes de forrajes tropicales se caracterizan por tener elevados contenidos de ácido acético, lo que produce una leve declinación en el pH, ya que éste es un ácido graso más débil que el ácido láctico.

Como muestra la figura 10, las tendencias variaron en relación al tipo de inóculo que se aplicó a los diversos tratamientos. Se observa una curva lineal decreciente para los valores de pH en presencia de inóculo artesanal y un comportamiento

cuadrático creciente en ausencia de inóculo y con inóculo comercial conforme aumenta la inclusión de mezclas de melaza y suero de leche en el proceso de ensilaje.

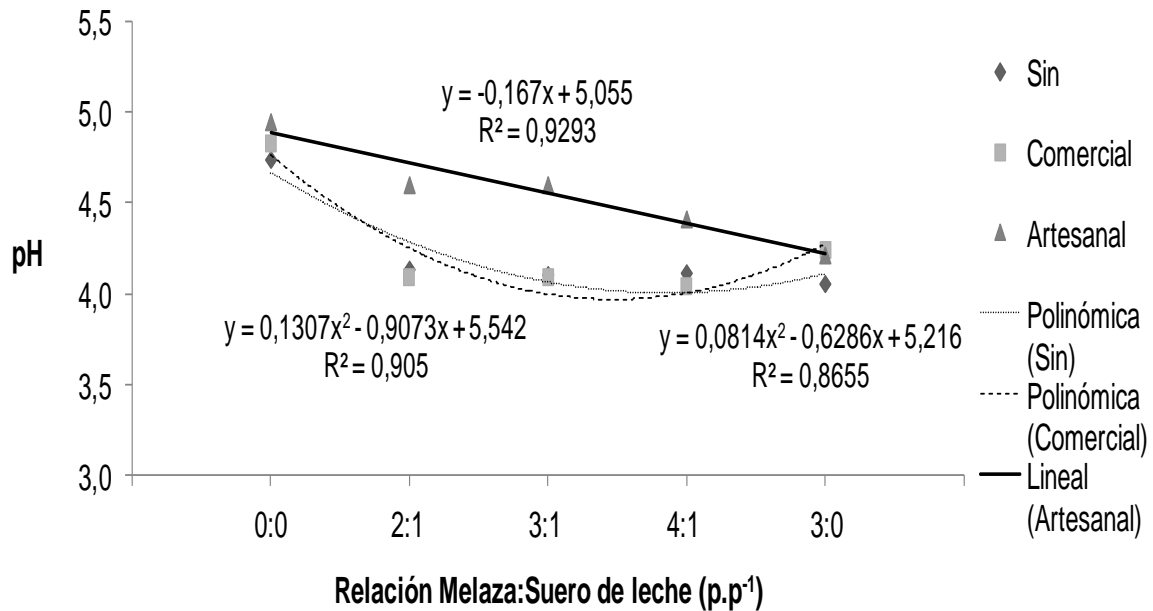


Figura 10. Valores de pH de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Como se observa en la figura 10, los valores más elevados de pH ($p < 0,05$) están presentes en los tratamientos sin aditivos energéticos ($4,84 \pm 0,11$), con un comportamiento decreciente conforme se adiciona los distintos tipos de carbohidratos, ya que éstos son fermentados por los microorganismos para la producción de ácidos y así crear un ambiente favorable para la conservación del forraje (Tobía y Vargas 2000).

Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en uno de los valores de pH al comparar los tratamientos de forma independiente, cuyo dato significativo de 4,41

se presentó en el tratamiento al que se le incluyó como aditivos el inóculo artesanal y la mezcla de melaza y suero de leche en la relación 4 a 1.

Al comparar el efecto de los inoculantes, la adición de inóculo artesanal ($p < 0,05$) presenta un promedio mayor ($4,56 \pm 0,27$) con respecto a las demás muestras, probablemente se deba a las especies de microorganismos existentes, los cuales producen otros compuestos que elevan el pH. Según el análisis realizado a dicho inóculo, demuestra la presencia de levaduras, hongos y bacterias, dentro de los cuales pueden haber especies anaerobias que fermentan diversos nutrientes del material, como los azúcares, produciendo distintas sustancias y, según sea el compuesto, pueden elevar el pH.

Otra explicación a dicha tendencia es que la producción de ácido láctico, por parte de los lactibacillus, crea un ambiente ácido que favorece el crecimiento de levaduras, las cuales tienden a producir alcoholes, ésteres o hidratos de carbono al descomponer azúcares, lo que podría provocar un aumento del pH si se compara con microsilos donde no se encuentran dichos microorganismos o estén en menor concentración (Carrillo 2003).

5.4.2 Capacidad amortiguadora ($\text{mEqNaOH} \cdot 100\text{gMS}^{-1}$)

No se encontraron diferencias significativas con respecto a la interacción que se tiene entre los aditivos incluídos a los tratamientos. Los valores de la capacidad buffer (CB) para los quince tratamientos ensilados se encuentran en un rango de 69,35 y 95,44 $\text{mEqNaOH} \cdot 100\text{gMS}^{-1}$. Se observa comportamientos cuadráticos (Figura 11) por la adición de inóculo según la inclusión creciente de carbohidratos, en donde se produce una pendiente decreciente para la inclusión de inóculo artesanal y crecientes para los demás tratamientos.

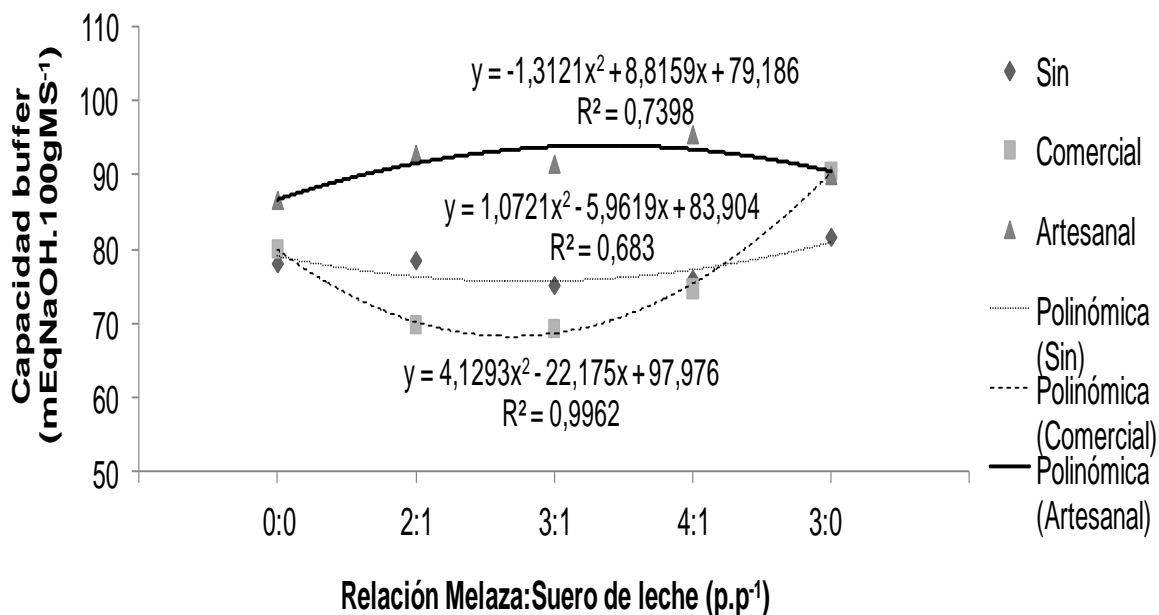


Figura 11. Valores de CB de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el uso de los microorganismos eficientes (EM[®]), ya que se obtuvo un dato elevado en la CB ($91,20 \pm 3,34$ mEqNaOH.100gMS⁻¹), lo cual puede deberse a su contenido de microorganismos indeseables que producen el deterioro anaeróbico, lo que afecta la producción de ácido láctico y acético, el pH y la CB en los materiales ensilados (López 2008).

De igual forma se mostró una diferencia significativa ($p < 0,05$) al agregar melaza a los ensilajes ($87,37 \pm 4,95$ mEqNaOH.100gMS⁻¹), donde se obtuvo una CB mayor con respecto a los otros niveles de fuentes energéticas, con lo cual se puede deducir que la incorporación de suero de leche y de melaza aumenta la cantidad producida de ácidos orgánicos y la capacidad buffer en los materiales ensilados, debido a la concentración de acidez en el medio (Gutiérrez et al. 2003).

5.4.3 Nitrógeno amoniacal (% N-N total)

Los valores crecientes de las mezclas de melaza y suero de leche mostraron tendencias cuadráticas decrecientes, como se muestra en la figura 12, donde se observa un rango de datos mayores para la curva del tratamiento con EM[®] (1,58 a 2,27%) comparado con los datos de las curvas de las muestras sin inóculo (1,50 a 1,76%) y con inóculo comercial (1,49 a 1,93%). Según la clasificación mencionada en el cuadro 2, los datos obtenidos demuestran un adecuado proceso de fermentación.

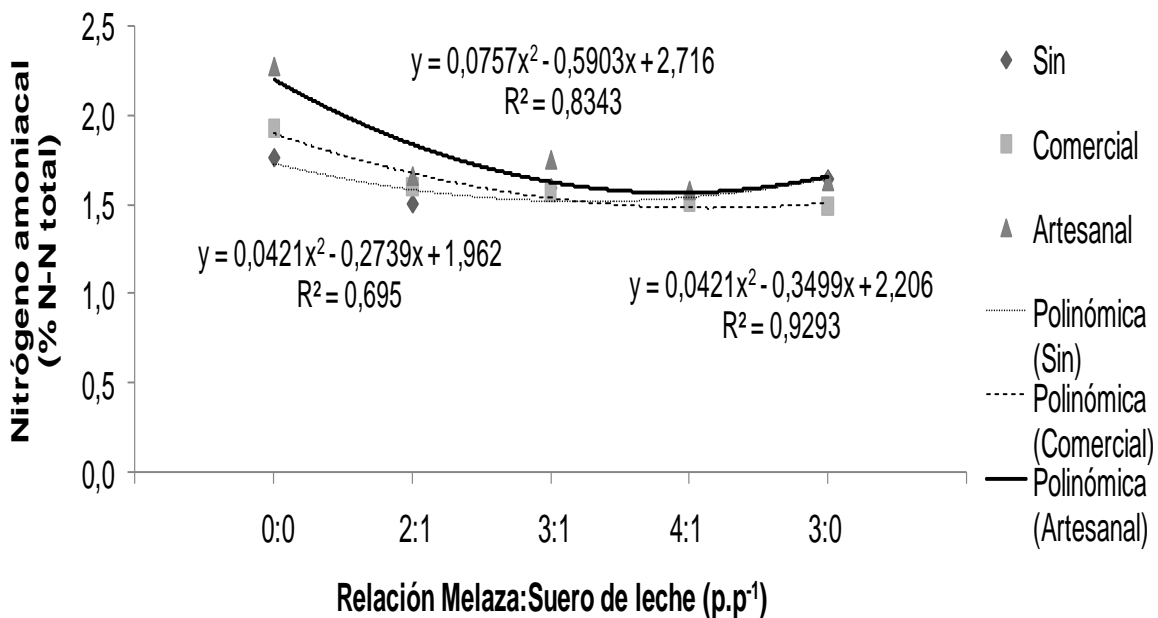


Figura 12. Valores de N-NH₃ de los ensilajes de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con o sin aditivos microbiales.

Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en los tratamientos con la interacción entre el inóculo microbioal pero sin fuentes energéticas, donde el agente comercial produjo un valor de 1,93% y el artesanal un 2,27% de NH₃-N total.

Asímismo, al comparar el efecto de los inóculos microbiales sobre los ensilajes de Estrella Africana se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) para el valor del inóculo artesanal (EM[®]) con un promedio mayor al resto de los tratamientos con un valor de $1,78 \pm 0,28\%$, lo que implica una mayor degradación de proteína con respecto a los demás tratamientos.

Se determinó un aumento significativo ($p < 0,05$) en la ausencia de aditivos energéticos ($1,99 \pm 0,26\%$), por lo que se concluye que la adición de carbohidratos disminuye la cantidad de proteína degradada por parte de los microorganismos, con lo que se deduce que la inclusión de melaza y suero de leche colaboran en la conservación de la proteína del forraje, debido a que los carbohidratos no estructurales son altamente fermentables, lo cual disminuye la proporción de proteínas degradadas durante el proceso de ensilaje.

5.5 Estimación del contenido energético del ensilaje de Estrella Africana con adición de melaza y mezclas de melaza y suero de leche, con y sin aditivos microbiales

Dentro de las variables estimadas se encuentran los contenidos de nutrientes digestibles totales (NDT), y la concentración energética en donde se especifica el contenido de energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta para mantenimiento (ENm), energía neta para ganancia de peso (ENg) y energía neta de lactancia (ENI), expresados en megacalorías por kilogramo de materia seca.

Como se mencionó, se llevó a cabo una preselección de los tratamientos a evaluar a partir de los niveles inferiores de pH, con lo que se desarrolló tres distintas posibilidades de trabajo según la inclusión de inóculo (sin inóculo, con inóculo comercial y con inóculo artesanal). Los resultados estimados de los

contenidos energéticos en base seca de los ensilajes de pasto Estrella se muestran en el cuadro 9.

Cuadro 9. Contenido energético estimado en base seca de los tratamientos después de la fermentación.

| Inóculo | NDT (%) | ED (Mcal.kg ⁻¹) | EM (Mcal.kg ⁻¹) | ENm (Mcal.kg ⁻¹) | ENg (Mcal.kg ⁻¹) | ENI (Mcal.kg ⁻¹) |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Ausente | 54,54 | 2,40 | 1,97 | 1,13 | 0,57 | 1,22 |
| | 57,27 | 2,53 | 2,07 | 1,22 | 0,65 | 1,28 |
| | 56,38 | 2,49 | 2,04 | 1,19 | 0,62 | 1,26 |
| | 56,74 | 2,50 | 2,05 | 1,20 | 0,64 | 1,27 |
| Promedio | 56,23^a±1,19 | 2,48^a±0,06 | 2,03^a±0,04 | 1,19^a±0,04 | 0,62^a±0,04 | 1,26^a±0,03 |
| Comercial | 56,02 | 2,47 | 2,03 | 1,18 | 0,61 | 1,25 |
| | 56,35 | 2,48 | 2,04 | 1,19 | 0,62 | 1,26 |
| | 56,31 | 2,48 | 2,04 | 1,19 | 0,62 | 1,26 |
| | 57,27 | 2,53 | 2,07 | 1,22 | 0,65 | 1,28 |
| Promedio | 56,49^a±0,54 | 2,49^a±0,03 | 2,05^a±0,02 | 1,20^a±0,02 | 0,63^a±0,02 | 1,26^a±0,01 |
| Artesanal | 53,01 | 2,34 | 1,92 | 1,07 | 0,52 | 1,18 |
| | 53,28 | 2,35 | 1,93 | 1,08 | 0,53 | 1,19 |
| | 51,79 | 2,28 | 1,87 | 1,03 | 0,48 | 1,15 |
| | 54,05 | 2,38 | 1,95 | 1,11 | 0,55 | 1,20 |
| Promedio | 53,03^b±0,94 | 2,34^b±0,04 | 1,92^b±0,03 | 1,07^b±0,03 | 0,52^b±0,03 | 1,18^b±0,02 |

^{a,b} Promedios en misma columna con distinta letra son significativamente diferentes (p<0,05).

Según los valores obtenidos se encontró una diferencia significativa (p<0,05) en la concentración energética para los tratamientos con inóculo artesanal, donde se denota niveles inferiores en los contenidos energéticos para los ensilajes de pasto Estrella, lo que coincide con lo planteado por Cubero (2008), donde concluye que la adición de inóculo artesanal, aún sea utilizado en dosis altas, no mejora los contenidos energéticos de los ensilajes.

Como se comentó anteriormente, los tratamientos con inóculo artesanal fueron los que obtuvieron mayores niveles de los componentes de la pared celular, lo que podría ser una causa para el resultado de las variables energéticas, ya que el contenido de la fibra tiene una correlación negativa con el contenido energético en

el forraje (Sánchez y Soto 1998), debido a que los componentes de la pared celular se relacionan con la digestibilidad del material (Cubero 2008).

Aunque no hay una variación significativa entre la ausencia de inóculo y el uso de inóculo comercial, se nota una leve mejoría por el uso del inóculo. El contenido de NDT para los tratamientos sin inóculo ($56,23 \pm 1,19\%$) posee un contenido promedio mayor que el obtenido por Sánchez y Soto (1999) para forrajes frescos como el pasto Estrella (53,8%) y el *Brachiaria ruzi* (53,7%), similar para el Kikuyo (56,7%), pero inferior según los ensilajes de rastrojo de piña informado por López (2008) con un valor de 59,0%.

De igual manera, los contenidos energéticos de los ensilados sin inóculo de la presente investigación se asemeja a los valores de forrajes tropicales frescos, donde el pasto Estrella presenta un valor promedio de $2,37 \text{ Mcal.kgMS}^{-1}$ de energía digestible, el pasto San Juan un valor de $2,40 \text{ Mcal.kgMS}^{-1}$ y el Kikuyo con $2,50 \text{ Mcal.kgMS}^{-1}$ (Sánchez y Soto 1999).

En general, los bajos contenidos energéticos de los ensilados podrían asociarse a que el material inicial contiene bajos niveles en sus características energéticas por su condición de gramíneas tropicales de calidad inferior. Por lo que dichos ensilados, así como el material antes de la fermentación, requieren de ser suplementados con una fuente que satisfaga las necesidades nutricionales de los animales y evitar efectos negativos en la productividad del ganado que sean alimentados con estos materiales.

6. CONCLUSIONES

En general, el ensilaje con los diversos tratamientos en estudio presentaron valores de pH inferiores a 5,0 y de N-NH₃ menores al 2,5% de nitrógeno total, indicadores de una fermentación adecuada.

Los resultados muestran que el uso de inóculo artesanal puede mejorar ciertas características nutricionales de los ensilajes, pero desfavorece la digestibilidad al aumentar los valores de los componentes de la pared celular, y la calidad del ensilado al aumentar los contenidos de las variables fermentativas.

La adición de mezclas de melaza y suero de leche permite obtener ensilajes bien conservados, que impactan de forma positiva sobre los valores de materia seca, proteína cruda, cenizas, FDN, FDA, DIVMS, pH y nitrógeno amoniacal con respecto a ensilajes sin aditivos energéticos, aunque en algunas variables no alcanza los valores de ensilajes con melaza como único aditivo energético.

Dentro de los 3 niveles de mezcla de melaza y suero de leche utilizados se observó una mejoría en los contenidos nutricionales y fermentativos cuando se incluía la mezcla en una relación de 4 a 1.

Los contenidos de EE no presentaron diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los diversos tratamientos, pero sí se notó un leve aumento luego del proceso de fermentación.

La DIVMS de los ensilajes de pasto Estrella se encuentran en un rango de 51,65 a 64,88%, donde dichos porcentajes corresponden a valores inferiores al compararse con los valores de las muestras antes de la fermentación.

En los ensilajes se obtuvo un aumento en la DIVMS conforme se incluyó fuentes energéticas, donde su valor más elevado lo obtuvo con la mezcla de melaza y suero de leche en la relación de 3 a 1 con $68,47 \pm 4,29\%$, además no se encontró diferencia significativa ($p>0,05$) con la inclusión de inóculo microbial.

Con respecto a los contenidos energéticos de los ensilajes de pasto Estrella se denota una disminución significativa al incluir inóculo artesanal, ya que estos mismos tratamientos fueron los que obtuvieron mayores niveles de los componentes de la pared celular, debido a la correlación negativa que existe entre ambas variables.

Tanto los materiales iniciales como los ensilados presentaron niveles energéticos dentro del rango de pastos tropicales, los cuales se les considera bajos por su condición de gramíneas de calidad inferior, por lo que se recomienda que al alimentar a los animales con dichos materiales, se opte por una suplementación energética.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST). 2000. 17th Ed. Washington D.C., USA. Official methods. 1015 p.
- BERNAL J., CHAVERRA H., ARCINIEGAS A., ACEVEDO G. 2005. Ensilaje, heno y henolaje: tipos, métodos y nuevas tecnologías. 2^{da} Ed. Angel Agro-Ideagro. Bogotá, Colombia. 165 p.
- BOSCHINI C., ELIZONDO J. 2003. Curso teórico y práctico de ensilaje de forrajes. Editorial de Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 69 p.
- BRITOS A., REPETTO J., GARCIARENA D., CAJARVILLE C. 2007. Efecto del suero de queso como aditivo de ensilajes de pastura sobre la conservación, los azúcares solubles y la producción de gas *in vitro*. Agrociencia XI (2): 72-77.
- CAMBRONERO I. 1996. Evaluación de la obtención de suero deshidratado a partir de suero de leche a nivel nacional. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 105 p.
- CARRILLO L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta. Buenos aires, Argentina.
- CHACÓN H. 1987. Determinación de los cambios físicos-químicos durante la fermentación del pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*) en microsilos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 72 p.

- CHAVES A. 1990. Evaluación de los parámetros fermentativos y nutricionales de la mezcla de pasto King grass (*Pennisetum purpureum*), la pulpa y fruto integral de pejibaye (*Bactris gaspass. HBK*), ensilados en microsilos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 136 p.
- CHAVES C. 2005. Calidad y consumo de mezclas de *Cratylia argentea* y sorgo forrajero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) con y sin melaza, ensiladas en bolsas plásticas. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 59 p.
- COBOS M. 1989. Técnicas de ensilaje y construcción de silos forrajeros. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación. Ficha: Sistemas de Agronegocios Pecuarios. En línea. Consultado el 21 de febrero, 2009. Disponible en www.sagarpa.gob.mx.
- CUBERO J. 2008. Comparación del efecto de inóculos comerciales y artesanales sobre el proceso fermentativo del ensilaje de maíz (*Zea mays*). Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 60 p.
- ESTRADA X., IBRAHIM M., CAMERO A., ABARCA S., HIDALGO C. 1998. Degradación ruminal de forrajes tropicales cuando se sustituye King Grass (*Pennisetum purpureum***Pennisetum typhoides*) por Morera (*Morus alba*). *Agroforestería en las Américas* 5 (17-18): 34-38.
- EVANGELISTA A., APARECIDA J., FERNANDES T. 2000. Avaliação de Algumas Características da Silagem de Gramínea Estrela Roxa (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst). *Revista Brasileira de Zootecnia* 29 (4): 941-946.

- FERNÁNDEZ R., CHÁVEZ M., VIRGÜEZ D., GARCIA M. 1991. Efecto de la frecuencia de corte sobre el rendimiento y valor nutritivo del pasto Estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en la unidad agroecológica 3E 144 del valle de Aroa. *Revista Zootecnia Tropical* 9 (2): 165-179.
- FERREIRA F., NUSSIO L., MALUF C., PRUDÊNCIO F., MICHELINI R., MARI L., DE ALMEIDA P. 2006. Características de fermentação e composição químico-bromatológica de silagens de capim-tifton 85 confeccionadas com cinco teores de matéria seca. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35 (1): 7-20.
- FRANCO L., HINCAPIÉ B., PETERS M., SCHMIDT A. 2003. Especies forrajeras multipropósito: opciones para productores de Centroamérica. CIAT. Cali, Colombia. 113 p.
- GIGER-REVERDIN S., DUVAUX-PONTER C., SAUVANT D., MARTIN O., NUNES DO PRADO I., MÜLLER R. 2002. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*. 96. 83-102 p.
- GUTIÉRREZ F., ROJAS A., DORMOND H., POORE M., WINGCHING R. 2003. Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. *Agronomía Costarricense* 27 (1): 79-89.
- HERNÁNDEZ D. 1968. Efectos de la melaza sobre el consumo y digestibilidad de raciones balanceadas para bovinos en el trópico. Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Cartago, Costa Rica. 56 p.
- JONES C., HEINRICHS A., ROTH G., ISHLER V. 2004. From harvest to feed: Understanding silage management. Pennsylvania State University. College of Agricultural Sciences. 2-11 p.

- LARA P. 1977. Diferentes niveles de melaza y urea en el ensilaje de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*, L.). Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Cartago, Costa Rica. 72 p.
- LEDESMA E. 1984. Efecto del suero de leche y su interacción con torta de soya sobre el crecimiento de cerdos alimentados con banano verde. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, Sede en Cartago, Costa Rica. 74 p.
- LICITRA G., HERNANDEZ T., VAN SOEST P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57 (4): 347-358.
- LÓPEZ M. 2008. Valoración nutricional de los rastrojos de piña (*Ananas comosus*) como una alternativa forrajera de bajo costo para la alimentación del ganado. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 106 p.
- MANNETJE L. 2001. Introducción a la conferencia sobre el uso del ensilaje en el trópico. Pp: 1-3. *In*: L. Mannelje Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. Estudios FAO: Producción y protección vegetal.
- McDONALD P. 1981. *The biochemistry of silage*. John Wiley & Sons. Chichester, University of Edinburgh. 226 p.
- MÉNDEZ M. 2000. *Aprendamos sobre ensilajes*. Instituto Nacional de Aprendizaje. San José, Costa Rica. 38 p.

- MONTAÑEZ D., 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.
- MÜHLBACH P. 2001. Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales. Pp: 157-171. *In: L. Mannelje Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. Estudios FAO: Producción y protección vegetal.*
- NILSSON V., SÁNCHEZ P., MANFREDI R. 2005. Hierbas y arbustos comunes en cafetales y otros cultivos. San José, Costa Rica. 270 p.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press. Washington, D.C. 408 p.
- OJEDA F., CÁCERES G., ESPERANCE M. 1991. Conservación de forrajes. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba. 80 p.
- ORSKOV E. 1990. Alimentación de los rumiantes: principios y práctica. Chalcombe Publications. Zaragoza, España. 119 p.
- PIONEER HI-BRED INTERNATIONAL. 1995. Pioneer forage manual: A nutritional guide. Iowa, U.S.A. 55 p.
- PEÑA R. 2001. Efecto de la capacidad tampón natural de la dieta en las variables de fermentación ruminal y concentración de protozoarios en ovinos. Tesis de Maestría en Ciencias. Montecillo, México. 65 p.
- PEÑA P., DEL POZO P. 1992. Explotación de pastos y forrajes. Tomo 11. ISCAH. La Habana, Cuba. 249 p.

- PERLA F. 1973. Crecimiento de novillas en pastoreo con diferentes disponibilidades de pasto y un concentrado líquido de melaza. Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Cartago, Costa Rica. 44 p.
- ROJAS A. 1985. Effect of rolled corn silage on digestion of nutrients and feedlots performance of growing steers. Tesis de Maestría. Iowa State University, Ames, Iowa, USA. 93 p.
- ROJAS A. 1999. Producción, costo y utilización de ensilajes en el ganado lechero. Seminario "Alimentación de la vaca lechera en el verano". UCR-ELANCO-DOS PINOS. San José, Costa Rica. 17 de febrero.
- RUÍZ S. 1978. Cambios en el rendimiento y valor nutritivo de los pastos Kikuyo (*Pennisetum purpureum*) y Estrella (*Cynodon nlemfluensis*) fertilizados, durante la época seca. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 99 p.
- SÁNCHEZ J. 2000. Nutrición energética del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical* 6 (1): 97-127.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1996. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. I. Materia seca y componentes celulares. *Nutrición Animal Tropical* 3 (1): 3-18.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1998. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. II. Componentes de la pared celular. *Nutrición Animal Tropical* 4 (1): 3-23.

- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1999. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. III. Energía para la producción de leche. *Nutrición Animal Tropical* 5 (1): 31-49.
- SAS. 2003. SAS 9.1.3 for Windows. Service Pack 4.Win_Pro plataforma. Copyright © 2002-2003 by SAS Institute Inc. Cary, N.C. USA.
- SILVEIRA E., FRANCO R. 2006. Conservación de forrajes: segunda parte. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. VII (11). En línea. Consultado el 23 de julio, 2010. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.
- TOBÍA C., VARGAS E. 2000. Inóculos bacterianos: una alternativa para mejorar el proceso fermentativo en los ensilajes tropicales. *Nutrición Animal Tropical* 6 (1): 129-143.
- VALENCIA J. 2008. El suero de quesería y sus posibles aplicaciones. *Mundo lácteo y cárnico* Marzo/Abril: 4-6.
- VALLEJO M., BENAVIDES J., ESQUIVEL J. 1994. Observaciones sobre el consumo de ensilajes de follaje de árboles y arbustos por cabras. *In* Benavides, J. (ed.). *Árboles y arbustos forrajeros en América Central*. Cartago, Costa Rica. CATIE 1 (Serie técnica, Informe técnico No. 236).
- VALLEJO M. 1995. Efecto del premarchitado y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales. Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Cartago, Costa Rica. 115 p.
- VAN SOEST P., ROBERTSON J., LEWIS A. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to

- Animal Nutrition. Symposium: Carbohydrate Methodology, Metabolism, and Nutritional Implications in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- VARGAS R. 1979. Determinación de la composición química y el valor nutritivo del pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*) ensilado en microsilos con tres niveles de melaza. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 105 p.
- VENDRAMINI J., DESOGAN A., SILVEIRA M., SOLLENBERGER L., QUEIROZ O., ANDERSON W. 2010. Nutritive value and fermentation parameters of warm-season grass silage. *The Professional Animal Scientist* 26 (2010): 193–200.
- VILLEGAS O. 1990. Producción y valor nutritivo de sorgos forrajeros y sus ensilados a diferentes edades de cosecha. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 85 p.
- WEISBJERG M., HVELPLUND T., BIBBY B. 1998. Hydrolysis and fermentation rate of glucose, sucrose and lactose in the rumen. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 48 (1): 12-18.
- WEISS W. 2004. Fine-tuning energy calculations. *Proceedings Tri-State Dairy Nutrition Conference*. Purdue University, Michigan State University, Ohio State University, United States. 170 p.
- WINGCHING R., ROJAS A. 2006. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. *Agronomía Costarricense* 30 (1): 87-100.

ANEXOS

Anexo 1. Composición nutricional en base seca de los diversos tratamientos ensilados de pasto Estrella Africana.

| Inóculo | Fuente de carbohidratos | | Variables Nutricionales | | | | | | | | Variables Fermentativas | | |
|-----------|-------------------------|-----------|-------------------------|------------------------|----------------------|-----------------|------------------------|------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|---|-------------------------|
| | Melaza (%) | Suero (%) | Materia Seca Total (%) | Proteína Cruda (%) | Cenizas (%) | Extracto Etéreo | FDN (%) | FDA (%) | Lignina (%) | DIVMS (%) | pH | Capacidad Buffer (mEqNaOH. 100gMS ⁻¹) | Nitrógeno amoniacal (%) |
| Ausente | 0 | 0 | 26,02 ^c | 11,47 ^{a,b,c} | 12,09 ^d | 1,96 | 63,93 ^{b,c,d} | 36,43 ^{b,c,d} | 3,88 ^{c,d} | 54,65 ^{e,f,g} | 4,74 ^{b,c} | 78,03 ^{c,d,e,f} | 1,76 ^c |
| | 3 | 0 | 28,74 ^a | 11,38 ^{b,c,d} | 12,20 ^{c,d} | 2,65 | 59,64 ^f | 33,82 ^g | 3,53 ^{d,e} | 62,76 ^{a,b} | 4,05 ^f | 81,67 ^{b,c,d} | 1,64 ^{c,d} |
| | 2 | 1 | 28,02 ^{a,b} | 11,41 ^{b,c,d} | 12,18 ^{c,d} | 2,72 | 62,03 ^e | 36,40 ^{b,c,d} | 3,11 ^{e,f} | 58,23 ^{c,d,e} | 4,13 ^{e,f} | 78,45 ^{c,d,e,f} | 1,50 ^d |
| | 2,25 | 0,75 | 28,34 ^{a,b} | 11,22 ^{c,d} | 11,72 ^e | 2,14 | 62,13 ^{d,e} | 35,86 ^{c,d,e} | 3,12 ^{e,f} | 56,31 ^{d,e,f} | 4,10 ^{e,f} | 75,03 ^{d,e,f} | 1,59 ^{c,d} |
| | 2,40 | 0,60 | 28,06 ^{a,b} | 11,50 ^{a,b,c} | 12,10 ^d | 2,40 | 61,78 ^e | 35,39 ^{d,e,f} | 2,87 ^f | 54,19 ^{e,f,g} | 4,11 ^{e,f} | 75,88 ^{d,e,f} | 1,53 ^d |
| Comercial | 0 | 0 | 25,98 ^c | 10,99 ^d | 12,21 ^{c,d} | 1,96 | 65,62 ^{a,b} | 37,42 ^b | 3,17 ^{e,f} | 51,65 ^g | 4,83 ^{a,b} | 79,95 ^{c,d,e} | 1,93 ^b |
| | 3 | 0 | 28,03 ^{a,b} | 11,25 ^{c,d} | 12,11 ^d | 2,31 | 63,13 ^{c,d,e} | 34,58 ^{f,g} | 2,77 ^f | 54,96 ^{e,f,g} | 4,24 ^e | 90,56 ^{a,b} | 1,49 ^d |
| | 2 | 1 | 28,16 ^{a,b} | 11,62 ^{a,b,c} | 11,86 ^{d,e} | 2,22 | 62,53 ^{d,e} | 35,21 ^{e,f} | 2,79 ^f | 53,89 ^{f,g} | 4,09 ^{e,f} | 69,86 ^{e,f} | 1,60 ^{c,d} |
| | 2,25 | 0,75 | 27,99 ^{a,b} | 11,58 ^{a,b,c} | 12,10 ^d | 2,19 | 62,05 ^e | 34,69 ^{f,g} | 2,88 ^f | 64,88 ^a | 4,09 ^{e,f} | 69,35 ^f | 1,57 ^d |
| | 2,40 | 0,60 | 28,13 ^{a,b} | 11,68 ^{a,b,c} | 12,49 ^{b,c} | 2,37 | 61,66 ^e | 34,30 ^{f,g} | 2,75 ^f | 60,69 ^{c,d} | 4,04 ^f | 74,65 ^{d,e,f} | 1,51 ^d |
| Artesanal | 0 | 0 | 25,75 ^c | 11,39 ^{b,c,d} | 12,58 ^b | 2,32 | 67,34 ^a | 38,69 ^a | 4,08 ^{b,c} | 52,05 ^g | 4,95 ^a | 86,48 ^{a,b,c} | 2,27 ^a |
| | 3 | 0 | 27,62 ^b | 11,64 ^{a,b,c} | 12,76 ^{a,b} | 2,36 | 61,80 ^e | 35,05 ^{e,f} | 4,42 ^{a,b} | 57,83 ^{c,d,e,f} | 4,21 ^e | 89,87 ^{a,b} | 1,63 ^{c,d} |
| | 2 | 1 | 26,21 ^c | 11,89 ^a | 12,67 ^{a,b} | 2,09 | 64,49 ^{b,c} | 36,20 ^{c,d,e} | 3,86 ^{c,d} | 57,40 ^{c,d,e,f} | 4,60 ^c | 92,79 ^a | 1,66 ^{c,d} |
| | 2,25 | 0,75 | 26,28 ^c | 11,66 ^{a,b,c} | 12,96 ^a | 1,89 | 65,64 ^{a,b} | 36,61 ^{b,c} | 4,21 ^{b,c} | 60,22 ^{b,c,d} | 4,60 ^c | 91,42 ^{a,b} | 1,75 ^c |
| | 2,40 | 0,60 | 26,24 ^c | 11,83 ^{a,b} | 12,73 ^{a,b} | 1,94 | 65,14 ^b | 36,01 ^{c,d,e} | 4,88 ^a | 63,51 ^{a,b} | 4,41 ^d | 95,44 ^a | 1,58 ^{c,d} |

a,b,c,d,e,f,g Promedios en misma columna con distinta letra son significativamente diferentes (p<0,05)