

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Evaluación de las propiedades fermentativas, nutricionales y el costo de elaboración de ensilajes de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Cratylia (*Cratylia argentea*) con niveles crecientes de inclusión de guineo cuadrado (*Musa sp*), para alimentación de rumiantes.

Eduardo Montero Durán

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

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2016

Esta tesis fue aceptada por la Comisión 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 en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Director de la tesis

Ing. Michael López Herrera, Lic.

Miembro del Tribunal

Ing. Augusto Rojas Bourrillon, M.Sc.

Miembro del Tribunal

Ing. Carlos Campos Granados, Lic.

Miembro del Tribunal

Ing. Rodolfo WingChing Jones, M.Sc.

Subdirectora de la Escuela

Ing. Catalina Salas Durán, Ph.D.

Sustentante

Eduardo Montero Durán.

DEDICATORIA

A mi familia y a Fernanda por siempre estar a mi lado y apoyarme en la realización de esta meta.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer al personal del Centro de Investigación en Nutrición Animal por el tiempo y la ayuda dedicada en la realización de los análisis, al señor Ernesto Briceño Arguedas por facilitarme las instalaciones de su finca para el trabajo de campo, a mi tutor Michael López Herrera por guiarme en este proceso, a la Escuela de Zootecnia, a los lectores y a amigos que de una u otra forma contribuyeron en la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EVALUADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1. Uso de leguminosas en la alimentación animal	4
2. Uso de musáceas en alimentación animal	6
3. Uso de subproductos agrícolas en el proceso de ensilaje	10
4. Proceso de ensilaje	11
4.1 Fases del ensilaje	12
4.2 Indicadores de calidad del ensilaje.....	15
4.3 Aditivos	16
OBJETIVOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
1. Ubicación	19
2. Procedimiento de elaboración de microsilos	19
3. Apertura de los silos y pruebas organolépticas	20
4. Análisis químicos y bromatológicos.....	20
5. Costo de elaboración de ensilados.....	21
6. Análisis de la información.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
1. Análisis de pruebas organolépticas	22
2. Calidad del proceso de conservación.....	23
a. <i>Materia seca (MS)</i>	24
b. <i>Potencial de hidrógeno (pH)</i>	25
c. <i>Nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH₃/NT)</i>	27
d. <i>Ácidos orgánicos</i>	28
3. Composición bromatológica.	32

a. <i>Fibra Detergente Neutro (FDN)</i>	32
b. <i>Fibra detergente Ácida (FDA) y lignina</i>	34
c. <i>Contenido de proteína cruda (PC)</i>	37
4. Contenido energético, energía neta de lactancia (ENL) y nutrientes digestibles Totales (NDT).....	38
5. Estimación del costo de elaboración de los ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.....	40
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	47
LITERATURA CITADA	48
ANEXO	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Características agronómicas de cinco leguminosas forrajeras utilizadas en Costa Rica.	5
2. Composición de dos frutos de musáceas en estado inmaduro.....	7
3. Composición nutricional del guineo cuadrado en estado inmaduro	9
4. Composición nutricional de cinco materiales que se utilizan en la alimentación animal.	10
5. Indicadores químicos para valorar la intensidad y calidad del proceso fermentativo en los ensilajes de leguminosas y maíz de alta humedad.....	16
6. Promedios obtenidos en el análisis organoléptico de ensilajes de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.....	22
7. Comparación de consumo de MS estimada de ensilados de forrajes tropicales utilizados en Costa Rica.....	34
8. Contenido energético de los ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.....	39
9. Desglose de costos para la elaboración de 1000 kg de material ensilado de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC).....	41
10. Costo total de producción de 1 kg de ensilado de Poró y Cratylia con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC).....	42
11. Comparación de costo de nutrientes de ensilajes de mezclas de leguminosas con guineo cuadrado y alimento balanceado para vaca lechera.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Variación del porcentaje de materia seca (MS) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	24
2. Variación del pH en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).	26
3. Variación del nitrógeno amoniacal del nitrógeno total (NH_3/NT) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	28
4. Contenido de ácidos orgánicos en las muestras de ensilados de Poró con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	29
5. Contenido de ácidos orgánicos en las muestras de ensilados de Cratylia con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	30
6. Variación de la fibra detergente neutro (FDN) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	33
7. Variación de la fibra detergente ácido (FDA) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	35
8. Variación de la lignina en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).	36
9. Variación de la proteína cruda (PC) como % de la MS en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).....	37

RESUMEN

Se determinó la composición química y nutricional de los ensilados de Poró y Cratylia con niveles crecientes de Guineo Cuadrado (GC) en estado inmaduro, para ampliar el conocimiento sobre materiales disponibles en finca con potencial para ser incluidos en las dietas de rumiantes en producción. El material fue ensilado mediante la técnica de microsilos con bolsas de plástico, donde se establecieron como variables la especie de leguminosa y el nivel de inclusión de GC como fuente de almidón, en un arreglo factorial de 4X2. Se evaluó la materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina, pH, Nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH₃/NT), ácido láctico (AL), ácido acético (AA), ácido butírico (AB), la energía neta de lactancia (ENL) y los nutrientes digestibles totales (NDT). El análisis organoléptico no mostró variación en el olor, color y textura obtenida en los ensilajes, considerados de mediana a buena calidad. Solo el tratamiento de Cratylia con 0 % de GC alcanzó el valor de MS recomendado (> 30%) por otro lado, los mejores tratamientos en cuanto a PC fueron para ambas leguminosas los que contenían 0% GC, con 16,66% para el ensilado de Poró y para la Cratylia se obtuvo un valor de 15,55 % de PC. Por otro lado, el mayor contenido de ENL se alcanzó en los ensilados con mayores contenidos de GC (1,92 Mcal por kg de MS) para ambas leguminosas. El pH no presentó variaciones a excepción de los tratamiento de Poró con 0% de GC y de Cratylia con 45% de GC, que resultaron ser los valores mínimo y máximo respectivamente y significativamente diferentes al resto de tratamientos, demostrando que los carbohidratos en forma de almidón provenientes del GC no participan en el proceso de fermentación. Se determinó mediante el cálculo de los costos de producción y mantenimiento de los cultivos y el de elaboración de los ensilados, que el uso de ensilados de leguminosas en asociación con GC representa una alternativa económica que puede ser incluida en sistemas productivos, con costos de producción iguales o menores a 37,09 colones por kg de material fresco.

INTRODUCCIÓN

Según datos de la FAO (2015), más de un billón de personas dependen del sector ganadero, este se encuentra conformado por productores con recursos limitados, que buscan reducir sus costos de producción. La alimentación de los animales representa en esta actividad el principal costo de producción (Rojas-Bourrillon 2006), de manera que se deben analizar las características de los materiales presentes en la finca en cuanto a su disponibilidad durante el año, el costo y su calidad.

Por lo tanto, generar información para el uso eficiente de las especies forrajeras y materiales útiles para la alimentación animal, es clave para incentivar el desarrollo del sector ganadero, tanto desde el aspecto social, al representar un aporte para reducir la pobreza de la población rural dependiente de explotaciones pecuarias (Chedly y Lee 2001), como para lograr que el sector pecuario nacional sea competitivo.

Siendo así, es necesario diseñar estrategias de alimentación con poca vulnerabilidad a las condiciones ambientales como los largos periodos de sequía o de lluvia, que aporten al sistema la cantidad y calidad suficiente de nutrimentos al mínimo costo (Tobía y Vargas 2000), sin embargo, las pasturas tropicales están dominadas por gramíneas (Birbe et ál. 2006), que en su mayoría se caracterizan por su baja digestibilidad y bajo contenido de energía, viéndose afectada la funcionalidad del rumen. Esto se evidencia en la baja productividad de los animales, especialmente durante los periodos de escasez (Sánchez y Ledin 2006).

Por lo anterior, es importante que se utilicen alternativas forrajeras que logren suplir los requerimientos nutricionales de los animales, una opción para mitigar este problema es la utilización de especies arbustivas y arbóreas, las cuales presentan una mayor digestibilidad en comparación a las especies de gramíneas (Shelton 2000) y se encuentran generalmente disponibles en las fincas.

A su vez las especies forrajeras arbustivas y arbóreas, por su alto contenido de proteína cruda (PC), representan una alternativa de suplemento proteico, que puede llenar los requerimientos nutricionales del ganado durante todo el año (Virgüez y Chacón 1997), utilizándose como forraje fresco o conservado en ensilaje, cuando las condiciones ambientales reducen la disponibilidad de las pasturas (Shelton 2000) o en el caso de

suplementos a base de granos, ya que su alto costo compromete la rentabilidad de la actividad productiva.

Así mismo, al conocer la deficiencia energética que presentan las gramíneas tropicales y el alto costo de alimentos balanceados, se deben considerar alternativas de suplementación que llenen los requerimientos energéticos, tanto para la producción de leche, como para la de carne, especialmente cuando la disponibilidad forrajera es baja (Mata y Herrera 1994), y esta suplementación debe ajustarse a la capacidad económica de los productores (Herrera 2002).

Además, estas especies pueden representar una medida de mitigación a los efectos negativos que se asocian con la actividad ganadera, como la deforestación, la reducción de los caudales de los ríos, erosión de los suelos y la pérdida de diversidad de los recursos vegetales y animales, que se generan por la eliminación de especies forestales para destinar el terreno a pasturas. Con el cultivo de estas especies se reforestan las zonas abiertas y se contribuye con la capacidad que tienen para fijar nitrógeno en el suelo (Gallego et ál. 2012).

Por tal razón, en la alimentación de rumiantes se ha recurrido al uso de residuos de la industria agrícola los cuales presentan altos contenidos de energía, como la cáscara de banano maduro, cáscara de piña y pulpa de cítricos provenientes de la producción de alimentos de consumo humano, además de las frutas que son descartadas por no cumplir con los requisitos del mercado (Herrera 2002). La utilización de estos materiales en los sistemas de alimentación, representa una solución al problema ambiental que podría generar su eliminación de las fincas productoras y plantas procesadoras.

El uso de plantas del género *Musa*, presenta gran versatilidad, ya que puede ser ofrecida la planta completa (tallos, hojas y fruto) (Dormond et ál. 2000; De la Cruz-Hernández y Gutiérrez-Fernández 2006). Además, Costa Rica tiene una amplia distribución y no presenta estacionalidad, de modo que, con un adecuado manejo, puede ser utilizada en cualquier momento del año (Izquierdo 2009). El fruto presenta alto contenido de carbohidratos en forma de almidones cuando no está maduro, conforme se da la maduración los carbohidratos son transformados a sacarosa y disminuye el contenido de taninos, fibra y nitrógeno (N) (Izquierdo 2009), razón por la cual puede ser utilizado como fuente de energía en raciones balanceadas de material fresco o conservado en ensilaje, en asociación con especies de leguminosas que mejoren el balance proteína-energía del material y así mantener los rendimientos productivos cuando la disponibilidad de las pasturas es baja,

incluso mejorar estos rendimientos, si se incluyen en el sistema de alimentación en todo el año (Barreto 2010).

Sin embargo, se deben analizar materiales como el guineo cuadrado (perteneciente al género *Musa*), el cual tiene gran importancia para el sector rural ya que se distribuye a nivel nacional. A diferencia del banano, las plantaciones pertenecen a pequeños productores y se encuentran en sistemas agroforestales o escalonados con otros cultivos (cacao, café, plátano) de forma orgánica o convencional, estos productos son destinados para la venta en el mercado nacional, para el consumo en el hogar o para ofrecerlo a los animales (Escobedo 2010). No obstante, no se tiene información del contenido nutricional, características fermentativas para el uso en ensilados o datos sobre la respuesta animal.

Estas razones describen la importancia de realizar la presente investigación, en la que se determinará el contenido nutricional, las características fermentativas, y el costo de elaboración de ensilajes de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Cratylia (*Cratylia argentea*) con la inclusión de guineo cuadrado (*Musa sp*) como fuente de energía, para alimentación de rumiantes.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Uso de leguminosas en la alimentación animal

Las leguminosas arbustivas y arbóreas se encuentran distribuidas a lo largo del territorio costarricense (Lobo y Días 2001), y dado que estas especies pueden ser utilizadas como recurso alimenticio, surgió el interés por generar conocimiento en cuanto a su manejo y potencial productivo, para utilizarlos en el desarrollo de sistemas alimenticios alternativos (Pérez et ál. 2005).

Las especies que se consideran para ser introducidas en los sistemas de alimentación de bovinos deben cumplir con características como: elevada producción de biomasa, una adecuada calidad nutricional con la consecuente respuesta animal, resistencia a podas frecuentes, facilidad de propagación y disponibilidad en la zona (Vallejos 1995).

En comparación con las gramíneas tropicales, las leguminosas poseen un valor nutricional mayor, en lo que respecta al nivel de proteína, digestibilidad y contenido de calcio (Ca), además, tienen la capacidad de fijar nitrógeno y mejorar la estructura física del suelo al incorporarle materia orgánica (Lobo y Días 2001). Sin embargo, su uso en ensilajes se ve limitado por su capacidad amortiguadora, debido a su alto valor de proteína cruda (Rojas-Bourrillon 1995).

No obstante, con el adecuado uso de aditivos es posible aprovechar las características nutricionales al utilizarlos en sistemas de alimentación como forrajes conservados (Mühlbach 2001). Tales características motivaron investigaciones sobre su potencial en asociaciones con otros materiales y el desarrollo de trabajos para probar leguminosas mejoradas en sistemas ganaderos (Lobo y Días 2001).

A partir de estas investigaciones se logró conocer las condiciones a las que se adaptan estas especies, al igual que algunas características nutricionales destacables entre las especies forrajeras. En el Cuadro 1 se presentan características agronómicas y de composición nutricional de cinco especies de leguminosas presentes en Costa Rica.

Cuadro 1. Características agronómicas de cinco leguminosas forrajeras utilizadas en Costa Rica.

Parámetro	Especie				
	Maní forrajero (<i>Arachis pintoï</i>)	Kudzú (<i>Pueraria phaseoloides</i>)	Leucaena (<i>Leucaena leucocephala</i>)	Cratylia (<i>Cratylia argentea</i>)	Poró (<i>Erytrina sp</i>)
*PC (%)	16-22	18-20	16-22	18-24	26
**DIVMS	63	55	65-87	55	65
Fijación de nitrógeno (Kg/ha/año)	150-180	130-150	100-150	150-200	166
Producción de biomasa (ton de MS/ha/año)	5-8	8-10	8-10	10-14	22
Tipo de crecimiento	Rastrero	Rastrero	Arbustivo	Arbustivo	Arbóreo

Adaptado de Lobo y Días (2001) y Escalante et ál. (1984). *Proteína cruda, **Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Dado que la gramínea más utilizada para ensilar es el maíz (Vélez et ál. 2012; Castillo et ál. 2009), porque se considera el producto de mejor calidad nutricional y fermentativa para su conservación (Holmann y Lascano 2001), es natural que existan estudios comparativos de las características nutricionales de este ensilaje con el producido con especies de leguminosas disponibles en la zona de estudio (Cuadro 1).

León y López (2009), no encontraron diferencias en las ganancias de peso en novillas de reemplazo al suplementar ensilaje de maíz o de caña de azúcar, ambos asociados con *Mucuna pruriens*, lo que indica que es posible obtener resultados similares a los reportados con el ensilaje de referencia (maíz), en cuanto a respuesta animal, si se utilizan materiales con mayor adaptabilidad a las condiciones de Costa Rica.

2. Uso de musáceas en alimentación animal

Las plantas de plátano, banano y guineo, con todas sus variedades, pertenecen al género *Musa* y son consideradas uno de los alimentos energéticos de mayor importancia a nivel mundial (Izquierdo 2009); las plantaciones en países tropicales alcanzan los 10 millones de hectáreas (ha), mismas que se encuentran principalmente en manos de pequeños productores (Martínez 2009).

En el caso del banano, al momento de la cosecha produce cerca de 15 kg de hojas, 50 kg de pseudotallo, 2 kg de raquis y 33 kg de fruto, lo que indica que alrededor del 75% del volumen total de producción en una planta que cumple con las especificaciones de exportación, no es aprovechada para el consumo humano. Lo que puede utilizarse como fuente forrajera para la alimentación animal (Izquierdo 2009).

Además, se reporta que en Costa Rica se producen 200.000 toneladas métricas (TM) de fruto de banano de rechazo por año, que se destina a la alimentación animal, lo que representa de 15 a 20% de la producción total, por lo que se considera un material de alta disponibilidad (Herrera 2002).

Por otro lado, al evaluar su comportamiento en la alimentación animal Nielson y Cook (1979), mencionan que según estudios realizados en Ecuador y la Universidad de Michigan State, no se observaron diferencias con respecto a la producción y la composición de la leche en vacas en pastoreo al utilizar alimento concentrado a base de banano verde en comparación con los alimentos que contenían maíz y trigo.

En cuanto a su composición, los frutos verdes de las musáceas contienen altos niveles de energía en forma de almidones, bajo contenido proteico (Garcés 2004) y un alto porcentaje de agua, característica que los hace voluminosos (Izquierdo 2009). En el Cuadro 2 se muestra la composición de dos especies de musáceas que se emplean en la alimentación de rumiantes.

Cuadro 2. Composición de dos frutos de musáceas en estado inmaduro.

Componente (% Materia seca)	Banano	Plátano
Humedad	80,0	66,0
PC	5,5	1,2
FC	1,3	0,5
Almidón	72,3	23,3
Cenizas	4,0	0,8
Taninos	7,4	0,3

Adaptado de Garcés (2004) y Garzón y Navas (2003)

PC: Proteína cruda

FC: Fibra cruda

En el caso del banano verde de rechazo, Herrera (2002) menciona que la degradabilidad ruminal de la materia seca (MS) es de 88,7 a 91,5%, con una tasa de digestión media de 8,5 horas, siendo menor que materias primas como semolina de arroz o afrecho de trigo.

Sin embargo, la inclusión superior al 19% de la MS de este material en dietas de ruminantes, genera depresión de su propia digestibilidad ruminal de la MS. Este trastorno se asocia con la capacidad de reducir el pH del contenido ruminal que tiene este material. Esta disminución en la degradabilidad es característica en fuentes de almidón y se ve reflejado tanto en un aumento del volumen excretado, como en la consistencia líquida de las heces (Pérez et ál. 1990).

El contenido de almidón en los frutos de las musáceas disminuye conforme avanza el proceso de maduración, transformándose en carbohidratos como sacarosa por procesos enzimáticos internos, en los que participan la alfa-amilasa, beta-amilasa y la almidón-fosforilasa (Buitrago y Escobar 2009). En comparación con los almidones que presentan una porción sobrepasante en rumen, la sacarosa se fermenta entre 97 y 100% en las primeras dos horas de ser consumido. Rojas-Bourrillon (1995) menciona que esta diferencia provoca una caída acentuada del pH ruminal, lo que conlleva a incrementar el tiempo de retención promedio del material en el retículo-rumen y un menor aprovechamiento de los componentes de la pared celular. Lo que indica que altos niveles de inclusión de musáceas maduras en la

dieta, provocarán una disminución del aprovechamiento de los forrajes altos en fibra (Herrera 2002).

Según Herrera (2002), se puede promover una degradación ruminal rápida, sí el nivel de consumo de banano verde no excede los 2 kg de material fresco por cada 100 kg de peso vivo (PV) o lo que equivale a un nivel de inclusión en la dieta de 2 % del PV. Obteniendo una respuesta eficiente a la suplementación con banano verde.

También, en el fruto verde de musáceas y en otras especies de forrajes como leguminosas existe una fracción de taninos que puede afectar el consumo de MS, esto se debe al efecto de astringencia, que se da por la formación de complejos al interactuar los taninos con las glicoproteínas de la saliva, por consiguiente la palatabilidad del material disminuye (Solano 1997). Este efecto de astringencia disminuye conforme avanza el proceso de maduración en el fruto, debido a que hay un cambio en la naturaleza de los taninos, los cuales se convierten de solubles a ligados, por tanto la mejora en palatabilidad no se debe a una disminución en su concentración de taninos, sino a un cambio de composición (Herrera 2002).

Por otro lado, al analizar la producción de biomasa de estas especies, con el objetivo de incluirlos de manera viable dentro de sistemas de alimentación para rumiantes, se menciona que para el caso del guineo cuadrado (*Musa sp*), el cultivo se establece de forma común a una densidad de siembra de 3 x 3 m, por lo que es posible obtener 1.111 plantas por ha. Además el tiempo entre la siembra, crecimiento y la producción del primer racimo de la planta madre es de 11 meses y a partir de este momento es posible cosechar un racimo cada 3 meses de las plantas hijas, con el potencial de realizar 4 cosechas al año, sin embargo, se estiman 3 cosechas al año contemplando las pérdidas, con un peso promedio por racimo de 30 kg (Zumbado 2015¹).

De esta forma es posible obtener rendimientos de materia fresca de 81 TM por ha, y al tomar en cuenta que el guineo cuadrado presenta 24% de MS en promedio, en una ha de terreno sembrada con esta especie se pueden producir 19,5 TM de MS por año. Aparte de conocer los rendimientos productivos de una especie forrajera que se puede utilizar en el sistema productivo, es de gran importancia también conocer su contenido nutricional, con el objetivo de ajustar su inclusión dentro de las raciones que se ofrecen a los animales.

¹Zumbado R. 2015. Comunicación personal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

En el Cuadro 3 se presenta el contenido nutricional del guineo cuadrado en estado inmaduro en donde se observa el potencial de utilización para sistemas de alimentación de bovinos, tanto para la producción de leche como para la de carne, ligada a su amplia distribución en el país y calidad nutricional.

Cuadro 3. Composición nutricional del guineo cuadrado en estado inmaduro

Nutriente	Valores
MS %	28,00
PC %	3,90
NDT %	80,40
EE %	1,50
FDN %	8,90
FDA %	5,70
CNF %	80,70
Cenizas %	5,00
ED Mcal/kg	3,54
EM Mcal/kg	2,91
ENm Mcal/kg	1,85
ENg Mcal/kg	1,31
ENI Mcal/kg	1,85

Rojas-Bourrillon (2015¹). MS: materia seca. PC: proteína cruda. NDT: nutrientes digestibles totales. EE: extracto etéreo. FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácida. CNF: carbohidratos no fibrosos. ED: energía digestible. EM: energía metabolizable. ENm: energía neta mantenimiento. ENg: energía neta gestación. ENI: energía neta lactancia.

Los altos contenidos de energía, hacen a esta musácea atractiva para introducirla al sistema de alimentación de una finca, sin embargo, su bajo contenido de proteína hacen que se requiera ajustar o balancear las dietas donde se incluya esta especie, como por ejemplo la asociación en ensilajes con aditivos que mejoren el contenido de PC o la inclusión de leguminosas forrajeras.

¹ Rojas-Bourrillon A. 2015. Comunicación personal. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

3. Uso de subproductos agrícolas en el proceso de ensilaje

En Costa Rica es común el uso de residuos de las industrias del banano, yuca, camote, piña, pejibaye, cítricos y otras frutas, como alternativa al uso de granos y cereales importados (Rojas-Bourrillon et ál. 1994), lo que representa una solución para el problema del bajo contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) y el alto contenido de componentes de pared celular de las gramíneas y leguminosas tropicales (Garcés et ál. 2004), en el Cuadro 4 se presenta la composición nutricional de algunas de estas especies.

Cuadro 4. Composición nutricional de cinco materiales que se utilizan en la alimentación animal.

Nutrimiento	Cáscara de piña	Fruto de pejibaye	Cáscara de banano maduro	Desechos de melón	Pulpa de cítricos fresca
MS %	8,0-9,8	45,0	11,3-13,4	4,1-6,2	15,4-24,2
PC %	6,3-6,6	5,0-6,5	8,2-10,4	11,5-17,6	6,9-7,7
EE %	1,2-1,4	10,8	5,7-8,5	6,6-6,9	1,7
FDN %	49,8-77,6	21,1-26,9	34,1	22,9	18,3-27,1
FDA %	18,9-26,1	5,8	22,6	17,1	10,5-24,6
CNF %	40,7*	68,1	45,9*	46,0*	57,7-72,4
NDT %	60,5	85,5	59,5	70,7-74,8	73,6-79,0
ED Mcal/kg	2,6	3,8	2,6	3,1-3,4	3,2
EM Mcal/kg	1,9	3,1	1,9-2,1	2,6	2,4
ENm Mcal/kg	1,2	2,1	1,2	1,6-1,7	1,5
ENg Mcal/kg	0,7	1,4	0,6-0,7	0,9-1,2	1,1
ENI Mcal/kg	1,2	1,9	1,2-1,3	1,6-1,7	1,5

Tomado y adaptado de Herrera (2002) y Rojas-Bourrillon (2005).

*Expresado como CSSND % = Carbohidratos solubles en solución neutro detergente.

Como se muestra en el Cuadro 4, estos materiales presentan altos contenidos de energía en forma de carbohidratos no fibrosos, según Rojas-Bourrillon (1995), altos consumos de estos materiales pueden generar que el aprovechamiento de materiales altos en fibra como las gramíneas se deprima, debido a que provocan una reducción del pH limitando la acción de los microorganismos ruminales degradadores de la fibra, mientras que

cuando utilizan leguminosas como fuente de fibra, este efecto no se presenta, debido a la capacidad amortiguadora de este tipo de forraje (Montañez et ál. 2006).

Es por esta razón que se han realizado investigaciones para determinar el efecto sobre la productividad cuando se utilizan este tipo de materiales; López et ál. (2009) simularon que los ensilados del rastrojo de piña con 20% de pulpa de cítricos deshidratada pueden cubrir los requerimientos energéticos de bovinos de 350 kg de peso vivo, donde se logran ganancias de 500 g por día y una producción de leche menor a 25 kg por día, con una concentración de 4% de grasa, en vacas de 450 kg de peso vivo.

Del mismo modo, los subproductos pueden ser utilizados en asociaciones con leguminosas para mejorar la respuesta de los animales, como ejemplo, Rojas-Bourrillon et ál. (1994) determinaron que la mejor mezcla en una asociación de Poró: pejibaye en ensilaje en cuanto a digestibilidad es de 40:60 y que la capacidad fermentativa mejora conforme disminuye la inclusión de Poró, lo que se traduce en menores pérdidas en el ensilado.

Sin embargo, los alimentos derivados de la industria agrícola presentan una serie de problemas, como: altos contenidos de agua, disponibilidad estacional, reducido tiempo antes del deterioro, además su utilización debe estar planificada de forma adecuada y su suministro debe ser en lo posible cerca de las áreas de producción, para que no se presenten problemas adicionales de transporte, almacenaje, manejo y distribución al ganado (INTA 2002).

4. Proceso de ensilaje

El ensilaje es una técnica para conservar forrajes frescos mediante la fermentación anaeróbica de los carbohidratos solubles (CHS), este proceso es realizado por las bacterias epifíticas facultativas de ácido láctico (BAL), donde además del ácido láctico se produce ácido acético en menor cantidad (Oude et ál. 2001), logrando un nivel de pH que inhiba la actividad de las enzimas de la planta y la proliferación de microorganismos responsables de la putrefacción del forraje, para evitar la pérdida de nutrientes del material (Ventura-Canseco et ál. 2012).

Con esta técnica, se permite minimizar los efectos que tienen sobre la producción las condiciones ambientales extremas como la lluvia o la sequía, intensificar la utilización del recurso forrajero, controlar el momento de corte y con esto asegurar el contenido nutricional

adecuado del material y aprovechar en periodos definidos forrajes que no son pastoreados (Wattiaux 2000).

Para que el proceso de ensilaje se realice de forma exitosa debe contar con un valor mínimo de CHS (entre 6-12% sobre la MS), también se requiere que el material tenga una reducida resistencia a las variaciones del pH o capacidad amortiguadora, que depende de la composición de la planta en cuanto a proteína cruda, iones como Ca, K, Na y la combinación de ácidos orgánicos (Mier 2009).

En caso de que se desee conservar forrajes o subproductos con características fermentativas deficientes se puede recurrir al uso de aditivos o la asociación con materiales con características que compensen estas deficiencias (Mühlbach 2001). Al cumplir con esto es posible ensilar pastos, cereales, leguminosas, subproductos y rastrojos de cultivos (Tobía y Vargas 2000).

4.1 Fases del ensilaje

Se debe determinar el momento en el que el material contiene la mejor calidad nutricional para conservar, posteriormente se realiza la recolección y el picado, a partir de este punto se inicia el proceso de ensilaje, mismo que consta de la etapa aeróbica y otra anaeróbica (Jiménez y Moreno 2000), sin embargo, para un mejor entendimiento de los procesos que ocurren dentro del ensilado, se puede dividir en cuatro fases que son: respiración, fermentación, fase estable y el deterioro aeróbico cuando se da la apertura del ensilado (Garcés et ál. 2004).

4.1.1 Fase 1. Aeróbica o respiración

Cuando el forraje es cosechado y empacado, al cerrar el ensilado queda oxígeno en el ensilado y se mantiene un pH de 6 - 6,5, los microorganismos aerobios y aerobios facultativos como bacterias y levaduras consumen oxígeno atrapado (Weinberg y Muck 1996), además los procesos enzimáticos de la planta continúan convirtiendo los azúcares en dióxido de carbono (CO₂), agua y calor. Por lo que se considera la respiración como una pérdida de MS y energía disponible.

Además, en ensilados con mayor presencia de aire al empacar (compactación deficiente), la temperatura es superior a la de ensilados con un mejor proceso de compactación (Wattiaux 2000). Esto es importante ya que temperaturas superiores a 32°C

pueden causar pérdidas de nutrientes. Esta fase dura pocas horas y las condiciones anaeróbicas se deben lograr en un tiempo reducido para que los procesos que requieran de oxígeno no continúe (Tobía y Vargas 2000).

En cuanto a los microorganismos que interfieren en el proceso fermentativo se encuentran las levaduras, que son microorganismos anaerobios facultativos y heterótrofos, las cuales son indeseables ya que bajo condiciones anaerobias fermentan los azúcares produciendo etanol y CO₂, y esto disminuye el azúcar disponible para producir ácido láctico (Oude et ál. 2001).

Las enterobacterias son organismos anaerobios facultativos, las cuales también son indeseables porque compiten con las BAL por los azúcares disponibles y degradan las proteínas, esto último causa una reducción del valor nutritivo del ensilaje (Garcés et ál. 2004).

4.1.2 Fase 2. Fermentación.

Cuando en el interior del ensilado se ha consumido el oxígeno las bacterias aeróbicas comienzan a disminuir (Wattiaux 2000) e inicia la actividad de las BAL convirtiéndose en la población predominante, siempre y cuando la fermentación se desarrolle con éxito. Este proceso dura varios días o semanas dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones ambientales en el momento del ensilaje (Garcés et ál. 2004). La producción de ácido láctico junto con otros ácidos provocará niveles de pH entre 3,8 y 5,0 (Oude et ál. 2001).

En esta fase, el ritmo y la magnitud de la disminución del pH, que depende de la población y actividad de las BAL sobre los CHS del material, determinará el grado de pérdida de nutrientes. Estas pérdidas en la calidad son causadas por la actividad de las enzimas de las plantas y de los microbios anaeróbicos (Weinberg y Muck 1996).

Un factor clave para la correcta elaboración de ensilajes tropicales es evitar que se dé la activación de bacterias del género *Clostridium*, que puede darse cuando el forraje es demasiado húmedo y cuando el pH no disminuye rápidamente (<4,6) esta situación puede causar que el ácido láctico se transforme en ácido butírico y los aminoácidos en amoníaco, este proceso se conoce como fermentación secundaria o clostridial y produce pérdida de MS y aumentos en el pH (Weinberg y Muck 1996).

Las esporas de esta bacteria se encuentran de forma natural en el forraje cosechado e inician su multiplicación y actividad tan pronto el ensilado presenta condiciones anaeróbicas. Sin embargo, una de las maneras de impedir el crecimiento clostridial es promover la fermentación láctica por medio de una alta concentración de BAL, que también se encuentran normalmente en el forraje. El ácido láctico formado por las BAL, incrementa la concentración de iones H^+ hasta valores que inhiben el desarrollo del *Clostridium* (Mc Donald 1981). Otro elemento de cuidado para lograr la inhibición del desarrollo clostridial es el contenido de MS, según Mc Donald (1981), con contenidos de MS de 20 % se promueven valores de pH menores a 4,00, que pueden prevenir la actividad clostridial.

4.1.3 Fase 3. Estable.

En esta fase ocurren pocos cambios siempre y cuando se impida la entrada de oxígeno en el ensilado (Weinberg y Muck 1996). Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas (Oude et ál. 2001). En esta y en la cuarta fase, la presencia de oxígeno perjudica la calidad del ensilado, ya que podría activar microorganismos aeróbicos como levaduras, bacterias de ácido acético, hongos y enterococos, lo cual produce calor y pérdidas de MS, disminuyendo el valor nutricional (Weinberg y Muck 1996).

4.1.4 Fase 4. Deterioro aeróbico.

Surge cuando el ensilado se expone al aire, este se deteriora debido a la reactivación de microorganismos aeróbicos, principalmente levaduras, mohos, bacilos y las bacterias del ácido acético (Weinberg y Muck 1996).

La cantidad de BAL que se encuentran presentes en el material, además de las condiciones fermentativas propias de las especies seleccionadas determinarán el tipo de fermentación se producirá, ya sea heterofermentativa o homofermentativa. La primera se da cuando las BAL degradan hexosas y pentosas generando ácido láctico, dióxido de carbono, ácido acético y etanol en cantidades equimolares. La homofermentativa se divide en dos procesos, en el primer proceso participan bacterias llamadas homofermentativas obligadas capaces de degradar hexosas pero no pentosas y producen ácido láctico, las cuales son más beneficiosas por su alta producción de ácido láctico.

Por otra parte se encuentran las homofermentativas facultativas que también producen ácido láctico degradando pentosas y hexosas, además de producir ácido acético y etanol (Jones et ál. 2004).

4.2 Indicadores de calidad del ensilaje.

El ensilaje tiene como objetivo principal mantener el valor nutritivo original del material, disminuir pérdidas de MS y evitar que se formen productos tóxicos que depriman la salud animal y perjudiquen la productividad del sistema (Betancourt et ál. 2005). Por esto es importante determinar el potencial del material fresco (Ruiz y Ruiz 1990) y posterior a esto se realiza la evaluación de la calidad del material ensilado mediante indicadores del proceso fermentativo como: medición de la MS, nitrógeno soluble y amoniacal, azúcares solubles residuales, ácido láctico, ácidos acético y butírico (de la Roza-Delgado 2005), además indicadores organolépticos como: color, olor, textura y humedad.

Los valores aceptables de los componentes e indicadores de calidad del ensilaje son determinados por distintas técnicas de laboratorio a lo largo de muchos años, por ejemplo Tobía y Vargas (2000) mencionan que es aceptable una pérdida en el valor de MS de 6-8%, mayor a esto se considera deficiente, de la misma forma establecen que en el indicador de nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH_3/NT) debe ser menor a 7% y mayor a 20% se considera de mala calidad. En el Cuadro 5 se muestra una comparación de los indicadores que se utilizan para valorar el proceso fermentativo, en ensilajes de leguminosas y de maíz que es considerado el ensilaje de referencia (Vélez et ál. 2012; Castillo et ál. 2009).

Cuadro 5. Indicadores químicos para valorar la intensidad y calidad del proceso fermentativo en los ensilajes de leguminosas y maíz de alta humedad.

Indicadores	Ensilaje de leguminosa (30-40% de MS)	Ensilaje de maíz de alta humedad (25-30%)
pH	4,3-4,7	4,0-4,5
Ácido acético, (% de MS)	2,0-3,0	0,5-2,0
Ácido propiónico (% de MS)	< 0,5	< 0,5
Acido butírico (% de MS)	< 0,5	< 0,1
Ácido láctico (% de MS)	7,0-8,0	0,0
NH₃ / N (% de la PC)	10,0-15,0	< 10,0

Tomado de Kung y Shaver (2001).
NH₃/N: nitrógeno amoniacal.

En el caso de obtener un producto ensilado con niveles deficientes se pueden esperar altos niveles de pérdida de material por putrefacción o formación de sustancias tóxicas, para reducir la posibilidad de que se presente esta situación se ha recurrido al uso de aditivos en el ensilaje (Mühlbach 2001).

4.3 Aditivos

Los aditivos se usan en el ensilaje para mejorar las características de las mezcla, por ejemplo, el caso de agregar urea a forrajes con altos contenidos de MS, puede mejorar el contenido de PC en el material final (Mühlbach 2001), también para reducir el tiempo en que disminuye el pH, con la consecuente preservación de los carbohidratos y proteínas del ensilado así como la inhibición de los microorganismos deterioradores del producto. (Ventura-Canseco et ál. 2012). Entre los aditivos que mejoran la fermentación láctica y promueven la disminución del pH se encuentran los inóculos bacterianos y la melaza.

4.3.1 Inóculos bacterianos

Contienen gran concentración de BAL, con la función de incrementar la población natural de BAL en los cultivos o materiales a ensilar, ayudando a que ocurra una rápida y eficiente fermentación dentro del ensilado, con función de inhibidores del deterioro aeróbico, incrementando la recuperación de la MS. Al emplear este tipo de aditivos, es notable su bajo costo, seguridad de manejo, no contamina el ambiente y su baja tasa de aplicación en el material a ensilar en comparación con otros tipos de aditivos (Tobía y Vargas 2000).

Entre los tipos de inóculos bacterianos se encuentran los microorganismos de montaña (MM), que son colonias de hongos, bacterias y levaduras que generan un efecto benéfico sobre el producto final del ensilaje, al asociarse con diferentes componentes que se encuentran en el ensilado (Suchini 2012). Estos microorganismos se encuentran en ecosistemas como plantaciones y bosques, teniendo como función degradar la materia orgánica para convertirla en los nutrientes que necesita el suelo para sustentar el desarrollo de las plantas (Campo-Martínez et ál. 2014).

4.3.2 *Melaza de caña*

La melaza de caña es un subproducto de la industria azucarera, al que se le ha sustraído el máximo de azúcar. El material residual es diluido con agua para disminuir sus grados Brix (Mata 2011). Presenta valores de MS de hasta 75% y es uno de los subproductos agrícolas de amplia utilización en la alimentación animal (Mühlbach 2001).

Según Ventura-Canseco et ál. (2012) la melaza aporta al ensilado carbohidratos de fácil degradación, mismos que son usados por las bacterias formadoras de ácido láctico, resultando en una reducción del pH y tal reducción favorece que los polisacáridos de las plantas ensiladas sean hidrolizados. Y para su aplicación directa es recomendable que sea diluida con agua, debido a su viscosidad puede dificultar su aplicación, teniendo en cuenta que al exceder la cantidad de agua pueden generarse pérdidas por escurrimiento (Mühlbach 2001).

OBJETIVOS

General:

Evaluar el contenido de nutrimentos, propiedades fermentativas y costo de diferentes mezclas de leguminosas con la adición de 4 niveles de guineo cuadrado como fuente energética en ensilajes, para crear una alternativa en la alimentación de rumiantes.

Específicos:

1. Determinar el contenido de nutrimentos de los ensilados de mezclas de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Cratylia (*Cratylia argentea*) con niveles crecientes de guineo cuadrado, que permita un adecuado aporte de nutrimentos para los animales.
2. Determinar las variables de fermentación en las mezclas ensiladas de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y Cratylia (*Cratylia argentea*) con niveles crecientes de guineo cuadrado, para lograr una adecuada conservación del material.
3. Determinar el fraccionamiento del componente energético de las mezclas ensiladas para evaluar su comportamiento en la alimentación animal.
4. Estimar el costo de elaboración de los ensilados a partir de los materiales evaluados, para analizar si las mezclas generadas retribuyen con nutrimentos suficientes la inversión realizada.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Ubicación

La cosecha de los materiales se realizó en la finca ganadera Vocaré, localizada en la provincia de Alajuela, cantón de Upala, en condiciones de bosque tropical húmedo (Solano y Villalobos 2001), con una temperatura promedio de 26°C, con una precipitación total media de 2400 mm/año (IMN 2013), dedicada al engorde de ganado bovino.

2. Procedimiento de elaboración de microsilos

Las especies forrajeras de Poró y Cratylia fueron cosechadas a 90 días de rebrote y el guineo cuadrado fue cosechado cuando el fruto se encontraba desarrollado, engrosado y no madurado; todas las especies se produjeron bajo normativa orgánica. Los materiales fueron picados con machete y se obtuvieron tamaños de partícula aproximado de 2,5 cm y posteriormente se mezcló el material de forma manual.

El diseño experimental se estableció mediante 4 tratamientos para cada especie de leguminosa, en donde se mezcló Poró con cuatro niveles crecientes de fruto inmaduro de guineo cuadrado (0%, 15%, 30% y 45% p/p) y Cratylia con cuatro niveles crecientes de fruto inmaduro de guineo cuadrado (0%, 15%, 30% y 45% p/p), en un arreglo factorial de 4 X 2, a cada uno de los tratamientos se adicionó un único nivel de melaza (5% p/p) y de inóculo bacterial a razón de 1 l/T de material. Para cada tratamiento se realizaron 4 repeticiones, para un total de 32 silos, los cuales se elaboraron mediante la técnica de microsilos, con bolsas de plástico transparente con capacidad para 5 kg de material, no se incluyó sello de sal en la área de cerrado de la bolsa.

La extracción del aire de los silos se realizó manualmente por medio de presión sobre las bolsas y se sellaron con cinta plástica adhesiva. Posterior al sellado los silos fueron transportados y almacenados en un laboratorio en San José, donde se mantuvieron aislados de las condiciones ambientales durante 42 días.

3. Apertura de los silos y pruebas organolépticas

Una vez transcurridos los 42 días se procedió a analizar la condición de las bolsas de los ensilados, luego de esto se abrieron y se les realizaron las pruebas organolépticas de acuerdo a los parámetros indicados por Elizondo-Salazar y Campos-Granados (2014), con modificaciones adecuadas a las especies ensiladas:

- Escala de olor: 4= Láctico, 3= Acético, 2= Butírico, 1= Fuerte olor a moho, 0= Fétido.
- Escala de color: 4= Verde intenso, 3= Verde olivo, 2= Verde oscuro, 1= Pardo, 0= Negro.
- Escala de textura: 4= Firme y consistente, 3= Consistente, 2= Medio, 1= Suave, 0= Mucílago (viscoso).

Donde:

4= Excelente calidad, 3= Buena calidad, 2= Regular calidad, 1= Mala calidad, 0= Pésima calidad.

4. Análisis químicos y bromatológicos

Las muestras fueron ingresadas en el laboratorio del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), donde se determinó a partir de extractos acuosos, la composición de ácidos grasos volátiles (AGV) (ácido láctico, ácido acético y ácido butírico), mediante cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) con la metodología descrita por Ewen (2011) según la norma EN 13037, utilizando una columna Hi-Plex H, de la marca Agilent.

Además se determinó el contenido de humedad en estufa a 60°C durante 48 horas y el de proteína cruda (PC) mediante el método de Kjeldahl, extracto etéreo (EE) y cenizas según AOAC (1998), el contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) se determinó de acuerdo a NRC (2001), la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina con la metodología descrita por Van Soest y Robertson (1985) y el nitrógeno ligado tanto a la FDN (N-FDN) como a la FDA (N-FDA), expresados como porcentaje de la materia seca según Chalupa y Sniffen (1996).

Adicionalmente se realizó la determinación del pH mediante la metodología de WHO (2003). El nitrógeno amoniacal se determinó mediante la metodología descrita por Tobía et ál. (2004). El contenido de NDT (Nutrientes digestibles totales) y de energía se estimó utilizando las ecuaciones propuestas por Addams et ál (1995).

5. Costo de elaboración de ensilados

Se estimó el costo de la elaboración de los ensilados utilizando la información proporcionada por el propietario de la finca, de acuerdo a la metodología que se emplea en la explotación. La información comprende el inóculo bacterial, el consumo de combustible y el costo de elaboración y aplicación de los fertilizantes orgánicos utilizados en la producción y mantenimiento del Poró, Cratylia y guineo cuadrado.

El rubro del pago de la mano de hora comprende el tiempo empleado por los colaboradores en las labores de fertilización, cosecha, acarreo y elaboración de los ensilados. Por otra parte, en el costo de la melaza y las bolsas, se utilizó el precio que tenía en el almacén agroveterinario Dos Pinos de Upala, Alajuela al momento en que se desarrolló la investigación.

6. Análisis de la información

El análisis de la información se realizó a través de un modelo ANOVA, para este fin se utilizó el programa InfoStat (Di Rienzo et ál. 2016), de acuerdo a la siguiente ecuación estadística.

$$y_{ijk} = \mu + L_i + G_j + (L*G)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

μ = Media poblacional

L= Efecto i-esimo del tipo de leguminosa

G= Efecto j-esimo del nivel de inclusión de guineo cuadrado

L*G= Efecto de la interacción del tipo de leguminosa y el nivel de inclusión de guineo cuadrado

E= Error experimental $E \sim (0, \sigma^2)$

Para la comparación entre medias de los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los resultados de las pruebas organolépticas se analizaron utilizando la prueba de Kruskal Wallis, para determinar si se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Kruskall y Wallis 1952).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Análisis de pruebas organolépticas

Al realizar la comparación de las pruebas organolépticas, se determinó que no existían diferencias significativas entre tratamientos para el caso de las observaciones del olor, donde se percibió un fuerte aroma láctico, con la leve presencia de olor acético y no se detectó olor butírico, lo que puede indicar que el proceso de conservación se realizó correctamente, obteniendo ensilados de buena calidad (Mier 2009). Por otro lado, al analizar el color, se determinó que el único tratamiento significativamente diferente fue el de Cratylia con 45% de GC, en donde se observó un oscurecimiento en GC, debido al proceso natural de oxidación de los compuestos fenólicos presentes en la fruta, que es catalizado por la enzima polifenol oxidasa (PPO) que produce quinonas, las cuales a su vez generan daño e incluso la muerte del tejido celular (Amiot et ál. 1996). En el resto de los tratamientos no se presentaron diferencias significativas, siendo uniforme el color en los ensilados, de forma independiente del porcentaje de inclusión del guineo cuadrado (GC).

En el Cuadro 6 se muestra los resultados del análisis de las características organolépticas, en donde se muestra que los ensilados se encontraron uniformes, con variaciones aisladas, sin evidenciar tendencias.

Cuadro 6. Promedios obtenidos en el análisis organoléptico de ensilajes de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.

Tratamiento	Escala color	Escala olor	Escala textura
Poró x GC 0 %	3,00 ^b	3,50	4,00 ^b
Poró x GC 15 %	3,00 ^b	3,50	4,00 ^b
Poró x GC 30 %	3,00 ^b	3,75	4,00 ^b
Poró x GC 45 %	3,00 ^b	3,50	3,00 ^a
Cratylia x GC 0 %	2,50 ^b	4,00	4,00 ^b
Cratylia x GC 15 %	3,00 ^b	3,25	4,00 ^b
Cratylia x GC 30 %	2,50 ^b	2,75	4,00 ^b
Cratylia x GC 45 %	2,00 ^a	3,00	4,00 ^b
Valor p	0,0081	0,1194	0,0001

Valores en la misma columna con letras diferentes son diferentes ($p < 0,05$)
Escala: 4= Excelente, 3= Bueno, 2= Regular, 1= Malo, 0= Pésimo

Como se muestra en el Cuadro 6, en el análisis de la textura se determinó que el tratamiento de Poró con 45 % de GC fue significativamente diferente a los demás tratamientos, con una textura consistente pero no firme, observándose mayor cantidad de lixiviado que en los otros tratamientos; esto se podría explicar por el mayor aporte de humedad proveniente del GC, al incrementar su porcentaje de inclusión, que además se vio reflejado en el contenido de MS para las muestras con mayor proporción de la musácea.

Sin embargo en los demás tratamientos el material se separaba sin dificultad y no se apreció ninguna aglomeración, con la excepción del material que se encontraba en la parte superior donde se cerró la bolsa, en donde se formó un hongo blanco en una pequeña área alrededor del nudo, lo cual se podría evitar con el uso del sello de sal, por otra parte, no se observaron masas jabonosas o amorfas, que pueden indicar un ensilado de mala calidad (Betancourt et ál. 2005).

Al utilizar bolsas plásticas para la elaboración de los microsilos, no hubo pérdida de efluentes, lo que explica la retención de humedad que mostraron los ensilados al momento de su apertura y al realizar las pruebas organolépticas. Según Betancourt et ál. (2005) lo anterior es indicativo de que se obtuvo ensilados de calidad regular, debido a que al presionar el material los efluentes escurrían. En el caso de emplear un método diferente de ensilaje, que permita la pérdida de humedad, se lograrían ensilados con mejores texturas y posiblemente con contenidos mayores de materia seca.

2. Calidad del proceso de conservación.

En el análisis de los indicadores de calidad fermentativa de los ensilajes de leguminosas con niveles crecientes de GC se obtuvo resultados uniformes, con pequeñas variaciones en el caso de la MS. A continuación se describen los resultados del análisis de los indicadores utilizados para determinar la calidad del material terminado, no se realizaron análisis del día 0, por lo que no se pudo determinar la calidad del proceso de conservación comparado con la calidad del material antes de ensilar, ni se determinó la capacidad amortiguadora porque no se contó con un parámetro inicial.

a. *Materia seca (MS)*

En el análisis estadístico, se cuantificó que la variable que determina las diferencias en el porcentaje de MS, es la interacción entre el tipo de leguminosa y el nivel de inclusión de GC ($p < 0,0001$) y que bajo las condiciones del estudio, el mejor tratamiento fue el de Cratyliya con 0 % de GC, además fue el único ensilado que se ajusta al valor de MS con bajo riesgo de fermentación clostridial ($>30\%$) (Kung y Shaver 2001), siendo significativamente diferente a la media de los demás tratamientos de Cratyliya. Además, del análisis se observa que los ensilados que tuvieron diferencias significativas fueron las que no incluían GC, en el caso del Poró la calidad en cuanto a MS mejoró significativamente al adicionar el GC en cualquier proporción, mientras que en los ensilados de Cratyliya, la adición del GC aportó humedad provocando una diferencia significativa en la calidad final del ensilado. Esto demuestra que en la zona donde se cosecharon las leguminosas, el Poró posee un menor contenido de MS que la Cratyliya a la misma edad de cosecha (90 días), acorde con lo indicado por Orozco (2005).

A pesar de lo anterior, las pruebas organolépticas evidenciaron (en apariencia) buena conservación del material, lo que indica que el proceso fermentativo correcto depende de múltiples factores, como la temperatura en el proceso fermentativo, la concentración de carbohidratos solubles, el tamaño de partícula, que afecta el proceso compactación y remoción de oxígeno (López 2008). En la Figura 1 se muestra el contenido de MS de los ensilados cuando se aumenta la inclusión de GC.

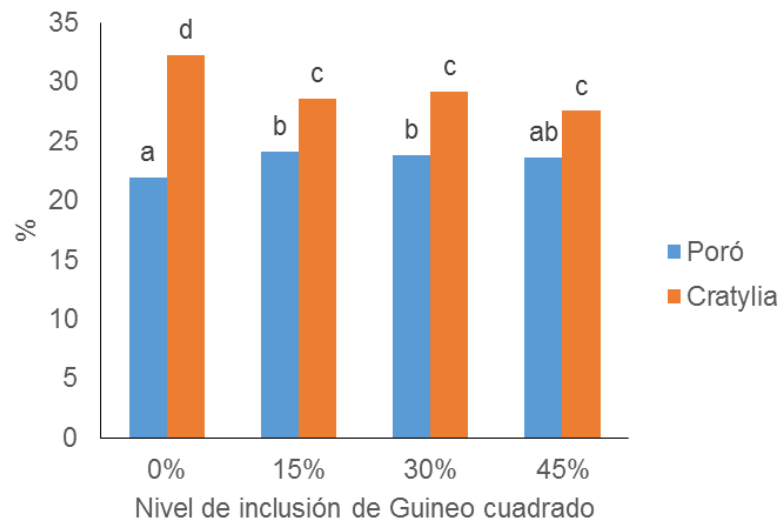


Figura 1. Variación del porcentaje de materia seca (MS) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

La Figura 1 muestra que en el caso del Poró, se obtiene una mayor cantidad de MS cuando se incrementa la inclusión de GC, resultado contrario en el caso de la Cratylia, lo que demuestra que la interacción entre los materiales va a ser determinante y condicionará la calidad respecto del parámetro de la MS (Oude et ál. 2001). En este sentido los valores de MS son importantes debido a que este indicador afecta el consumo voluntario (CV) del material, como menciona Ojeda (1988), el valor de MS en ensilados de especies tropicales explica el 61% de las variaciones en el CV, por lo que se puede concluir que conforme se aumenta la inclusión de GC en ensilados con Cratylia, el CV por parte de los animales irá disminuyendo, caso contrario para los ensilados de Poró, en donde se mejoraría el CV con la inclusión de GC.

Sin embargo, en el análisis estadístico no se evidencia un efecto directo de la inclusión del GC sobre el contenido de MS, debido a que se observaron diferencias significativas únicamente para el ensilado de Cratylia con 0% GC, que mostró un valor muy alto. Al compararlo con resultados como el de Pigurina (1992), que reporto para ensilados de maíz, maíz con sorgo forrajero y sorgo forrajero valores de 29,2%, 24,4% y 24,7% respectivamente, incluso en los ensilados de avena se reporta 27,3%. Mismos que se consideran ensilados de buena calidad nutricional y de fácil conservación (Noguer y Valles 2006).

b. Potencial de hidrógeno (pH)

En el análisis del pH se determinó que ningún tratamiento fue significativamente diferente para cada especie de leguminosa, a excepción de los ensilados de Poró 0% GC y Cratylia 45% GC. Incluso en los tratamientos con 0% GC no hubo diferencias en el pH, lo que podría indicar que los carbohidratos provenientes de la melaza empleada en el experimento (5% p/p) serían suficientes para asegurar la conservación y contrarrestar la capacidad amortiguadora de las leguminosas, lo que a su vez podría ser indicativo de que no se dio una excesiva proteólisis en el material (Mühlbach 2001; Woolford, 1984), además, es posible que los carbohidratos en forma de almidones provenientes del GC no participen en el proceso fermentativo (Jones 1988) a pesar de que no se realizó el análisis para determinar esta condición.

En la Figura 2 se muestra el comportamiento del pH con los diferentes tratamientos, que a pesar de no encontrarse diferencias significativas para la misma especie de leguminosa, se aprecia una tendencia provocada posiblemente por la capacidad amortiguadora de las leguminosas (Titterton y Bareeba 2001), debido a que conforme disminuye su contenido en la mezcla, el pH disminuye de igual forma. Esta tendencia se presentó con ambas leguminosas.

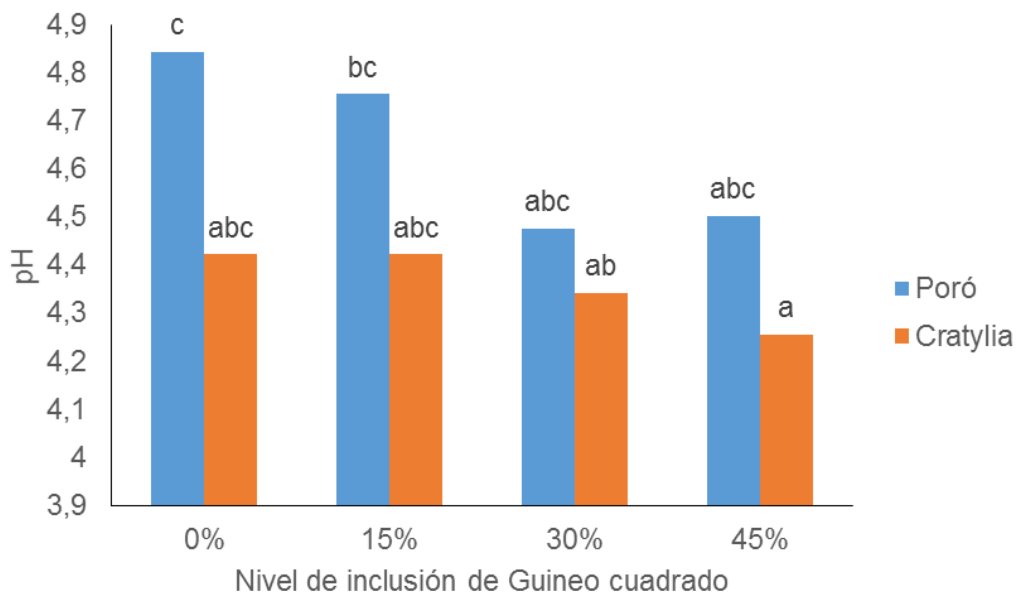


Figura 2. Variación del pH en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

Estos resultados también reflejan que, en el caso del pH de ensilajes de especies con altos contenidos de proteínas, como las leguminosas y materiales principalmente compuestos por carbohidratos en forma de almidón (como las musáceas verdes); la adición de melaza u otras fuentes de carbohidratos solubles es determinante para lograr la síntesis de ácidos y la consecuente disminución del pH (López 2008). El nivel de inclusión de melaza utilizado (5% p/p) posiblemente evitaría la proteólisis y la pérdida de calidad nutricional de los ensilados del presente estudio (Woolford 1984). Esta situación se refleja en el análisis estadístico, en donde no se presentaron diferencias significativas en los valores de pH a pesar de que la leguminosa y el GC cambiaban de proporción en los diferentes tratamientos, mientras que el nivel de melaza se mantuvo igual.

c. *Nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH_3/NT)*

Del análisis de varianza se concluye que la variabilidad en los resultados sobre el NH_3/NT se debe al tipo de leguminosa utilizada ($p < 0,0001$). Los ensilados de Poró contienen en promedio 5,6% de NH_3/NT y los de Cratylia 7,2%, porcentajes cercanos al valor crítico de <7% que caracteriza ensilajes de excelente calidad (Ojeda et ál. 1991). En la Figura 3 se muestra el comportamiento del NH_3/NT , con los diferentes niveles de inclusión de GC, en las dos especie de leguminosa utilizada.

Los menores porcentajes de NH_3/NT se deben probablemente a un nivel suficiente de inclusión de melaza en el presente estudio (5% p/p), la cual estimula la fermentación láctica reduciendo la actividad clostridial (Carpintero et ál. 1969), autores como Jiménez et ál. (2001) mencionan que la adición de 10% de melaza es suficiente para obtener un buen ensilado de Cratylia, lo que representaría un costo de elaboración mayor en 5 colones por kg de ensilado, según las condiciones del presente estudio. Por otro lado, los ensilajes de este estudio contienen NH_3/NT menores en comparación a los de avena y la mezcla de avena con trébol rojo (12,1% y 15,3% respectivamente) del estudio realizado por Pigurina (1992) y al de nacedero con 8,5% del estudio de Vallejo (1995).

Los valores obtenidos podrían ser un indicativo de que en los ensilados del presente estudio se dio una reducida degradación proteica y posiblemente una baja pérdida de MS del el material final (Carpintero et ál. 1969), sin embargo, esto solo se podría asegurar mediante la comparación de un análisis del día cero y con los resultados obtenidos en el material ensilado.

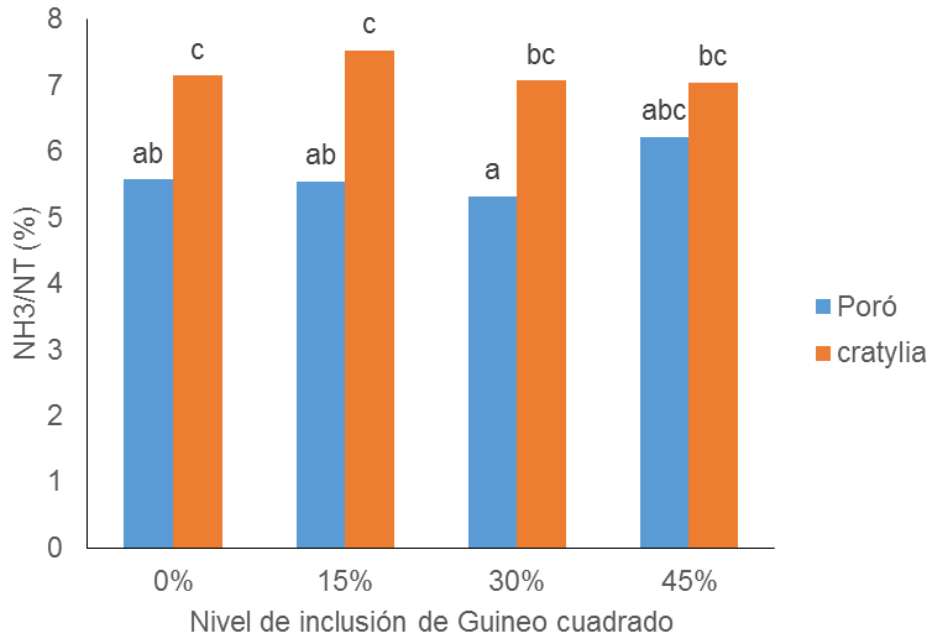


Figura 3. Variación del nitrógeno amoniacal del nitrógeno total (NH₃/NT) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

Como se muestra en la Figura 3 el porcentaje de NH₃/NT no presenta variaciones significativas entre los diferentes niveles de inclusión de GC. Se aprecia que la inclusión del GC no genera cambios significativos en el ensilado de ambas leguminosas. Además se observa que la mezcla con Poró contiene menor NH₃/NT que las de Cratylyia, como se mencionó anteriormente.

d. Ácidos orgánicos

En este estudio se analizan tres ácidos orgánicos; el ácido láctico (AL), el ácido acético (AA) y el ácido butírico (AB). El porcentaje de inclusión de GC solamente tuvo efecto significativo en el AA, donde se determinó que en los ensilados de Poró con 0% de GC y Cratylyia con 30% de GC tienen las medias más bajas de AA y son significativamente diferentes a las medias del resto de los tratamientos, sin embargo el ensilado de Cratylyia con 45% de GC que contiene la media más alta de AA, no es significativamente diferentes a las medias del resto de los tratamientos.

En los ensilados de Poró se observó una relación inversa entre los valores de AL con respecto a los valores de AA y AB, como se muestra en la Figura 4, se observa que la calidad fermentativa del ensilado disminuye conforme aumenta la inclusión de guineo cuadrado debido a su aporte de humedad, que genera en el ensilado un aumento en la metabolización de aminoácidos por la acción de las bacterias clostrídicas proteolíticas (Aguilera et ál.1992) y podría reflejar que no hay participación de los almidones provenientes del GC como fuente de azúcares en el proceso fermentativo (Rojas-Bourrillon 2016¹).

Además, en los ensilados de Poró, conforme se aumenta el contenido de GC, la concentración de carbohidratos solubles en el ensilado provenientes de la leguminosa disminuye, por otra parte, también podría aumentar la capacidad amortiguadora de los ensilados. Otra implicación del aumento en los valores de AA y AB es que proporcionalmente se disminuiría el CV de los animales (Ojeda 1988). Este aspecto debe ser analizado en el momento de decidir incluir en los sistemas de alimentación ensilados con altos contenidos de GC.

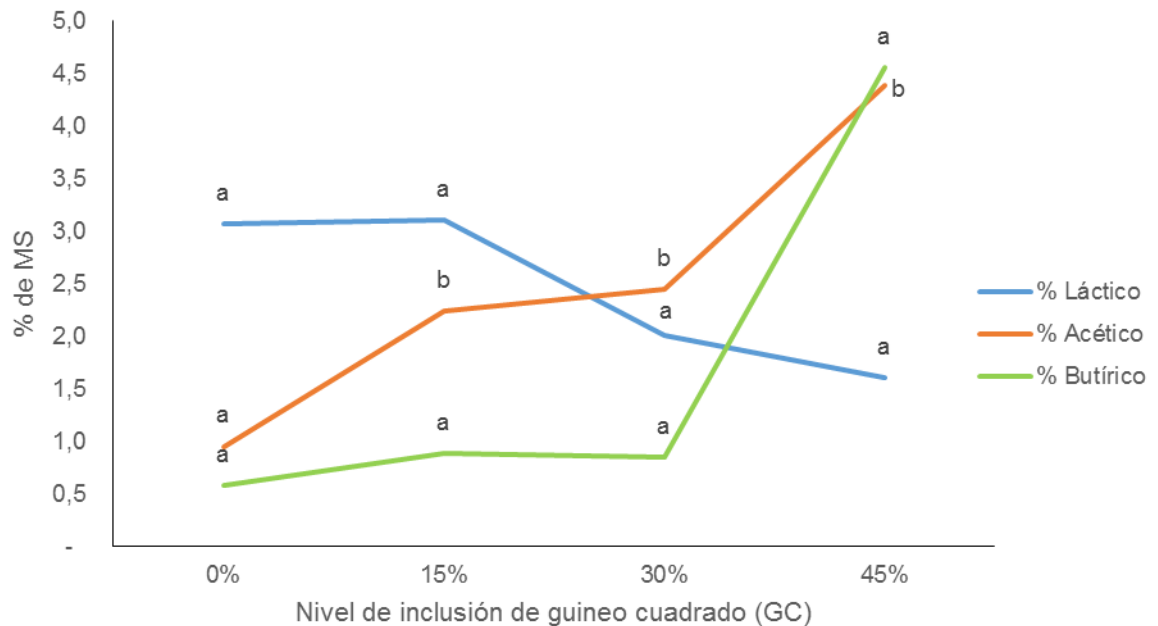


Figura 4. Contenido de ácidos orgánicos en las muestras de ensilados de Poró con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

¹Rojas-Bourrillon A. 2016. Comunicación personal. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

Por otro lado, al analizar los resultados del contenido de AL en los ensilados de Cratylia (Figura 5) y compararlos con los valores de pH (Figura 2) no se encuentra concordancia entre los resultados. Según Betancourt et ál. (2005), el AL aporta la mayor contribución en la disminución del pH al inducir un ambiente ácido. Este comportamiento en los ensilados de Cratylia se puede interpretar asumiendo que sí existió suficiente contenido de carbohidratos sin que se diera un ambiente adecuado para las BAL, provocando una baja población de estas bacterias (Muck 1988). Por otra parte, Sukhija y Palmquist (1988) señalan que el ácido láctico puede ser degradado a ácido acético y otras sustancias en condiciones anaeróbicas en presencia de microorganismos como *Lactobacillus buchneri*.

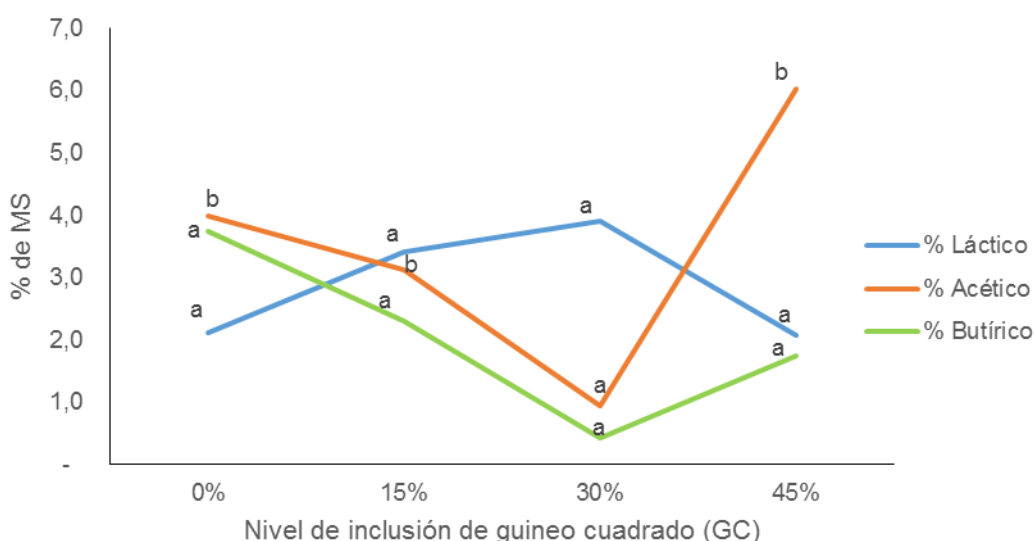


Figura 5. Contenido de ácidos orgánicos en las muestras de ensilados de Cratylia con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

Otra posible explicación de que los valores de los ácidos orgánicos no mostraran una tendencia normal para el caso de la Cratylia, es que en el material fresco sin ensilar existiera un contenido alto de AB, formando ensilajes clostridiales en las mezclas con mayores proporciones de Cratylia, restringiendo la formación de AL en el material final (Kung y Shaver 2001), por lo que al aumentar la inclusión de GC disminuiría la cantidad de AB dentro de la mezcla por efecto de dilución. Además Mattoo et ál. (1979) mencionan que naturalmente las musáceas presentan ácidos libres o ligados como el AA, ácido propiónico e isobutírico y estos aumentan con la maduración de la fruta. Al realizar una evaluación visual del material a cosechar donde se estableció que el GC estuviera desarrollado, engrosado y no madurado, sin embargo es posible que se utilizara material en un estado muy temprano de maduración

o pronto a iniciarse este proceso, explicando el marcado aumento que se da del nivel de inclusión de 30% al 45% en los ensilados de Cratylia.

Del mismo modo, sería poco probable pero no se debe descartar la posibilidad de que exista una interacción entre los componentes químicos de la Cratylia con los del GC cuando se mezclan en proporciones similares a las del estudio, que provoquen una maduración del material. También, el alto contenido de PC de la Cratylia fresca (Lobo y Días 2001), que además se observa en los contenidos de PC del ensilado de Cratylia con 0% de GC, podría generar un fuerte efecto amortiguador que logre mantener un nivel alto de pH en el ensilado, explicando el comportamiento observado en los ensilados con mayor proporción de la leguminosa, sin embargo, al no analizarse el proceso fermentativo en el tiempo no fue posible comprobar esta teoría. Por otro lado es posible que en las mezclas que muestran contenidos crecientes de AL favorezcan el desarrollo de BAL, explicando este comportamiento.

A pesar del comportamiento de los ácidos orgánicos en los ensilados de Cratylia, estos muestran niveles de AL que caracterizan ensilajes de buena calidad; donde el valor mínimo de AL es de 1,5% de la MS (Esperance et ál. 1981), todos los ensilados de este estudio presentan porcentajes de AL mayores al mínimo, por lo tanto de acuerdo a este parámetro los ensilados analizados se consideran de buena calidad.

Con respecto al AA, se establece que una concentración superior al 6% se considera de muy mala calidad (Ojeda et ál. 1991), en la Figura 5 se observa que el ensilado de Cratylia con 45% GC se encuentra por encima de este valor. Sin embargo, al analizar el pH en el que presenta 4,27, cercano al valor que indica un buen proceso de conservación (Kung y Shaver 2001) y el contenido de NH₃/NT (7,05), muy cercano al valor límite para ensilado de excelente calidad (Tobía y Vargas 2000), se aprecia que los parámetros para determinar la calidad no presentan interrelación.

Por otra parte, se consideran aceptables las concentraciones de AB por debajo de 0,1% y de muy mala calidad los ensilados que presenten valores superiores a 2% (Ojeda et ál. 2001; Betancourt 2003), en general los niveles de AB que muestran los ensilados del estudio presentan una calidad regular si se analiza este ácido orgánico ya que se encuentran entre 0,1% y 2%, a diferencia de los ensilajes de Poró con 45 % de GC y de Cratylia con 0 y 15% de GC que presentan valores superiores a 2% de AB. Según Tveit et al (1992) ensilados con altos niveles de humedad podrían generar cetosis tipo III en animales que lo

consuman, por medio de la absorción del AB por medio de las paredes del rumen y su transformación en ácido β -hidroxibutírico (Saborío 2012). Sin embargo, los ensilados que presentan los niveles más altos de AB no fueron los que presentaron los contenidos de MS más bajos, por lo que no se encontró una relación entre el nivel de humedad con el contenido de AB.

3. Composición bromatológica.

Para los valores de composición bromatológica, en cuanto a la FDN y la FDA se observó que conforme aumenta el nivel de inclusión de GC, ambos valores disminuyen ($p < 0,05$), comportamiento esperado debido al bajo contenido de fibra en las musáceas (Pérez et ál. 1990; López-Herrera y Rojas-Bourrillon 2014), dado que para el experimento se incluyó en la mezcla únicamente el fruto. Además se muestra un efecto de dilución en los valores de lignina, al observarse que en ensilados con menores contenidos de GC, estos valores fueron mayores, como indica Pérez et ál. (1990).

a. Fibra Detergente Neutro (FDN)

Del análisis de varianza se concluye que el factor que determina la variabilidad en los resultados, en cuanto a la FDN, es el nivel de inclusión de GC ($p < 0,0001$). Se observó que en ambas leguminosas, el tratamiento con 0%GC tiene la media más alta y que todos los tratamientos son significativamente diferentes. Consecuentemente, los tratamientos con mayor inclusión de GC obtuvieron los menores valores de fibra, lo que sugiere que al igual que el banano verde, el fruto de GC contiene bajos niveles de fibra (Pérez et ál. 1990), lo que concuerda con López-Herrera y Rojas-Bourrillon (2014), que reportan valores de 8,90% de FDN. Además, la participación de este componente de la pared celular en el proceso fermentativo como fuente de carbohidratos, puede explicar la disminución de su contenido en las mezclas ensiladas (McDonald 1981). Los tratamientos con menores contenidos de FDN (ensilados de Poró y Cratylia con niveles de inclusión de 30 y 45% de GC) tendrán un menor efecto de llenado en el animal y promoverán el consumo de MS, en comparación con los tratamientos que presentaron mayores niveles de FDN y otras fuentes forrajeras disponibles en el trópico (Rojas et ál. 1994).

Por otro lado, la utilización de los ensilados con los contenidos más altos de GC del presente estudio, en sistemas de alimentación de bovinos, como única fuente de forraje, podría representar un riesgo de generar acidosis en los animales. Cruz y Sánchez (2000)

mencionan que para mantener la salud ruminal y metabólica del ganado bovino de alta producción, es necesario ofrecer una ración total que contenga niveles mínimos de FDN de 25-28%.

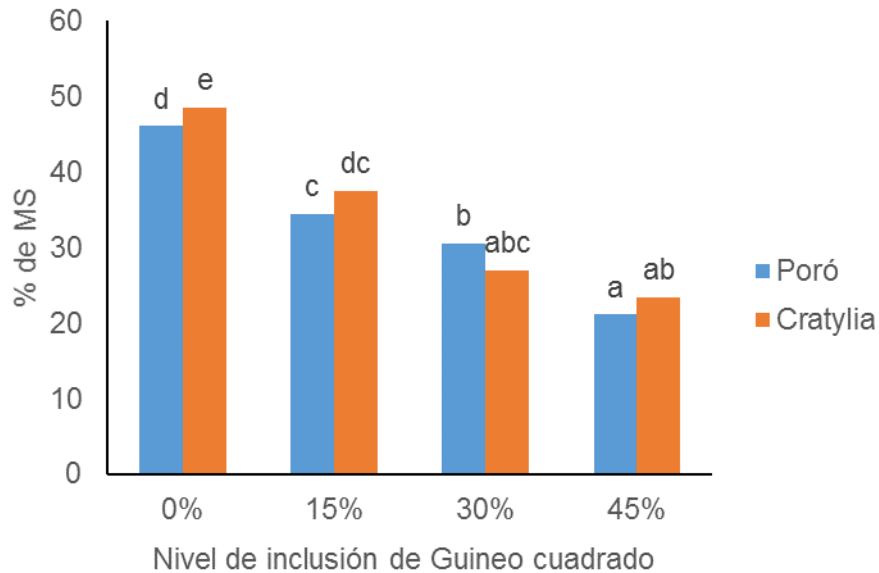


Figura 6. Variación de la fibra detergente neutro (FND) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

En la Figura 6 se muestra el comportamiento esperado, al aumentar el nivel de la musácea, con un bajo contenido de fibra (Pérez et ál. 1990; López-Herrera y Rojas-Bourrillon 2014), se disminuyen los contenidos de pared celular dentro del ensilado y se aprecia la tendencia hacia la baja conforme aumenta la inclusión de la musácea.

En el Cuadro 7 se presenta una estimación de consumo de MS de los ensilados que presentan mejores condiciones para asegurar la salud ruminal (Cruz y Sánchez 2000), utilizando la ecuación $120/\text{FND}$ propuesta por Belyea et ál. (1996), y se compara con otros tipos de ensilado de forrajes tropicales comúnmente utilizados en la alimentación de rumiantes en Costa Rica.

Cuadro 7. Comparación de consumo de MS estimada de ensilados de forrajes tropicales utilizados en Costa Rica.

	Estrella africana con 3% de melaza¹	Kikuyo con 4% de melaza²	Ensilaje de soya³	Ensilaje de maíz³	Ensilaje de Poró con 30% GC	Ensilaje de Cratylia con 30% GC
Contenido de FDN (%)	59,64	75,04	36,10	51,70	30,60	26,93
Consumo estimado de MS (% del PV)	2,01	1,60	3,33	2,32	3,92	4,45

¹Granados-Marín et ál. (2014), ²Boschini-Figueroa y Pineda-Cordero (2016), ³Tobia et ál. (2004). Consumo estimado, como % del peso vivo.

Como se observa en el Cuadro 8, los ensilados de este estudio presentan un contenido de FDN menor y por lo tanto un consumo estimado de MS mayor a los ensilados de estrella africana, kikuyo, soya y de maíz, siendo estos dos considerados como de buena calidad (Jiménez et ál. 2002). Incluso los ensilados de Poró y Cratylia sin inclusión de GC muestran un consumo estimado mayor (2,61 y 2,47% del PV, respectivamente) en comparación con los forrajes tropicales que presentan un consumo estimado de 1,7% con valores de FDN mayores a 70% (López 2008).

b. Fibra detergente Ácida (FDA) y lignina

Del análisis de varianza se concluye que el factor que determina la variabilidad en los resultados, en cuanto a la FDA, es el nivel de inclusión de GC. Además, el ensilado de Poró 45% de GC, y los de Cratylia con 45% y 30% de GC presentaron las medias más bajas y son significativamente diferentes a los demás tratamientos.

En las Figuras 7 y 8, se presenta una relación inversa entre los valores de FDA y lignina con el nivel de inclusión de GC. Lo que puede indicar que conforme se aumenta contenido de GC en la mezcla, la digestibilidad del material también aumenta. Debido a que la FDA y la lignina representan los componentes menos digestibles de la pared celular y son empleados de manera frecuente en la predicción de los contenidos energéticos y la digestibilidad de los forrajes, (Van Soest 1996).

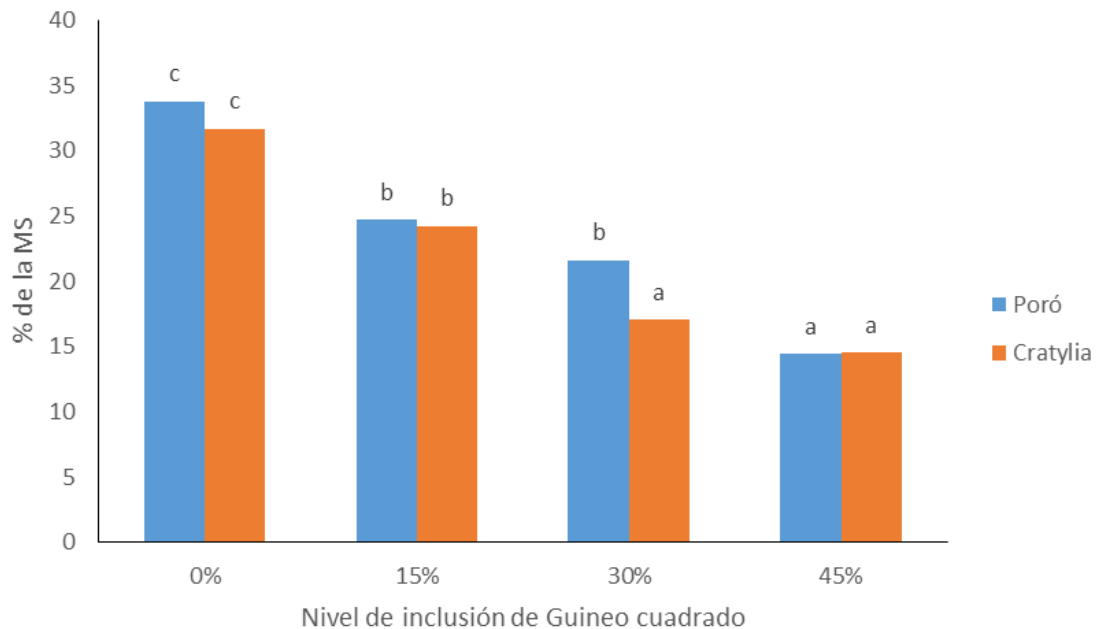


Figura 7. Variación de la fibra detergente ácido (FDA) en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

Se utilizó la ecuación ($\%DMS = 88,9 - (0,779 \times \%FDA)$) propuesta por Linn y Martin (1989) para calcular la digestibilidad de la materia seca (DMS) a partir de los valores máximos y mínimos de FDA de los ensilados analizados en el estudio. Donde se obtuvo para los ensilados de Poró con 0 y 45% de GC valores de DMS de 62,59 y 77,68%, respectivamente y para los ensilados de Cratylia con las mismas proporciones de GC, valores de 64,23 y 77,55% respectivamente. Al compararlos con los presentados por Flores et ál. (1998), que estimó la DMS del Poró y Cratylia sin ensilar en 54,30 y 51,9% respectivamente. Se aprecia que todos los tratamientos son mejores en cuanto a digestibilidad que en caso de materiales frescos. Además, se apreció que existe una relación inversa entre el contenido de FDA y la DMS estimada y que a medida que se aumenta la inclusión del GC en las mezcla se mejora proporcionalmente la digestibilidad del material.

Por su parte la lignina se caracteriza por presentar resistencia mecánica y proteger a los tejidos de los forrajes contra el ataque de los microorganismos ruminales (Rodríguez et ál. 2007). En comparación con las gramíneas, las leguminosas por su naturaleza contienen más lignina (Bach y Calsamiglia 2006). Esta condición justifica la disminución en el contenido de

lignina en los tratamientos con menor porcentaje de Poró y Cratylia, como se muestra en la Figura 8, donde se presenta un efecto de dilución conforme se aumenta el nivel de GC.

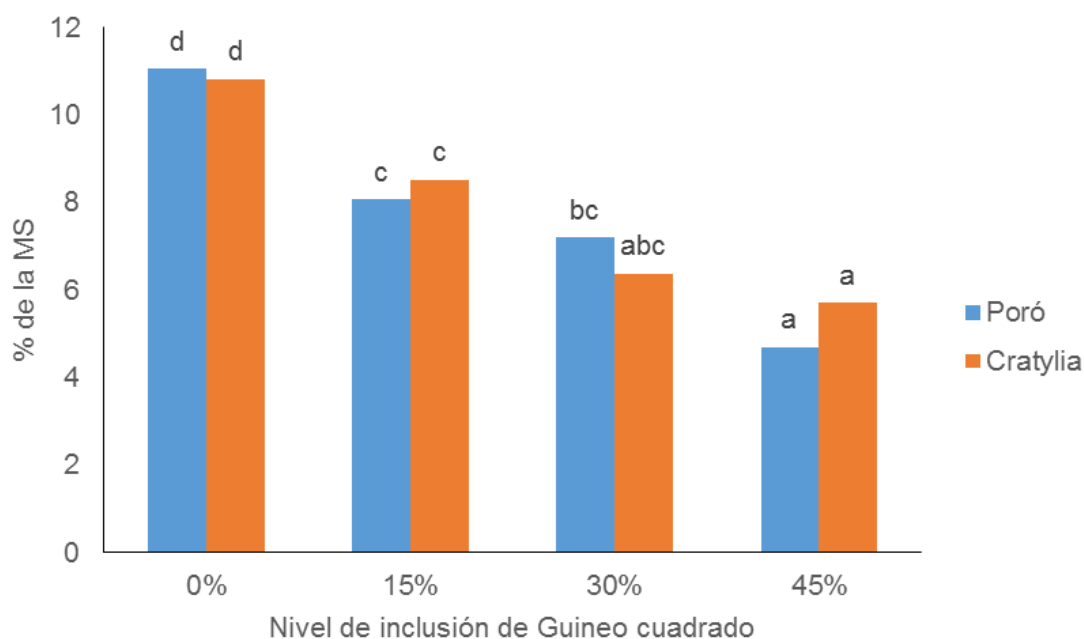


Figura 8. Variación de la lignina en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

Con el aumento de 15% en la inclusión del GC en las mezclas ensiladas se obtuvo en promedio una disminución de 24 y 19% en el contenido de lignina para los ensilados de Poró y Cratylia respectivamente, de lo que se concluye que la inclusión de GC mejora sustancialmente el aprovechamiento y la composición nutricional de los ensilados de forrajes tropicales. Lo anterior se debe al bajo contenido de fibra y el alto valor de carbohidratos no estructurales que presentan las musáceas (Pérez et ál. 1990).

c. *Contenido de proteína cruda (PC).*

Con el análisis de los datos se demostró que al incrementar el nivel de GC, los valores de PC disminuyen, siendo los ensilados con 0% de GC los que presentaron mejores valores de PC, se observó que la variable que determina las diferencias en el porcentaje de PC es la inclusión de GC ($p < 0,0001$) y que existen diferencias significativas en las medias. Por otro lado, se observa que el ensilado de Poró con 0%GC tiene la media más alta sin embargo no es significativamente diferente a los tratamientos 0%Cratylia, Poró con 15% GC ni al ensilado de Cratylia con 15% GC.

El bajo contenido de proteína del GC (Rojas-Bourrillon 2015¹) (3,90%) provoca un efecto de dilución, que reduce el promedio de este nutriente dentro de las mezclas conforme se aumenta el nivel de inclusión de la musácea, la tendencia obtenida se muestra en la Figura 9.

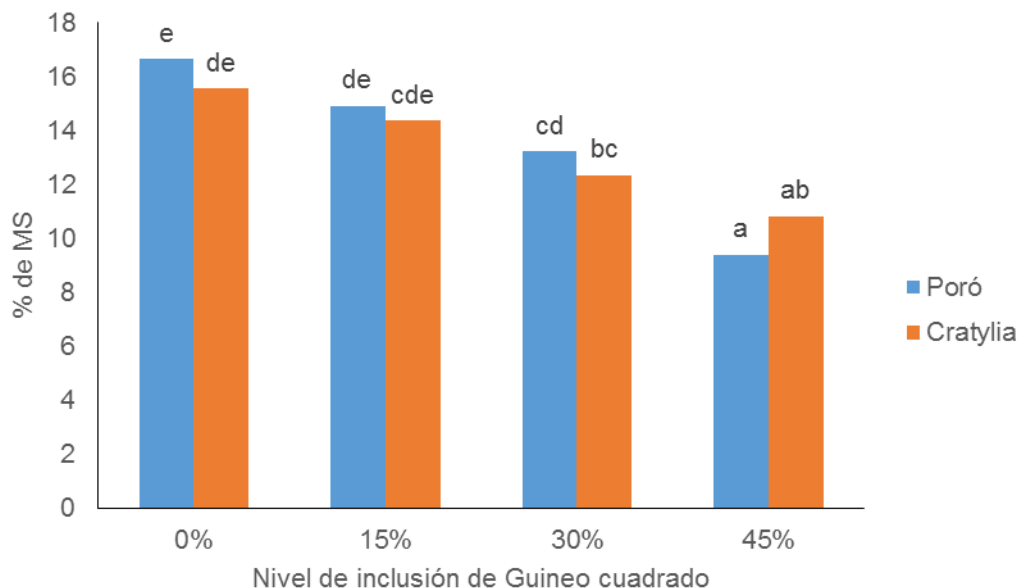


Figura 9. Variación de la proteína cruda (PC) como % de la MS en ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC) ($p < 0,05$).

En la Figura 9 se aprecia que la Cratylia presenta un comportamiento más estable en comparación con el Poró que mostró una importante disminución cuando la inclusión de GC llegó a 45%, a pesar de incluir los mismos niveles de GC, melaza e inóculo bacteriano, se presentó una marcada variación.

¹Rojas-Bourrillon A. 2015. Comunicación personal. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

Dicha diferencia en los comportamientos se debe, según Vallejo (1995), a las estructuras nitrogenadas propias de cada especie, entre las que se encuentran la proteína verdadera, ácidos nucleicos, las fracciones solubles y no solubles del nitrógeno no proteico que se asocia a la lignina.

En el caso del análisis de PC, el mejor tratamiento se obtuvo del ensilado de Poró sin GC (16,7%), sin embargo al compararlo con los resultados de Betancourt et ál. (2002) en ensilado de Leucaena, con valores de PC de entre 21,4 y 19,5% con el mismo nivel de inclusión de melaza (5%), se observa un valor bajo, incluso Vallejo (1995) que analizó especies como el Guácimo, la Amapola y el Nacedero obtuvo valores de PC de 19,2, 22,7 y 19,6% respectivamente.

Pese a esto, e incluso con el nivel más bajo de PC obtenido en los ensilados analizados (10,82 para el ensilado de Cratylia con 45% de GC) es superior al nivel crítico de PC (6-8%) que limitaría la función de los microorganismos ruminales (Del Curto et ál. 1999).

4. Contenido energético, energía neta de lactancia (ENL) y nutrientes digestibles totales (NDT)

El análisis de varianza indicó que la variabilidad en los resultados en cuanto a ENL, se debe al nivel de inclusión del GC ($p < 0,0001$), en el análisis comparativo se observa que el ensilado de Poró con 45% de GC tiene la media más alta y no es significativamente diferente a los tratamientos de Cratylia con 45% ni al de Cratylia con 30% de GC. Dichos resultados son esperados, debido al alto contenido energético presente en el GC (Rojas-Bourrillon 2015¹). Los mejores valores se obtuvieron en los ensilados de mayor contenido de GC, debido al alto contenido de almidones del material en estado inmaduro. Como se muestra en el Cuadro 8, los valores significativamente diferentes se encontraron en los ensilados de los extremos (0 y 45% de GC).

¹Rojas-Bourrillon A. 2015. Comunicación personal. Centro de Investigación en Nutrición Animal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

Cuadro 8. Contenido energético de los ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.

	Poró				Cratylia			
	% de Guineo cuadrado				% de Guineo cuadrado			
	0%	15%	30%	45%	0%	15%	30%	45%
ENL (Mcal/kg de MS)	1,41 ^a	1,65 ^b	1,73 ^{bc}	1,92 ^d	1,47 ^a	1,66 ^b	1,85 ^{cd}	1,92 ^d
NDT (% de MS)	62,55 ^a	72,28 ^b	75,54 ^{bc}	83,07 ^d	64,80 ^a	72,76 ^b	80,45 ^{cd}	83,26 ^d

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Al comparar los valores obtenidos para las mezclas de ambas leguminosas con 45% de GC, con el valor de 1,52 Mcal de ENL por kg de MS presentado por Cubero et ál. (2010) para ensilajes de maíz y el 1,40 Mcal obtenido por Castillo et ál. (2009) para ensilaje de maíz en asociación con Vigna, se observa que los ensilados del estudio mostraron un contenido energético superior de 21 y 27%, respectivamente. Incluso los ensilados en los que no se incluyó GC fueron superiores a los resultados de Castillo et ál. (2009). Lo que demuestra que contenido energético de los ensilados de leguminosas puede ser adecuado para incluirlos en sistemas de alimentación de bovinos.

Tobia et ál. (2004) determinaron que es posible sustituir el alimento balanceado en un 13,6%, sin afectar la producción de leche, ni el consumo de MS, generando una disminución de 7% en el costo de alimentación, lo anterior con ensilado de soya con contenidos estimados de 1,39 Mcal de ENL por kg de MS, que resulta más bajo que todos los valores que se obtuvieron para la mezclas analizadas.

Por su parte el NDT mostró el mismo comportamiento que el de la ENL, debido a que se utilizó la ecuación ligada a la ENL para la estimación del NDT, resultando en una correlación de 0,99 para las dos variables. Por tal motivo el análisis estadístico también mostró que los valores más altos de NDT se alcanzaron con los niveles de inclusión mayores de GC.

Sin embargo, un bovino adulto requiere para su mantenimiento alrededor de 56% de NDT y que esta cantidad se incrementa a 70-75% para la reproducción y la producción de leche (De la Vega 2010). Además, el ganado en engorde intensivo puede cubrir sus requerimientos con 65% de NDT y las crías desde el nacimiento hasta que alcanzan 75 Kg de peso vivo requieren de 75 a 85% de NDT (De la Vega 2010); al comparar esta

información con los valores obtenidos para la mezclas con 30 o 45 % de GC, se observa que se ajustan a estos requerimientos, a excepción de los ensilados con inclusiones de GC menores de 30%.

5. Estimación del costo de elaboración de los ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.

Al momento de la investigación el banco de Cratylia y el Poró eran fertilizados cada mes desde su establecimiento con una fórmula de aplicación foliar que contiene 3,78 L de melaza, 1 kg de harina de hueso elaborada en la finca, por medio de un horno artesanal y un molino de discos, 1 kg de polvo de piedra como aporte de minerales, 50 kg de estiércol colectado en la finca y se completan 200 L con solución de inoculo bacterial. Además, se aplican anualmente 1150 kg de compost, con un costo de 25.000 colones (¢).

La labor de fertilización se realiza en 3 horas contando desde la preparación del fertilizante orgánico hasta el final de la aplicación, utilizando 2 personas para realizar el trabajo. Además se emplea una bamba de aspersion acoplada a un tractor, cuyo consumo de combustible diésel es de 12,74 L con un costo por L de ¢477,00 (precio de venta al día al 07 de agosto de 2015) (RECOPE 2015). Por lo tanto el costo total de la fertilización es de 92.632,33 colones por cosecha, en donde el periodo de rebrote comprende 3 meses.

Por su parte, el GC es fertilizado a la siembra con 200 g de bocashi y 200 g de compost, mismos que son elaborados en la finca con un valor de 500 y 55 colones respectivamente. Posterior a esto se fertiliza 2 veces por mes los primeros 4 meses con 1 L de la solución fertilizante antes descrita, además se adicionan 500 g de compost por planta después de los 3 meses hasta el momento de su cosecha que se estima entre 8 y 9 meses, lo que representa un costo de fertilización de ¢294,24 por planta.

La cosecha de las leguminosas se realiza de manera manual con machete, en donde se colectan 500 kg de material por jornal (6 horas). Para el cálculo se estableció en ¢1.000,00 el costo de la hora de mano de obra, basado en el pago que se realiza en la zona al momento de la investigación.

Cuadro 9. Desglose de costos para la elaboración de 1000 kg de material ensilado de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC).

Detalle	Costo colones (¢)
Insumos	
Melaza	5.000,00
Inoculo bacterial	8,30
Uso de maquinaria para fertilización (Combustible)	4.998,41
Bolsas de ensilado	3.630,00
Mano de obra	
Corte	12.000,00
Acarreo	2.000,00
Picado y compactación	8.000,00
Material fresco para ensilar	
Poró + 0 % GC	887,83
Poró + 15 % GC	924,82
Poró + 30 % GC	961,81
Poró + 45 % GC	998,80
Cratylia + 0 % GC	1.454,32
Cratylia + 15 % GC	1.401,77
Cratylia + 30 % GC	1.349,22
Cratylia + 45 % GC	1.296,67

*Tipo de cambio \$1 = ¢543,61 (BCCR 2016).

En base en los costos de los insumos utilizados en la elaboración de los ensilados (Cuadro 9) se estimó el costo de producción para los diferentes tipos de ensilados del estudio, como se muestra en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Costo total de producción de 1 kg de ensilado de Poró y Cratylia con niveles crecientes de guineo cuadrado (GC).

Costo	0% GC		15% GC		30% GC		45% GC	
	Poró	Cratylia	Poró	Cratylia	Poró	Cratylia	Poró	Cratylia
Kg MF (¢)	36,52	37,09	36,56	37,04	36,60	36,99	36,64	36,93
Kg MS (¢)	113,32	168,75	127,84	153,43	125,47	155,34	132,98	156,23

Tipo de cambio \$1 = ¢543,61 (BCCR 2016).

MF: Materia fresca.

MS: Materia seca.

En el Cuadro 10 se observa que el costo de producción de los ensilados se encuentra entre 36,60 y 37,09 colones y en promedio 36,80 colones, lo cual representa un costo 54% menor en comparación al ensilado de maíz producido en Costa Rica, el cual tiene un costo de ¢68,11 por kg de MF según el estudio de Villalobos-Villalobos et ál. (2015). Con la intención de conocer y comparar el costo de los nutrientes de los ensilajes analizados en el estudio, con el alimento balanceado de venta en el país, se presenta el Cuadro 11 donde se resumen los resultados.

Cuadro 11. Comparación de costo de nutrientes de ensilajes de mezclas de leguminosas con guineo cuadrado y alimento balanceado para vaca lechera.

Material	Inclusión de GC	Costo kg de MS (¢)	Costo g de PC (¢)	Costo de Mcal de ENL (¢)
Poró	0 %	166,21	1,07	117,66
	15 %	151,46	1,06	91,75
	30 %	153,74	1,24	88,84
	45 %	154,99	1,43	80,73
Cratylia	0 %	115,07	0,69	78,41
	15 %	129,51	0,87	77,89
	30 %	126,79	0,96	68,50
	45 %	134,06	1,43	70,00
Vapfeed® (16 % PC)		263,39	1,65	142,37

Tipo de cambio \$1 = ¢543,61 (BCCR 2016).

La comparación anterior muestra que el costo de los nutrientes provenientes de los ensilajes es considerablemente menor que los que se pueden obtener a partir del alimento balanceado de referencia (VapFeed®), elaborado y distribuido por la Cooperativa de

Productores de Leche Dos Pinos R.L. consultado el 17 de abril de 2016 en el almacén Agro Veterinario Dos Pinos de San José (Viquez 2016¹).

Siendo el ensilado de Poró con 0% de GC en el que se estimó un mayor costo del kg de MS y la Mcal de energía (ENL), sin embargo, su costo es 37 % y 17% respectivamente, menor que el del alimento balanceado. El costo más alto en la producción del ensilado de Cratylia en comparación con los de Poró, se debe a que, a pesar de que todos los resultados de MS de los ensilados de Cratylia fueron mayores que los obtenidos para los ensilados de Poró, se estima una menor producción de MS/ha/año en la producción de Cratylia (Lobo y Días 2001).

En todos los niveles de inclusión de GC, los ensilados de Poró resultaron más baratos de elaborar, siendo el ensilado de Poró con 0% el de menor costo; sin embargo, por su menor contenido de MS en comparación con los ensilados de Cratylia, los nutrientes resultan más caros, por lo que se debe analizar que para obtener los 1.169 g de PC para una ganancia diaria de 300 g por día de una de raza pequeña, de 450 kg de peso vivo y con un consumo de MS estimado de 10,5 kg (NRC 2001), es necesario ofrecer 34,2 kg de material fresco de este ensilado con un costo de ₡1.249,5. Mientras que en el caso del ensilado de Cratylia con 0% de GC se debe ofrecer 21,8 kg de ensilado fresco con un costo de ₡807,3, por su parte el VapFeed®, cubriría el mismo requerimiento con 8,4 kg y un costo de ₡1.924,9. Siendo la alternativa de alimentación con ensilado de Cratylia apenas 42% del costo de la alimentación a base de alimentos balanceados.

Mismo caso para llenar los requerimientos de ENL para vacas con una producción de 20 kg de leche por día, de raza pequeña y con un 4% de grasa en leche, con un requerimiento de ENL de 22,7 Mcal diaria (NRC 2001). Es necesario que el animal consuma 42,0 kg de ensilado fresco de Cratylia con 30 % de GC que es el que tiene menor costo/Mcal de ENL de los ensilados analizados, con un costo de ₡1.554,9, mientras que solo deberá consumir 14,1 kg de alimento balanceado para cubrir sus requerimientos, que sin embargo presenta un costo de ₡3.231,9. Este dato sugiere que el costo para llenar los requerimientos de un animal de este tipo es del 48% si se utiliza el ensilado analizado, con respecto al alimento balanceado.

¹Viquez R. 2016. Comunicación personal. Regencia Almacén Agro Veterinario Dos Pinos de San José, Costa Rica.

Sin embargo para plantearse realizar un cambio en el sistema de alimentación o sustituir el alimento balanceado por forrajes, se debe considerar que la producción de biomasa del forraje seleccionado es el aspecto más importante para adoptar su utilización e influye directamente en el costo final de los ensilajes sin importar el ciclo de cosecha del cultivo (Villalobos-Villalobos et ál. 2015) y entender que la producción de especies forrajeras está íntimamente ligada a las condiciones climatológicas (Arias et ál. 2008).

Por otra parte, Villalobos-Villalobos et ál. (2015) mencionan que la preferencia de los productores para la elaboración de ensilados, se basa en la utilización de especies anuales, probablemente esta preferencia se deba a que se concentran las labores de elaboración de ensilados una sola vez al año, a diferencia de especies como la *Cratylia* y el Poró que se obtienen en promedio 3 cosechas al año y en caso de no ser aprovechadas en un máximo de 90 días, su calidad nutricional se verá rápidamente afectada, presentándose una caída en los valores de PC (Lugo-Soto et ál. 2009; Sánchez et ál. 2007). Situación que al no ser planeada y controlada repercutirá directamente en la calidad del material ofrecido y en la productividad de la finca.

CONCLUSIONES

1. La técnica de microsilos utilizada restringió el proceso natural de pérdida de humedad en los ensilados, por lo tanto, en los resultados obtenidos, el valor de materia seca se encuentra subestimado. Sin embargo, esta técnica resultó eficiente para determinar la capacidad de conservación de los materiales analizados.
2. El ensilado de leguminosas como el Poró y la Cratylia combinado con guineo cuadrado como fuente de almidones puede ser utilizado en la alimentación de rumiantes, mientras se asegure un nivel mínimo de carbohidratos solubles que garanticen la correcta conservación y menor pérdida de la calidad nutricional. Esta función fue cubierta de manera efectiva por el nivel de inclusión de melaza utilizado en la investigación (5% p/p).
3. Al no presentarse variaciones marcadas en los valores de pH de los ensilados analizados, incluso en los de mayor contenido de guineo, existen evidencias para concluir que los carbohidratos en forma de almidones provenientes del guineo cuadrado no participan de forma significativa en el proceso fermentativo del ensilaje.
4. La inclusión de guineo cuadrado tuvo un efecto significativo e inverso en los valores de proteína cruda, donde se mostró que al aumentar su inclusión, el contenido de PC disminuyó. Por otro lado, tuvo un efecto positivo en el contenido de fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y lignina, disminuyendo sus valores dentro de los ensilados, al aumentar su inclusión. En la energía neta de lactancia y el nutrientes digestibles totales también se observó un efecto significativo y directo, en donde los ensilados con mayor contenido de energía fueron los que tenían un nivel mayor de guineo.
5. En el caso del pH, la variable que tuvo un efecto significativo fue la especie de leguminosa, en donde se observaron menores valores de pH en los ensilados de Cratylia, resultando el mejor tratamiento para este parámetro el ensilado de Cratylia con 45% de guineo.
6. Los mayores contenidos de nitrógeno amoniacal los presentaron los ensilados de Cratylia que sobrepasan los valores mínimos para ser considerados de buena calidad, siendo el de Cratylia con 45% el mejor tratamiento para esta leguminosa evaluando este parámetro, por otro lado todas las mezclas de Poró se pueden considerar de buena calidad para este parámetro. Este valor de nitrógeno amoniacal pudo estar afectado por la técnica de microsilos empleada que no permite la pérdidas

de humedad del material, sin embargo, al analizar que no se encontraron variaciones significativas con ningún nivel de inclusión de guineo cuadrado se concluye que el nivel de melaza empleado en el estudio es suficiente para asegurar la correcta conservación del material contrarrestando la capacidad amortiguadora de las leguminosas analizadas.

7. Los valores de ácidos orgánicos en los ensilados de *Cratylia* no mostraron un comportamiento típico, sin embargo, únicamente el ensilado con 45% de guineo cuadrado resultó deficiente en el contenido de ácido acético y el de 0% de guineo cuadrado presentó un valor muy alto en el contenido de ácido, mientras que los ensilados de Poró se pueden considerar de buena calidad a excepción del ensilado de Poró con 45% de guineo cuadrado que resultó deficiente en el contenido de ácido butírico.
8. Los bajos niveles de FDN, FDA y lignina en los ensilados del presente estudio, en comparación con otros forrajes tropicales utilizados en la alimentación de rumiantes, asegurarían altos consumos de materia seca, en sistemas donde se ofrecen otras fuentes fibrosas como pasto.
9. La inclusión de guineo cuadrado fue determinante en el valor de ENL y de NDT, en donde se obtuvo mayor contenido energético en los ensilados con mayor cantidad de la musácea, logrando cubrir los requerimientos de animales en producción.
10. El alto contenido energético de los ensilados de leguminosas con inclusiones de 30% de guineo cuadrado, junto con su bajo costo de producción y bajo costo de los nutrientes por unidad de medición, representan una alternativa viable al uso de alimentos balanceados a base de granos con altos costos de utilización.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda un análisis de proceso y de día 0 ya que en el presente estudio no fue posible realizar la comparación de los resultados entre el material final (ensilado) y el inicial (fresco) y tampoco se pudo evaluar el proceso fermentativo en el tiempo porque solo se evaluó el material final, resultando en un estudio del momento final de materiales ensilados, estos análisis determinarían los puntos críticos, cambios y limitantes en la conservación de los forrajes analizados.
2. Evaluar la respuesta animal en cuanto a consumo, palatabilidad y productividad mediante parámetros como ganancia diaria de peso, producción de leche, con el uso de los materiales investigados en el presente estudio.
3. Realizar una prueba de campo para evaluar la viabilidad de adoptar un sistema de alimentación basado en la producción, para la posterior conservación en ensilaje, de materiales como el Poró, la Cratylia y el guineo cuadrado, para rumiantes con altos niveles productivos.
4. Para la aplicación de las tecnologías descritas en el presente estudio, se deben definir las necesidades y establecer los objetivos productivos de la finca, debido a que se obtienen resultados nutricionales y económicamente distintos según la especie de leguminosa y el nivel de inclusión de guineo cuadrado que se utilice.

LITERATURA CITADA

- ADDAMS R., COMERFORD J., FORD S., GRAVES R., HEALD C., HEINRICHS A., HENNING W., HUTCHINSON L., ISHLER V., KEYSER R., O'CONNOR M., SPECHT L., SPENCER S., VARGA G., YONKERS R. 1995. Dairy Reference Manual, tercera edición. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Nueva York, Estados Unidos. 293p.
- AGUILERA G., LLAMAS G., SHIMADA A. 1992. Valor nutritivo del ensilaje de pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) cv. Taiwan, adicionado con un inhibidor y dos estimulantes de la fermentación. Técnica Pecuaria en México. 30(3): 196-207.
- AMIOT M., FORGET F., GOUPY P. 1996. Polyphenol, oxidation and colour: progress in the chemistry of enzymatic and non-enzymatic derived products. Herba-Polonica 42: 237-247.
- ARIAS R., MADER T., ESCOBAR P. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. Archivos de Medicina Veterinaria, Chile. 40: 7-22.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1998. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed, 4th rev. Gaithersburg, MD: AOAC International, USA.
- BACH A., CALSAMIGLIA S. 2006. La fibra en los rumiantes: ¿Química o física? XXII Curso especialización FEDNA. Barcelona, España. p. 99-112.
- BARRETO L. 2010. Nutrición y Alimentación Animal. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia. 33p.
- BCCR (Banco Central de Costa Rica) 2016. Tipo de cambio del dólar de los Estados Unidos de América. Tipo de cambio promedio MONEX. San José, Costa Rica. Consultado el 10 de mayo de 2016. Disponible en: <http://indicadoreseconomicos.bccr.fi.cr/indicadoreseconomicos/Cuadros/frmvercatCuadro.aspx?CodCuadro=400>.
- BETANCOURT M. 2003. Efecto de la melaza, ácido fórmico y tiempo de fermentación sobre el contenido de proteína cruda y nitrógeno amoniacal en silaje de *Leucaena leucocephala*. Revista Zootecnia Tropical. 21(3):289-300.

- BETANCOURT M., CLAVERO T., RAZZ R. 2002. Características nutritivas del ensilaje de *Leucaena leucocephala* con diferentes aditivos. Revista Científica 7(2): 502-504.
- BETANCOURT M., GONZÁLEZ I., MARTÍNEZ DE ACURERO M. 2005. Evaluación de la calidad de los ensilajes. Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela (CENIAP). Número 8. Maracay, Aragua, Venezuela. Documento digital consultado el 5 de abril de 2015. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/betancourt_m/betancourt_m.htm.
- BELYEA R., STEEVENS B., GARNER G., WHITTIER J., SEWELL H. 1996. Using NDF and ADF to balance diets. Missouri University Extension: G3161. Estados Unidos.
- BIRBE B., HERRERA P., COLMENARES O., MARTÍNEZ N. 2006. El consumo como variable en el uso de bloques multinutricionales. X Seminario de Pastos y Forrajes. 43-61 pp.
- BOSCHINI-FIGUEROA C. PINEDA-CORDERO L. 2016. Ensilaje de kikuyo (*Pennisetum clandestinum* O *Kikuyuocloa clandestina*) fermentado con tres aditivos. Agronomía. Mesoamericana. 27(1):49-60.
- BUITRAGO J., ESCOBAR A. 2009. Aplicación de levadura *Candida* spp. Como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*Musa acuminata*). Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 81p.
- CAMPO-MARTÍNEZ A., ACOSTA-SANCHEZ R., MORALES-VELASCO S., PRADO F. 2014. Evaluación de microorganismos de montaña (MM) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 12(1):79-87.
- CARPINTERO M., HOLDING A., McDONALD P. 1969. Fermentation studies on lucerne. Journal of the Science of Food and Agriculture. Gran Bretaña. 20(11): 667-681.
- CASTILLO M., ROJAS-BOURRILLON A., WINGCHING-JONES R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). Agronomía Costarricense 33(1): 133-146.

- CHEDLY K., LEE S. 2001. Ensilaje de subproductos agrícolas como opción para pequeños campesinos. Estudio 6.0. Uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos, FAO. 22p.
- CHALUPA W., SNIFFEN C. 1996. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle – today and tomorrow. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58:65-75.
- CRUZ M., SÁNCHEZ J. 2000. La fibra en la alimentación del ganado lechero. *Revista Nutrición Animal Tropical.* 6(1): 39-74.
- CUBERO J., ROJAS-BOURRILLON A., WINGCHING-JONES R. 2010. Uso del inóculo microbiano elaborado en finca en ensilaje de maíz (*zea mays*). Valor nutricional y fermentativo. *Agronomía Costarricense.* 34(2): 237-250.
- DE LA CRUZ-HERNÁNDEZ J., GUTIÉRREZ-FERNÁNDEZ G. 2006. Alimentación de bovinos con ensilado de mezclas de banano de rechazo y ráquis en diferentes proporciones. *Revista Avances en Investigación Agropecuaria.* 10(3): 29-39.
- DE LA ROZA-DELGADO B. 2005. El ensilado en zonas húmedas y sus indicadores de calidad. IV Jornadas de Alimentación Animal. Laboratorio de Mouriscade. Pontevedra, España. 20p.
- DE LA VEGA J. 2010. Alimentación de Bovinos. Documento digital, consultado: 03/10/2016. Disponible en: [s58669cd9b381f673.jimcontent.com/download/version/.../name/Alimentac\[1\]...pdf](http://s58669cd9b381f673.jimcontent.com/download/version/.../name/Alimentac[1]...pdf).
- DEL CURTO T., HESS B., HUSTON J., OLSON K. 2000: Optimum supplementation strategies for beef cattle consuming low quality roughages in the western United States, *Proceedings of American Society of Animal Science.* 1999.
- DI RIENZO J., CASANOVES F., BALZARINI M., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C. 2016. InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- DORMOND H., ROJAS-BOURRILLON A., JIMÉNEZ C., QUIROZ G. 2000. Efecto de niveles crecientes de seudotallo de guineo en combinación con ensilaje de maíz, sobre el crecimiento de terneras Jersey, durante la época seca. *Agronomía Costarricense.* 24(2):31-40.

- ELIZONDO-SALAZAR J., CAMPOS-GRANADOS C. 2014. Características nutricionales de la cáscara de piña ensilada con cantidades crecientes de urea y heno. *Nutrición Animal Tropical*. 8(2):51-71.
- ESCALANTE G., HERRERA R., ARANGUREN J. 1984. Fijación de nitrógeno en árboles de sombra (*Erythrina poeppigiana*) en cacaotales del norte de Venezuela. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 19 s/n: 223 -23.
- ESCOBEDO A. 2010. Cadena productiva del banano criollo (Gros Michel) de Costa Rica. Proyecto MAP-Banano. CATIE. 31p.
- ESPERANCE M., OJEDA F., CÁCERES O. 1981. Marco fermentativo, valor nutritivo y producción de leche con hierba pangola ensilada con ácido fórmico o miel. *Pastos y Forrajes*. Revista de la EEPF "Indio Hatuey". Cuba. 4:237.
- EWEN A. 2011. Organic acids in silage: Application note. Agilent Technologies. Estados Unidos. 3p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) 2015. Ganadería. Documento digital consultado el 4 de abril de 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/americas/perspectivas/ganaderia/es/>.
- FLORES O., BOLIVAR D., BOTERO J., IBRAHIM M. 1998. Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas con potencial forrajera para la suplementación de rumiantes en el trópico. *Livestock Research for Rural Development* 10 (1).
- GALLEGO E., MORALES S., VIVAS N. 2012. Propuesta para el uso de especies arbóreas y arbustivas forrajeras en sistemas ganaderos en el Valle del Patía. Cauca. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 10(2): 207-216.
- GARCÉS A. 2004. Detoxificación de banano verde, *Revista Lasallista de Investigación*. 1(1):48-55.
- GARCÉS A., BERRIO L., RUIZ S., SERNA DE LEON J., BUILES A. 2004. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*. 1(1):66-71.

- GARZÓN A., NAVAS G. 2003. Características nutricionales de fuentes alimenticias y su utilización en la elaboración de dietas para animales domésticos. Boletín Técnico No. 38, CORPOICA. Pronatta, Villavicencio. 47p.
- GRANADOS-MARÍN C., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLON A. 2014. Ensilaje de pasto Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*) con la adición de melaza, suero de leche e inóculos microbiales. Cuadernos de Investigación UNED. 6(1): 47-56.
- HERRERA C. 2002. Evaluación del valor nutricional de los residuos agroindustriales energéticos altos en humedad utilizados para la alimentación del ganado bovino en Costa Rica. Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 129p.
- HOLMANN F., LASCANO C. 2001. Sistemas de alimentación con leguminosas para intensificar fincas lecheras. CIAT, Colombia. 109p.
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional) 2013. Upala. Documento digital consultado el 26 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.imn.ac.cr/imn/MainAdmin.aspx?__EVENTTARGET=ClimaCiudad&CIUDAD=1.
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2002. Los subproductos agroindustriales en la alimentación de los rumiantes. Proyecto Pampa Húmeda. Buenos Aires, Argentina. 34p.
- IZQUIERDO H. 2009. Empleo del follaje de plantas de *Musa ssp* como alternativa para la alimentación animal. Temas de Ciencia y Tecnología, enero-abril:49-60.
- JIMÉNEZ C., PINEDA L., MEDINA A. 2001. Uso de aditivos en el ensilaje de *Cratylia argentea*. Sistemas de alimentación con Leguminosas para Intensificar Fincas Lecheras. Consorcio Tropoleche-CIAT. 20-21.
- JIMÉNEZ C., PINEDA L., LEÓN B., MONTENEGRO A. 2002. Producción de maíz y soya forrajera para ensilaje y venta parcial de la cosecha de elotes o chilotes. Agronomía Costarricense. 13(1): 45-48.
- JIMÉNEZ F., MORENO J. 2000. El ensilaje, una alternativa para conservación de forrajes. CORPOICA. Bucaramanga, Colombia. 23p.

- 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 pp.
- JONES D. 1988. The effect of cereal incorporation on the fermentation of spring- and autumn-cut silages in laboratory ensilados. *Revista Grass and Forage. Science*, 43: 167-72.
- KRUSKAL W., WALLIS W. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47(260): 583–621.
- KUNG L., SHAVER R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage*. 3(13). 5p.
- LINN J., MARTIN N. 1989. Forage quality tests and interpretation. Bulletin AG-FO-2637. Minnesota Extension Service, University of Minnesota. 7(2): 509-523.
- LOBO M., DÍAS O. 2001. *Agrostología*. 1ª ed. EUNED, Costa Rica. 147p.
- LEÓN V., LÓPEZ V. 2009. Comparación del ensilaje de caña de azúcar y el ensilaje de maíz mezclado con *Mucuna pruriens* como forraje para vaquillas de reemplazo. Proyecto de graduación. Zamorano, Honduras. 17p.
- LOPEZ 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 grado. Universidad de Costa Rica. 106 p.
- LOPEZ-HERRERA M., ROJAS-BOURRILLON A. 2014. Informa parcial de resultados del Proyecto 739-B4-115 Evaluación de ensilajes de pastos y forrajeras con diferentes niveles de guineo cuadrado (*Musa* sp) para la alimentación de rumiantes bajo normativa orgánica. Universidad de Costa Rica. 2p.
- LOPEZ M., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLON A. 2009. Características fermentativas y nutricionales del ensilaje de rastrojo de piña (*Ananas comosus*). *Agronomía Costarricense* 33(1): 1-15.
- LUGO-SOTO M., VIBERT E., BETANCOURT M., GONZÁLEZ I., OROZCO A. 2009. Efecto de la altura y edad de corte en la producción de materia seca y proteína bruta

- de *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze bajo condiciones del piedemonte barinés, Venezuela. *Revista Zootecnia Tropical*. 27(4): 457-464.
- MARTÍNEZ G. 2009. Situación nacional de las musáceas: Breve análisis. *Producción Agropecuaria, Venezuela*. 2(1):31-44.
- MATA D., HERRERA P. 1994. Uso de bloques multinutricionales en pasturas naturales. I Conferencia Internacional de Bloques Multinutricionales. UNELLEZ. Guanare. 43-55 pp.
- MATA L. 2011. Tabla de composición de materias primas usadas en alimentos para animales. Primera edición. Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), Universidad de Costa Rica. 132p.
- MATOO A., CHALUTZ E., LIEBERMAN M. 1979. Effect of lipophilic and water soluble membrane probes on ethylene synthesis in apple and *Penicillium digitatum*. *Plant cell Physiol* 20: 1097-1106.
- McDONALD P. 1981. *The biochemistry of silage*. John Wiley & Sons. Manchester, Inglaterra. 226 p.
- MIER M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. Tesis de maestría. Universidad de Córdoba, España. 66p.
- 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. *Revista Agronomía Costarricense*. 17(1): 07-10.
- MÜHLBACH P. 2001. Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales. Estudio 9.0. *Uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos*, FAO. 15p.
- MUCK R. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*. Estados Unidos. 71(11): 2992-3002.
- NIELSON C., COOK R. 1979. Banana meal as concentrate for lactating cows. *Journal Dairy Science*. Estados Unidos. 62(8): 1329-1334.

- NOGUER J., VALLES A. 2006. El ensilado y sus ventajas. Hojas divulgatorias, Ministerio de Agricultura, España. (7-22).
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient Requirements of dairy cattle. 7 ed. National Academy Press, Washington DC., Estados Unidos.
- OJEDA F. 1988. Valor nutritivo de forrajes tropicales conservados como ensilajes. Revista Pastos y Forrajes. 11(3): 199-205.
- OJEDA F, CÁCERES O., ESPERANCE M. 1991. Conservación de Forrajes. Editorial Pueblo y Educación. 80p.
- OROZCO E. 2005. Bancos forrajeros: Un componente tecnológico indispensable para la producción intensiva en fincas ganaderas. MAG. San José, Costa Rica. 47p.
- OUDE S., DRIEHUIS F., GOTTSCHAL J., SPOESLTRA S. 2001. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. Estudio 2.0. Uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos, FAO. 13p.
- PÉREZ E., RUIZ M., PEZO D. 1990. Suplementación de bovinos con banano verde. III. Efecto sobre la degradación ruminal del banano. Agronomía Costarricense. 14(1):61-66.
- PÉREZ J., JIMÉNEZ R., ROJAS S., MARTINEZ P. 2005. Uso de las leguminosas arbustivas en los sistemas de producción animal en el trópico, Revista Electrónica de Veterinaria (REDVET). 6(5). 19p.
- FIGURINA G. 1992. Características de ensilajes en establecimientos lecheros. INIA. Montevideo, Uruguay. 28 p.
- RECOPE (Refinadora Costarricense de Petróleo S.A.) 2015. Cuadro de precios de venta de combustible, asfalto y emulsiones. San José, Costa Rica. La Gaceta (216).
- RODRIGUEZ N., OLIVEIRA E., GUIMARAES-JÚNIOR R. 2007. Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 20(4): 518-525.
- ROJAS-BOURRILLON A. 1995. Conceptos básicos en nutrición de rumiantes. Universidad de Costa Rica. 178p.

- ROJAS-BOURRILLON A. 2005. Desechos agroindustriales altos en humedad utilizados en la alimentación de rumiantes. ECAG Informa. (34): 18-21p.
- ROJAS-BOURRILLON A. 2006. Limitaciones y oportunidades para el desarrollo de la producción pecuaria orgánica en Costa Rica. Agronomía Costarricense. 30(2):129-135.
- ROJAS-BOURRILLON A., VALENZUELA G., ARROYO R., AGUIRRE D., CAMACHO M. 1994. Composición nutricional y digestibilidad *in vitro* del ensilado de mezclas de Poró (*Erythrina berteroana* Urb) y Pejibaye (*Bactris gasipaes* H. B. K.). pp 189-198. In: BENAVIDES J. (eds). Árboles y arbustos forrajeros en América Central. CATIE.
- RUIZ M., RUIZ A. 1990. Nutrición de rumiantes: Guía metodológica de investigación. 1ª edición, IICA-RISPAL. Costa Rica. 344p.
- SABORÍO A. 2012. Cetosis subclínica: Una enfermedad metabólica silenciosa presente en las lecherías. Revista UTN Informa. (62): 18-22.
- SÁNCHEZ A., GONZÁLEZ-CANO J., FARIA-MÁRMOL J. 2007. Evolución comparada de la composición química con la edad al corte en las especies *Leucaena leucocephala* y *L. trichodes*. Revista Zootecnia Tropical., 25(3): 233-236.
- SÁNCHEZ N., LEDIN I. 2006. Effect of feeding different levels of foliage *Cratylia argentea* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and milk composition. Tropical Animal Health and Production. 38:343-351.
- SHELTON M. 2000. Leguminosas forrajeras tropicales en los sistemas agroforestales. Unasyiva 200(51):25-32.
- SOLANO H. 1997. Efecto de diferentes concentraciones de taninos sobre la flora microbiana ruminal en la degradabilidad *in vitro* del forraje de alfalfa. Tesis de grado. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 71p.
- SOLANO J., VILLALOBOS R. 2001. Aspectos Fisiográficos aplicados a un Bosquejo de Regionalización Geográfico Climático de Costa Rica. Top. Meteor. Oceanog. 8(1):26-39.
- SUCHINI J. 2012. Innovaciones agroecológicas para una producción agropecuaria sostenible en la región del Trifinio. Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza (CATIE). 47p.

- SUKHIJA P., PALMQUIST D. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 36 (6), pp 1202–1206.
- TITTERTON M., BAREEBA F. 2001. Ensilaje de gramíneas y leguminosas en los trópicos. Estudio 4.0. Uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos, FAO. 22p.
- 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.
- TOBIA, C., ROJAS-BOURRILLON A., VILLALOBOS E., SOTO H., URIBE L. 2004. Sustitución parcial del alimento balanceado por ensilaje de soya y su efecto en la producción y calidad de la leche de vaca, en el trópico húmedo de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 28(2):27-35.
- TVEIT B., LINGAAS F., SVENDSEN M., SJAASTAD Ø. 1992. Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. 1. Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. *Journal of Dairy Science*. (75): 2421–2432.
- 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. CATIE. 125p.
- VAN SOEST P. 1996. Environmental and forage quality. Annual Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Nueva York. 1-6.
- VAN SOEST P., ROBERTSON J. 1985. Analysis of forages and fibrous food. AS 613. Cornell University, A Laboratory Manual. Department of Animal Science. Ithaca, NY.
- VÉLEZ M., HINCAPIÉ J., MATAMOROS I., SANTILLÁN R. 2012. Producción de ganado lechero en el trópico, 4 ed. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 353 p.
- VENTURA-CANSECO L., MENDOZA J., ABUD-ARCHILABM., OLIVA-LLAVEN M., DENDOOVEN L., GUTIERREZ-MICELI F. 2012. Sugarcane molasses and whey as additives in the silage of lemongrass (*Cymbopogon citratus* [DC.] Stapf) leaves. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 72(1):87-91.

- VILLALOBOS-VILLALOBOS L., ARCE-CORDERO J., WINGCHING-JONES R. 2015. Costos de producción de ensilados de pastos tropicales elaborados en lecherías de Costa Rica. *Revista Nutrición Animal Tropical*. 9(2): 27-48.
- VIRGÜEZ G., CHACÓN E. 1997. Especies arbóreas y arbustivas de potencial forrajero del árido y semiárido de Venezuela. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. (1):15-34.
- WATTIAUX M. 2000. Introducción al proceso de ensilaje. *Novedades Lácteas*. Instituto Babcock, Universidad de Wisconsin. 12p.
- WEINBERG Z., MUCK R. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiological Views* 19(1): 53-68.
- WHO (World Health Organization) 2003. pH in Drinking-water. Ginebra, Suiza. 2p.
- WOOLFORD M. 1984. *The Silage Fermentation*. Microbiological Series, 14, Marcel Dekker Inc., Nueva York.

ANEXO

Cuadro A. Resumen de resultados de análisis químico y bromatológico de los ensilados de leguminosas con niveles crecientes de guineo cuadrado.

Variables	Poró				Cratylia			
	% de Guineo cuadrado							
	0	15	30	45	0	15	30	45
pH	4,84 ^c	4,76 ^{bc}	4,48 ^{abc}	4,50 ^{abc}	4,42 ^{abc}	4,42 ^{abc}	4,34 ^{ab}	4,26 ^a
NH₃/NT	5,58 ^{ab}	5,55 ^{ab}	5,33 ^a	6,23 ^{abc}	7,15 ^{bc}	7,53 ^c	7,08 ^{bc}	7,05 ^{bc}
Á. Láctico (%)	3,07 ^a	3,10 ^a	2,01 ^a	1,61 ^a	2,11 ^a	3,41 ^a	3,91 ^a	2,06 ^a
Á. Acético (%)	0,95 ^a	2,24 ^b	2,44 ^b	4,39 ^b	4,00 ^b	3,13 ^b	0,93 ^a	6,04 ^b
Á. Butírico (%)	0,58 ^a	0,89 ^a	0,84 ^a	4,56 ^a	3,73 ^a	2,30 ^a	0,43 ^a	1,74 ^a
MS (%)	21,98 ^a	24,14 ^b	23,81 ^b	23,64 ^{ab}	32,23 ^d	28,60 ^c	29,17 ^c	27,55 ^c
PC (% MS)	16,66 ^e	14,91 ^{de}	13,22 ^{cd}	9,40 ^a	15,55 ^{de}	14,35 ^{cde}	12,35 ^{bc}	10,82 ^{ab}
EE (% MS)	4,60 ^a	4,24 ^a	4,11 ^a	4,34 ^a	3,37 ^a	3,45 ^a	3,74 ^a	3,80 ^a
Cenizas (% MS)	10,92 ^b	8,49 ^a	8,03 ^a	7,24 ^a	8,22 ^a	7,80 ^a	7,78 ^a	7,27 ^a
FDN (% MS)	46,05 ^d	34,40 ^c	30,60 ^b	21,15 ^a	48,55 ^f	37,50 ^{dc}	26,93 ^{abc}	23,48 ^{ab}
FDA (% MS)	33,78 ^c	24,68 ^b	21,63 ^b	14,40 ^a	31,68 ^c	24,23 ^b	17,03 ^a	14,58 ^a
Hemicelulosa (% MS)	12,28 ^{cd}	9,73 ^{abc}	8,98 ^{ab}	6,75 ^a	16,88 ^e	13,28 ^d	9,90 ^{bc}	8,90 ^{ab}
Celulosa (% MS)	22,73 ^e	16,60 ^{cd}	14,43 ^{bc}	9,79 ^a	20,85 ^{de}	15,70 ^c	10,65 ^{ab}	8,88 ^a
Lignina (% MS)	11,05 ^d	8,08 ^c	7,20 ^{bc}	4,70 ^a	10,83 ^d	8,53 ^c	6,38 ^{abc}	5,70 ^a
CNF (% MS)	21,78 ^a	37,96 ^{cd}	44,05 ^{cde}	57,88 ^f	25,16 ^{ab}	36,90 ^{bc}	49,20 ^{def}	54,64 ^{ef}
NDT (%)	62,55 ^a	72,28 ^b	75,54 ^{bc}	83,07 ^d	64,80 ^a	72,76 ^b	80,45 ^{cd}	83,26 ^d
EN_L (Mcal EN/ kg MS)	1,41 ^a	1,65 ^b	1,73 ^{bc}	1,92 ^d	1,47 ^a	1,66 ^b	1,85 ^{cd}	1,92 ^d

Valores en la misma fila con letras diferentes son diferentes ($p < 0,05$)

pH: potencial de hidrogeno. NH₃/NT: nitrógeno amoniacal del nitrógeno total. MS: materia seca. PC: proteína cruda. EE: extracto etéreo. FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácido. CNF: carbohidratos no fibrosos. NDT: nutrientes digestibles totales. EN_L: energía neta de lactancia.

