

**EVALUACION A NIVEL DE MICROSILO DEL COMPORTAMIENTO
DE PARÁMETROS ASOCIADOS A LA CALIDAD DEL PROCESO
FERMENTATIVO Y EL VALOR NUTRICIONAL DE ENSILAJE DE
MAÍZ-SOYA Y SORGO-SOYA CON O SIN USO DE ADITIVOS**

GHISELLE MORA FUENTES

Trabajo Final de Graduación presentado a la Escuela de Agronomía
como requisito parcial para optar al grado de
Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

**INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA
SEDE REGIONAL SAN CARLOS**

2006

**EVALUACION A NIVEL DE MICROSILO DEL COMPORTAMIENTO
DE PARÁMETROS ASOCIADOS A LA CALIDAD DEL PROCESO
FERMENTATIVO Y EL VALOR NUTRICIONAL DE ENSILAJE DE
MAÍZ-SOYA Y SORGO-SOYA CON O SIN USO DE ADITIVOS**

GHISELLE MORA FUENTES

Trabajo Final de Graduación presentado a la Escuela de Agronomía
como requisito parcial para optar al grado de
Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

**INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA
SEDE REGIONAL SAN CARLOS**

2006

EVALUACION A NIVEL DE MICROSILO DEL COMPORTAMIENTO DE
PARÁMETROS ASOCIADOS A LA CALIDAD DEL PROCESO FERMENTATIVO Y
EL VALOR NUTRICIONAL DE ENSILAJE DE MAÍZ-SOYA Y SORGO-SOYA CON
O SIN USO DE ADITIVOS

GHISELLE MORA FUENTES

Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Milton Villarreal Castro, Ph. D.

Asesor

Ing. Agr. Wilfrido Paniagua Madrigal, MGA.

Jurado

Ing. Agr. Alberto Camero Rey, M. Sc.

Jurado

Ing. Agr. Fernando Gómez Sánchez, MAE.

Coordinador TFG

Ing. Agr. Olger Murillo Bravo. M. Sc.

Director Escuela de Agronomía

DEDICATORIA

A mis padres Victor y Ghiselle por su cariño incondicional, tenacidad y dedicación.

¡Gracias por esta oportunidad!

A Gregory por ser mi compañero en las buenas y en las malas durante toda mi carrera y por el resto de mi vida.

¡Gracias por tu amor!

AGRADECIMIENTO

Agradezco especialmente a mis padres y hermanos por esta familia tan bonita que tengo y por todo el apoyo y cariño que he recibido de ellos durante mi vida.

Gracias a Gregory por ser mi mano derecha en este trabajo al igual que en todos los demás proyectos que me esperan.

Gracias a mi asesor Milton Villarreal por ir siempre más allá, este trabajo no hubiese sido posible sin su ayuda.

Gracias a Milton Gutiérrez y el Comité de Educación de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. por confiar en mi y financiar este proyecto.

¡Gracias a todos! amigos, compañeros y profesores que de una u otra manera contribuyeron a la realización de este trabajo y a que mis años en el TEC hayan sido de los mejores que he vivido.

TABLA CONTENIDOS

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE CUADROS DEL APENDICE	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE FIGURAS	IX
RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1 Objetivos	14
1.1.1 Objetivo general	14
1.1.2 Objetivos específicos:	14
1.2 Hipótesis técnica	15
II. REVISIÓN DE LITERATURA	16
2.1 El uso de ensilaje en el trópico húmedo	16
2.2 Definición de ensilaje	17
2.3 Clasificación de los ensilados	17

2.4 Pérdidas durante el ensilado.....	19
2.4.1 Pérdidas de campo	19
2.4.2 Pérdidas por respiración u oxidación.....	19
2.4.3 Pérdidas por putrefacción o descomposición aeróbica.....	19
2.4.4 Pérdidas por fermentación	20
2.4.5 Efluentes	20
2.5 El proceso de ensilaje.....	21
2.5.1 Fase 1: Respiración de las plantas dentro del silo	22
2.5.2 Fase 2: Fermentación acética.....	23
2.5.3 Fase 3 y 4: Fermentación láctica	24
2.5.4 Fase 5: Estabilización del material ensilado	25
2.6 Principales factores que afectan el proceso de fermentación de la masa ensilada	25
2.6.1 Contenido de materia seca (MS) del forraje por ensilar	26
2.6.2 Concentración de carbohidratos solubles en el forraje por ensilar	26
2.6.3 Capacidad tampón del forraje ensilado.....	27
2.7 La calidad del proceso de ensilaje	27
2.8 Indicadores de calidad del proceso fermentativo.....	28
2.8.1 Características organolépticas del ensilado	29
2.8.2 Nivel de acidez de la masa ensilada	29
2.8.3 Concentración de ácidos orgánicos en el ensilado	30
2.8.4 Proporción de nitrógeno amoniacal presente en el ensilado.....	31
2.8.5 Concentración de etanol en el ensilado	31
2.9 Indicadores del calor nutricional del ensilado	32
2.9.1 Papel de la fibra en la calidad del forraje ensilado	32
2.9.2 Papel de la proteína en la calidad del forraje ensilado.....	33
2.9.3 Digestibilidad del forraje ensilado.....	34

2.10 Aditivos	34
2.10.1 Inoculantes biológicos	35
2.10.2 Proveedores de sustrato	36
 III. MATERIALES Y MÉTODOS	37
 3.1 Localización del estudio	37
3.2 Periodo experimental	37
3.3 Tratamientos y diseño experimental	37
3.4 Nomenclatura de tratamientos	38
3.5 Selección y uso de materiales a ensilar	38
3.5.1 Maíz (<i>Zea mays</i>)	39
3.5.2 Sorgo (<i>Sorghum sudanense</i>)	40
3.5.3 Soya (<i>Glycine max</i>)	41
3.5.4 Melaza de caña	42
3.5.5 Inoculante Biológico.....	42
3.6 Elaboración de los microsilos	42
3.7 Toma de muestras	44
3.7.1 Período de cosecha del forraje.....	44
3.7.2 Período de apertura de los microsilos.....	44
3.8 Variables a evaluar	45
3.8.1 Determinación del nivel de acidez (pH) del ensilaje in situ	45
3.8.2 Determinación de la cantidad efluente liberado por los microsilos.....	45
3.8.3 Determinación de temperatura interna de los microsilos	45
3.8.4 Determinación del contenido de materia seca (MS).....	46
3.8.5 Determinación de la concentración de proteína cruda.....	46
3.8.6 Determinación de la concentración de carbohidratos estructurales (FND,	

FAD)	46
3.8.7 Determinación de la Energía Digestible	46
3.9 Análisis de Resultados	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	48
4.1 Variables indicadoras de la calidad fermentativa.....	48
4.1.1 Clasificación organoléptica	48
4.1.2 Nivel de acidez (pH) a los 30 días de fermentación	51
4.1.3 Temperatura entre las 10 y 20 horas de fermentación	52
4.1.4 Producción de total de efluente a los 30 días.....	53
4.2 Variables indicadoras del valor nutricional.....	54
4.2.1 Contenido (%) de Materia Seca (MS)	54
4.2.2 Proteína Cruda (PC).....	55
4.2.3 Energía Digestible (ED)	57
4.2.4 Fibra Neutro Detergente (FND).....	59
4.2.5 Fibra Ácido Detergente (FAD)	60
V. CONCLUSIONES.....	62
VI. RECOMENDACIONES.....	63
VII. LITERATURA CITADA.....	64
VIII. ANEXOS	68
APÉNDICE	72

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título _____	Página
1.	Comportamiento de la liberación de efluentes del ensilaje según el contenido de materia seca de las materias primas _____	21
2.	Algunos indicadores de la composición nutricional y nivel de acidez de efluente del ensilaje de pradera. _____	21
3.	Comportamiento de la densidad del ensilaje de acuerdo con el contenido de materia seca de las materias primas _____	28
4.	Valores clasificatorios para algunos parámetros considerados indicadores de calidad del proceso fermentativo del ensilaje _____	30
5.	Criterios utilizados para evaluar la calidad final del ensilaje en términos de proceso fermentativo _____	31
6.	Nomenclatura de tratamientos de acuerdo a la combinación de sus materias primas _____	38
7.	Características organolépticas y clasificación del ensilaje obtenido a los 30 días de fermentación en microsilos según el tratamiento. _____	49
8.	Comportamiento de las tres variables de calidad fermentativa evaluadas, pH, temperatura y liberación de efluente. _____	51
9.	Comportamiento de las variables indicadoras del valor nutricional según el tratamiento. _____	55
10.	Proporción componente/planta entera de soya y su contenido de proteína cruda. _____	56
11.	Efecto de la interacción doble “gramínea” x “nivel de soya” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje _____	57
12.	Efecto de interacción doble “aditivo” x “nivel de soya” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje _____	58
13.	Efecto de interacción doble “aditivo” x “gramínea” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje _____	58

LISTA DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro	Título	Página
A1.	Valor de la probabilidad (P) para el efecto de tratamiento según Análisis de Varianza para cada variable evaluada	68
A2.	Diferencias mínimas entre tratamientos para cada variable evaluada	69
A3.	Valor de probabilidad (P) para el efecto de las fuentes de variación según Análisis de Varianza para variable evaluada	70
A4.	Composición nutricional de las materias primas utilizadas en la elaboración de los microsilos	71

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1.	Maíz rústico blanco de 80 días en estado fenológico “grano lechoso-pastoso” utilizado en la elaboración de ensilaje en microsilo.	39
2.	Sorgo sudanense de 80 días en estado fenológico “grano lechoso-pastoso” utilizado en la elaboración de ensilaje en microsilo	40
3.	Soya forrajera de 90 días en estado fenológico “Grano lleno R ₆ ” utilizada en la elaboración de ensilaje en microsilo.	41
4.	Detalles de fabricación de los microsilos y colocación de los microsilos.	43
5.	Efecto de la interacción triple gramínea-soya-aditivo sobre la Energía Digestible (ED)	59

RESUMEN

Utilizando la técnica de microsilos, se evaluó el comportamiento de parámetros asociados a la calidad del proceso fermentativo y el valor nutricional de ensilajes fabricados con maíz-soya y sorgo-soya en diferentes proporciones, con y sin uso de un aditivo compuesto por melaza y bacterias productoras de ácido láctico (BAL). Los microsilos se fabricaron con tubos y tapones de PVC de 4" sellados a presión con escapes superior para gases e inferior para colección de efluentes. Dentro de los microsilos se colocaron 2kg de mezcla en base verde de acuerdo con los tratamientos propuestos. Los ocho tratamientos evaluados fueron asignados de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado. Los tratamientos estuvieron conformados por la combinación de dos niveles del factor "gramínea (maíz ó sorgo)", dos niveles del factor "soya" (25% ó 50% en base fresca) y dos niveles del factor "aditivo" (con ó sin). Los tratamientos fueron replicados cuatro veces. Al final del período de fermentación (30 días), los microsilos fueron abiertos para las evaluaciones respectivas.

La evaluación organoléptica del ensilaje (olor, color y textura) indicó que en todos los casos se obtuvo un ensilaje de calidad buena a excelente. Esta observación fue reforzada por los niveles de pH obtenidos (rango de 3.7 a 4.3), considerados como valores óptimos para una fermentación láctica. La incorporación de un aditivo compuesto por melaza (1,25%) e inoculante produjo un aumento en el nivel de acidez dentro del silo al mismo tiempo que aumentó el porcentaje de materia seca y redujo la fracción fibrosa del material ensilado, aunque los tratamientos con aditivo presentaron un aumento en la liberación de efluentes. El uso de un nivel de soya de hasta 50% en el ensilaje mejoró la calidad nutricional especialmente a nivel de proteína cruda (PC) y energía digestible (ED) viéndose más beneficiados los tratamientos que contenían sorgo que los de maíz. Adicionalmente, las combinaciones con altas proporciones de soya no afectaron la calidad del proceso fermentativo.

ABSTRACT

By using the laboratory silos technique, it was possible to evaluate the behavior of parameters associated to the quality of the fermentative process and the nutritional value of silage made out of corn-soy and sorghum-soy in different proportions with and without additive made out of molasses and biological inoculant containing lactic acid producing bacteria (BAL). The microsilos were made of sealed and pressurized 4" PVC tubes and corks. These had an escape on top for gas release and another at the bottom for effluent release. According to the proposed treatments, 2 kg of the mix were put on the green base inside the silos. All eight evaluated treatments were assigned according to a completely random design. The treatments were conformed by the combination of two levels of the corn-sorghum factor, two levels of the soy factor (25% or 50% in fresh base), and two levels of the additive factor (with or without). The treatments were replicated four times. At the end of the fermentation day (30 days), the laboratory silos were opened to perform the respective evaluations.

The organoleptic evaluation (smell, color and texture) indicated that in all cases a good to excellent quality silage was obtained. This observation was reinforced by the obtained pH levels (ranging from 3.7 to 4.3) which are considered optimal for lactic fermentation. By incorporating a molasses (1.25%) and inoculant additive, a raise in the acidity level was produced inside the silo. At the same time, the percentage of dry material increased and the fiber fraction of the ENSILADO material was reduced even though the treatments with the additive presented a raise in effluent release. The use of a soy level of up to 50% in the silage improved the nutritional quality especially at the raw protein level and digestible energy. This effect was more obvious in treatments containing sorghum than in those containing corn. Additionally, the combinations with high proportions of soy did not affect the quality of the fermentative process.

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería de leche en Costa Rica se intensifica cada día provocando la máxima utilización de los recursos de la finca. La necesidad de la sustitución de mezclas basadas en granos, el mantenimiento constante de la producción de leche, el incremento en la carga animal y el mejoramiento de parámetros reproductivos son algunas de las motivaciones que el productor tiene para utilizar el ensilaje de forrajes (Rojas, 1999a).

La tecnificación de los sistemas pecuarios con énfasis en producción láctea incluye la producción, manejo y conservación de los forrajes. Debe procurarse la evaluación constante de los diferentes materiales utilizados para la elaboración de ensilaje. Esta evaluación permitirá optimizar su uso, corregir las posibles deficiencias de manejo, combinación y utilización, hasta obtener ensilajes a base de materiales que brinden un alto rendimiento y buen valor nutricional a un bajo costo.

La calidad del material resultante del proceso de ensilaje puede afectar el consumo de materia seca y a su vez la productividad del hato, tanto a nivel de producción de leche como a nivel reproductivo y sanitario. La evaluación de la calidad nutricional de las diferentes combinaciones posibles de materiales comúnmente usados para la elaboración de ensilaje en nuestro país, proveerá criterios respaldados científicamente para la selección de cultivos y aditivos a ensilar, lo que reducirá el riesgo y la incertidumbre que asume el productor a la hora de implementar este sistema de conservación de forraje en su finca.

Es extensa la información sobre el proceso de ensilado y la calidad de forrajes de clima templado, especialmente maíz y sorgos forrajeros, no así en condiciones tropicales. Situación que hace necesario que se incursione en la investigación en este ámbito para poder adaptar productos, cultivos y tecnologías utilizadas desde hace décadas en climas templados a las condiciones climáticas, económicas y sociales de los países tropicales como Costa Rica, donde la

tecnificación de la producción lechera ha alcanzado un grado importante y requiere un proceso constante de evaluación para poder ajustarse a las condiciones del productor y las demandas del mercado.

La presente investigación estudió el comportamiento a nivel de microsilaje de algunos de los parámetros de calidad tanto del proceso fermentativo como del valor nutricional de ensilajes de soya (*Glycine max*) al 25% y 50% con maíz (*Zea mays*) o sorgo forrajero (*Sorghum sudanense*) con y sin uso de aditivos (melaza de caña e inoculante biológico).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar a nivel de microsilos el comportamiento de parámetros asociados a la calidad del proceso fermentativo y el valor nutricional del ensilaje de maíz-soya y sorgo-soya en diferentes proporciones, con o sin uso de melaza e inoculante como aditivos.

1.1.2 Objetivos específicos:

Según el tipo de variables analizadas, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1.1.2.1 Indicadores de la calidad fermentativa

- a. Describir las características organolépticas que permiten la clasificación del material ensilado según su olor, color y textura.
- b. Medir el nivel de acidez (pH) del ensilaje a los 30 días de fermentación.
- c. Medir la temperatura interna de los microsilos.
- d. Realizar una estimación de las pérdidas por fermentación y lixiviación ocurridas durante el proceso de conservación.

1.1.2.2 Indicadores del valor nutricional

- a. Medir el valor nutricional de las materias primas a través de la determinación de los contenidos de materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra neutro-detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y energía digestible (ED) de las gramíneas forrajeras y la fuente proteica, utilizadas en la elaboración de ensilaje al momento de ser cosechados.
- b. Medir el valor nutricional del ensilaje a través de la determinación de los contenidos de materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra neutro-detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y energía digestible (ED) del

ensilaje una vez transcurrido un periodo de fermentación de 30 días.

1.2 Hipótesis técnica

a. Existen variaciones en el comportamiento de los parámetros de calidad del proceso fermentativo (pH, temperatura, producción de efluente y pérdida de materia seca) y el valor nutricional (FND, FAD, DE, PC y MS), asociadas al tipo de forraje y uso de aditivos empleados en la elaboración de microsilos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El uso de ensilaje en el trópico húmedo

Las condiciones de ensilaje en los países del trópico son muy diferentes a las condiciones de los países templados y de estos últimos, es de donde proviene la mayoría de la tecnología relacionada con este método de conservación del forraje verde. Esta circunstancia hace necesario profundizar en investigaciones para dilucidar ciertos temas específicos del ensilaje en zona tropical. Entre los puntos más importantes están que la constitución de los forrajes tropicales es diferente a la de los forrajes de clima templado. En el trópico húmedo los forrajes se caracterizan por una alta concentración de componentes de la pared celular y un menor valor energético lo que dificulta el proceso de ensilaje. Sumado a esto, las condiciones climáticas del trópico como alta temperatura y humedad dificultan el almacenaje y favorecen el desarrollo de bacterias indeseables dentro de los silos. Además, el material común utilizado para el sellado de los silos no está fabricado con las especificaciones adecuadas para resistir la alta radiación del trópico. Sin embargo, esta tecnología desarrollada en las zonas templadas sí puede contribuir a mejorar la técnica de ensilaje en los trópicos.

Los sistemas intensivos de producción de rumiantes a gran escala son relativamente nuevos en los ambientes tropicales y subtropicales. El papel del ensilaje en estos cambios en la zona tropical no ha sido muy claro. Generalmente se le ha asignado al ensilaje el mismo papel que ha tenido en zonas templadas, o sea permitir almacenar el excedente de forraje durante la época de crecimiento activo de las plantas para su distribución en la época de escasez. Más recientemente se desea utilizar cultivos especiales destinados al ensilaje, empleándolos a su vez para aumentar la productividad de la tierra; este tipo de modalidad parece ser más prometedora. El ensilaje también ha sido una técnica muy útil para almacenar desechos y subproductos tales como las cáscaras de piñas y el orujo de cervecería (Cowan s.f.).

2.2 Definición de ensilaje

Se puede utilizar ensilaje como un término general para describir cualquier procedimiento que considere el almacenamiento de materiales en silos o piletas. Sin embargo, el término es usado específicamente para describir el almacenamiento de forrajes verdes y otros materiales bajo condiciones anaeróbicas que permiten que los organismos presentes fermenten los carbohidratos de las plantas convirtiéndolos en ácidos orgánicos, reduciendo el pH dentro del silo e inhibiendo la fermentación posterior, y de esta forma preservando el cultivo como ensilaje. El objetivo en la producción de ensilaje es preservar el forraje u otros alimentos utilizados en producción animal, mientras se minimizan las pérdidas de nutrientes y se evitan los cambios adversos en la composición química del cultivo (Thomas y Morrison 1985).

2.3 Clasificación de los ensilados

Los ensilados se pueden clasificar por el tipo de fermentación que sufre el material durante el proceso, auxiliados por ciertas características como su olor, color, textura y pH. Una vez finalizado el proceso de fermentación y abierto el silo para su uso, este puede ser clasificado en diferentes categorías según sus características organolépticas: ensilaje butírico o pútrido, láctico o normal, dulce y mohoso. Cada uno presenta diferente valor nutricional y aceptabilidad por parte de los animales. También se pueden clasificar por la temperatura alcanzada durante la fase de respiración en: fríos, sobrecalentados y normales.

Los ensilajes de tipo frío generalmente coinciden con las características de un ensilaje butírico, se produce por una compactación fuerte y rápida que desaloja todo el aire de la masa ensilada por lo que no hay oportunidad de que la temperatura aumente mucho, esto favorece la acción de las bacterias productoras de ácido butírico. Su color es verde olivo o verde azulado, el olor que despiden es rancio y penetrante, el pH es mayor de 4.5, tiene una textura viscosa y presenta muy poca palatabilidad, su valor nutritivo es nulo. (Muslera y Ratera 1983)

El ensilaje sobrecalentado se conoce como ensilaje dulce, este se produce por un exceso de aire atrapado en la masa ensilada por lo que la temperatura en la fase de respiración se eleva por encima de los 50°C cociendo los azúcares y precipitando las proteínas; su olor es agradable y dulce (amelazado), su color es marrón, el pH es variable y la palatabilidad es excelente pero su valor nutritivo también es muy bajo.

Los ensilajes mohosos son simplemente ensilajes deteriorados por la entrada de oxígeno que ha reactivado a las bacterias productoras de ácido butírico y que permite la supervivencia de mohos y levaduras, su olor es rancio, presenta manchas blancas (moho), un pH mayor de 5.5 y no es consumido por lo animales del todo, su valor nutritivo es nulo (Peñagaricano et al. 1977).

Un ensilaje bien fermentado coincide con el ensilaje normal o láctico, su olor es agradable y va desde afrutado hasta avinagrado dependiendo de las concentraciones de los ácidos, pero nunca fétido; el color oscila entre amarillo verdoso, dorado hasta marrón verdoso, su textura es firme, el pH está entre 3.5 y 4.5, presenta una buena palatabilidad y su valor nutritivo es casi igual al material fresco (Peñagaricano et al. 1977).

También se pueden dar condiciones de fermentación en las que predomine la generación de ácido acético por parte de las bacterias, dando origen a un ensilado acético, fenómeno que es común cuando se usan gramíneas de clima tropical. La desaminación suele ser intensa en este tipo de ensilajes por lo que presentan una concentración mayor de amoníaco que en los de tipo láctico. Los ensilajes acéticos pueden ocasionar reducciones en el consumo de materia, ya existe una relación inversa entre la concentración de ácido y el consumo de alimento (Hiriart 1998).

2.4 Pérdidas durante el ensilado

Desde que el forraje se cosecha para ser ensilado hasta su utilización ocurren gran cantidad de pérdidas de nutrientes y materia seca que son inevitables y dependen de varios factores. Estas se pueden clasificar en: pérdidas de campo, pérdidas por respiración u oxidación, pérdidas por putrefacción, pérdidas por fermentación y producción de efluentes.

2.4.1 Pérdidas de campo

Todas las partículas de forraje que pueden quedar en el suelo luego de la cosecha cuentan como pérdida de campo (Rojas 1999a), éstas se consideran mínimas cuando se ensila el mismo día que se cosecha, sin embargo cuando se deja el material orear en el campo se espera que esta pérdida no supere el 1 o 2% (McDonald y Whittenbury 1970).

2.4.2 Pérdidas por respiración u oxidación

En la mayoría de los silos instalados en las explotaciones se produce una elevada respiración aerobia sobre la superficie y las partes laterales del material ensilado provocada por la difícil extracción de oxígeno en estas áreas y por la acción de enzimas vegetales y bacterianas. Desgraciadamente no es fácil determinar las pérdidas ocurridas durante la fase de respiración y muy seguido se le atribuyen a esta fase pérdidas ocasionadas por la fase de fermentación. Ocasionalmente se ha medido esta pérdida por diferencias de peso pero es muy difícil determinar cuanta pérdida pertenece cada etapa (Hiriart 1998).

2.4.3 Pérdidas por putrefacción o descomposición aeróbica

Las pérdidas por putrefacción son evitables y se producen al ingresar oxígeno a la masa por falta de un sello adecuado o cuando se abre el silo para la utilización del forraje. Para reducirlas debe darse al ganado lo que va a consumir el mismo día, exponer el silo lo menos posible al exterior y sellarlo bien una vez sacado el material necesario (Hiriart 1998).

2.4.4 Pérdidas por fermentación

La cantidad de materia perdida por concepto de fermentación es variable de acuerdo con el tipo de fermentación (microorganismos involucrados) y con los nutrientes fermentados. Se han realizado trabajos que registran pérdidas de materia seca alrededor de 1 a 10% registrando la media normal entre el 3 y 5% (Rojas 1999a). Los cambios de concentración más comunes se registran en la proteína y los carbohidratos solubles, pero estos cambios son muy bajos.

En la fermentación causada por clostridios las pérdidas de nutrientes como consecuencia de la formación de gases suelen ser mucho mayores (Hiriart 1998).

2.4.5 Efluentes

Las pérdidas por lixiviación dependerán principalmente del contenido de humedad del ensilaje conservado. Existen diferentes fórmulas para estimar tanto las pérdidas de materia seca como la cantidad de efluente liberado por la masa ensilada. Diversos investigadores han determinado que la materia seca presente en el efluente varía entre 2 al 10% y con frecuencia es de 6% (McDonald y Whittenbury 1970), esta variación está relacionada con la cantidad de materia seca presente en el forraje siendo mayores las pérdidas a menor porcentaje de materia seca y viceversa. Además este lixiviado arrastra vitaminas, minerales, carbohidratos y proteínas solubles por lo que estas pérdidas suelen ser muy importantes en términos nutricionales (Rojas 1999a).

Se ha observado que entre mayor sea la cantidad de materia seca disminuye sustancialmente la pérdida por efluentes (Cuadro 1), lo que podría significar una menor pérdida de materia seca y elementos nutritivos en el ensilaje.

Cuadro 1. Comportamiento de la liberación de efluentes del ensilaje según el contenido de materia seca de las materias primas

Contenido de Materia Seca (%)	Cantidad de efluente (l/t)
< 15	225-450
15-20	135-225
> 25	Mínima

Fuente: Hiriart, 1998

El ganado vacuno consume fácilmente el efluente de ensilado de pasturas, este efluente tiene un nivel energético en base a la materia seca similar a la cebada (Cuadro 2) y una alta cantidad de proteína cruda degradable en el rumen (Hiriart, 1998), por lo que sería posible hallar usos alternativos de carácter nutricional dentro de las explotaciones ganaderas, neutralizando primero el alto contenido de ácido.

Cuadro 2. Algunos indicadores de la composición nutricional y nivel de acidez de efluente del ensilaje de pradera.

Variable	Valor
pH	4.0
MS (%)	5,5
Energía metabolizable. Mcal/kg MS	2,98
Proteína cruda (%)	26
Calcio (%)	2,8
Fósforo (%)	0,85

Fuente: Hiriart 1998.

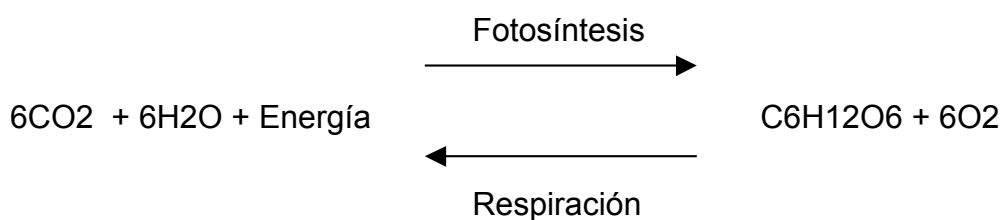
2.5 El proceso de ensilaje

De acuerdo a la revisión hecha por Rojas (1999b), el proceso de ensilaje es dinámico e intervienen en él factores enzimáticos y microbianos cuya unión determina el éxito o fracaso del ensilaje. Para este proceso los carbohidratos no estructurales o solubles (CNE-CHS) fácilmente fermentables de la planta constituyen el sustrato nutricional del cual depende primordialmente la acción de la microflora, en consecuencia, cuanto mayor sea el contenido de CNE del forraje, más rápido y eficiente será el proceso de ensilado.

Desde que el forraje verde es cortado y puesto en capas en el silo se da inicio a una secuencia de acontecimientos que conducen a su conservación; el proceso de ensilado propiamente dicho se divide en cuatro etapas o fases: La fase de respiración de las plantas en el silo, la fase de fermentación acética, la fase de fermentación láctica y por ultimo la fase de estabilización del material.

2.5.1 Fase 1: Respiración de las plantas dentro del silo

La asimilación del carbono mediante la fotosíntesis no es el único proceso que se realiza dentro de la planta. También tiene lugar la respiración, que equivale a un cambio en el cual se toma oxígeno y se produce dióxido de carbono. Cuando la planta ha sido cortada o separada del suelo, pronto cesa la fotosíntesis; sin embargo la respiración continúa dentro de las células vivas. Esto quiere decir que el material vegetal empieza a consumirse, produciéndose en correspondencia cierta cantidad de calor. La pérdida tiene lugar principalmente en los carbohidratos (azúcares y almidones), cuando menos al principio, y en cierto modo, también se ven afectadas las grasas y las proteínas. Si existe suficiente provisión de oxígeno los carbohidratos más sencillos como la glucosa pueden ser convertidos totalmente en agua y dióxido de carbono (Watson y Smith 1984).



A su vez existen, en el forraje, bacterias que producen dióxido de carbono y calor a partir de los carbohidratos y el oxígeno presentes, por lo que de continuar la respiración perderemos paralelamente gran parte de los nutrientes que se pretende conservar por el consumo y desdoblamiento de los azúcares presentes. También son probables las pérdidas en la digestibilidad de las proteínas por precipitación como efecto del excesivo calor (Peñagaricano et al. 1977).

Rojas (1999b) menciona que la rapidez y eficiencia de consumo de oxígeno en el silo, o lo que es lo mismo, la duración de la fase de respiración es dependiente de los siguientes aspectos:

Estado de madurez de la planta: a medida que la planta madura acumula mucho mayor porcentaje de tejido celulósico por lo que se dificulta la extracción de oxígeno presente en las partículas de forraje.

Contenido de humedad: a menor contenido de humedad se dificulta la eliminación de oxígeno por compactación.

Tamaño de la partícula de forraje: el forraje picado fino es más fácil de compactar que el no picado o picado grueso, además el picado fino permite más cantidad de forraje en menor unidad de volumen por lo que hay más aprovechamiento del espacio disponible.

Método de extracción del oxígeno: la extracción del oxígeno por bomba de vacío es más eficiente que el compactado.

Tipo de silo y sellado: silos aéreos o subterráneos con posibilidad de ser compactados y sellados adecuadamente son más eficientes en la eliminación del oxígeno.

2.5.2 Fase 2: Fermentación acética

La fase de fermentación acética comienza al finalizar la respiración de las plantas, acidificándose el medio por la producción de ácido acético a través de ciertos microorganismos heterofermentativos del grupo de las bacterias coliformes. Estos crecen a una temperatura óptima de entre 18 y 25 ° C, pero no son resistentes a la acidez ni a mayores temperaturas, desapareciendo al llegar a un pH de 4,2. Su acción por tanto es escasa y de poca importancia para el proceso de ensilado (Muslera y Ratera 1983).

2.5.3 Fase 3 y 4: Fermentación láctica

Al seguir disminuyendo el pH empiezan a proliferar las bacterias lácticas homofermentativas de los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Streptococcus* cuyo óptimo desarrollo ocurre a 35° C, aunque pueden producirse entre 5° y 60° C, necesitando un ambiente rico en azúcares solubles, libre de oxígeno y con un pH entre tres y cuatro. Una vez alcanzado este nivel de acidez se interrumpe la actividad microbiana y se estabiliza el proceso completándose así la fase de fermentación (Muslera y Ratera 1983).

Es indudable que esta es la fase más importante, en lo que a conservación de forrajes se refiere y se inicia más o menos de tres a cinco días después de sellado el silo cuando este está bien realizado y puede tardar entre quince y veintidós días para alcanzar el pico de acidez (Vélez 1997).

Además de las bacterias productoras de ácido láctico, otros organismos como levaduras, hongos y especialmente clostridios están presentes en el silo y si estos organismos proliferan la fermentación es adversamente afectada. Los clostridios metabolizan los azúcares y el ácido láctico para producir butirato y una variedad de productos menores incluyendo acetato, propionato, etanol, butanol y formato. Estas bacterias degradan también importantes cantidades de aminoácidos para producir un amplio rango de productos finales de la fermentación. Como consecuencia de que el ácido butírico es un ácido más débil que el láctico, y que muchos de los productos derivados del ataque de aminoácidos son bases, la actividad de estas bacterias retarda la normal reducción del pH que se da en el silo. El período de fermentación es prolongado y se pierde parte del forraje con un ensilaje resultante que tiene poco valor nutritivo y pobre aceptación por parte de los animales (Thomas y Morrison 1985). Las temperaturas de 32° a 40° C y un pH entre 4 y 5 favorecen la proliferación de estos microorganismos (Rojas 1999b).

2.5.4 Fase 5: Estabilización del material ensilado

Como se dijo antes y en caso de no ocurrir fermentación butírica, las condiciones de alta acidez que se producen en la fase de fermentación provocan una inhibición de la actividad fermentativa llegando a una estabilización del material. Es difícil determinar el nivel de pH necesario para la estabilización del proceso de ensilado, pues se ha visto que esto va a depender del contenido de humedad de la masa ensilada; a mayor contenido de humedad del ensilaje, será necesaria una mayor acidez (menor pH) para lograr la estabilización (Rojas 1999a).

En un ensilaje correctamente realizado, la producción de ácido láctico llega rápidamente a representar entre 1 a 2% de la masa, alcanzado la acidez niveles de pH por debajo de 4.5. En un silo sellado, en el cual se impide la entrada de aire o agua, estas condiciones permanecen en el tiempo (Peñagaricano et al. 1977).

2.6 Principales factores que afectan el proceso de fermentación de la masa ensilada

La eficiencia del proceso de conservación y el valor nutritivo del material resultante de este dependerá de un número limitado de factores relacionados principalmente con la materia prima utilizada. Como se mencionó con anterioridad no se puede extraer del silo mejor calidad de la que se introdujo inicialmente, por lo que el objetivo principal será obtener un producto lo más similar posible al material original, lo que significa reducir al mínimo las pérdidas dentro del silo. Así que se deben seleccionar las materias primas por ensilar tomando en cuenta tres factores determinantes para el éxito del proceso fermentativo: el contenido de materia seca, la concentración de carbohidratos solubles y la capacidad tampón del forraje.

2.6.1 Contenido de materia seca (MS) del forraje por ensilar

Es necesario que los forrajes tengan un nivel apropiado de materia seca (MS) antes de ser introducidos en el silo. Un alto porcentaje de materia seca puede restringir la actividad microbiana necesaria para el éxito del proceso de fermentación y dificultar la compactación del material. En cambio un bajo contenido de materia seca ocasiona pérdidas importantes de líquido durante la compactación y un exceso de efluentes a través del proceso de conservación que arrastran carbohidratos solubles y ácidos orgánicos importantes para la conservación del material, además de nutrientes como minerales, vitaminas y proteínas cuya pérdida reduce la calidad nutritiva del forraje.

Por la acción diluyente del agua relacionada con un bajo contenido de MS, ocurre una extensión del proceso de fermentación, lo que ocasiona un descenso lento del pH permitiendo la intervención de bacterias indeseables como los clostridios. La recomendación de contenido de materia seca varía de acuerdo con el tipo de cultivo, sin embargo se consideran valores aceptables los contemplados entre 35 y 40% de materia seca, lo que significa un 60-65% de humedad (Rojas, 1999a).

2.6.2 Concentración de carbohidratos solubles en el forraje por ensilar

Para asegurar el éxito del proceso de conservación es necesaria la presencia de un alto contenido de carbohidratos solubles en el material para ensilar, con el fin de que puedan ser aprovechados por las bacterias homofermentativas en la producción de ácido láctico. Si la cantidad de azúcares en el forraje es buena la fermentación láctica ocurre con normalidad y la conservación es buena (Muslera y Ratera, 1983) ocurriendo la estabilización indefinida del material.

Este factor tiene una relación importante con el contenido de materia seca, ya que una cantidad aceptable de carbohidratos solubles (8% MS; Rojas, 1999a) para el proceso de fermentación puede verse contrarrestado por un alto porcentaje de humedad, de manera que habría necesidad de incorporar azúcares

como aditivo, en cuyo caso, la melaza es la más recomendada por su precio y alto porcentaje de carbohidratos solubles. De igual manera, un alto porcentaje de materia seca, no mayor a 35 o 40%, podría dispensar un bajo nivel de azúcares en la planta por efecto de aumento en la concentración de los componentes (Muslera y Ratera 1983).

2.6.3 Capacidad tampón del forraje ensilado

La capacidad tampón de las plantas es la capacidad que presentan para resistir los cambios de pH. Como el éxito del proceso de ensilaje requiere una baja sustancial en el nivel de pH de la masa ensilada, este factor se convierte en determinante.

En un rango de pH entre cuatro y seis el 70 a 80% de la capacidad buffer del pasto está dada por la concentración de sales de ácidos orgánicos y solo entre un 10 a 12% es atribuible a las proteínas (Hiriart 1998).

Esta condición de los pastos ocasiona que la masa ensilada requiera mucha más concentración de ácido láctico para alcanzar el pico de pH necesario para el cese de la acción microbiana y por ende la estabilización del forraje.

2.7 La calidad del proceso de ensilaje

Las condiciones en que se desarrolla el proceso de ensilado determinan un producto con unas características homogéneas que permiten definir la calidad del ensilado. Por la apariencia del producto resultante se puede realizar una estimación de cómo se ha producido el proceso de conservación, pero la definición final de la calidad de un ensilaje se determina con más exactitud mediante análisis químico (Muslera y Ratera 1983).

Las características fermentativas del ensilado, es decir, el pH y los productos formados durante el proceso, permiten juzgar la calidad de conservación del forraje verde. Muslera y Ratera (1983), sugieren que estas características son variables y dependen de los siguientes aspectos:

- a. La composición de la planta, especialmente en contenido de humedad, glúcidos fermentables y sobre todo su poder tampón.
- b. Las formas de preparación del ensilado, picado más o menos fino del forraje (0,6cm en 45% MS a 1,2cm en 35% MS), rapidez de llenado del silo (no mayor de 5 días), intensidad de apisonado (Cuadro 3), hermetismo del silo, etc.
- c. Tipo de ensilado, ensilado directo, con o sin adición de conservador eficaz o ensilado pre-henificado.

El valor como alimento del producto obtenido estará estrechamente relacionado con el valor del material original, ello significa que las pérdidas de nutrientes deben ser bajas. Interesa en forma particular el contenido de proteína digestible; un ensilaje de alta calidad debe contener un alto porcentaje de ésta (Peñagaricano et al. 1977).

Cuadro 3. Comportamiento de la densidad del ensilaje de acuerdo con el contenido de materia seca de las materias primas

Materia Seca (%)	Compactación (kg/m³)
<20	800-750
25-35	650-550
40-60	500-400

Fuente: Vélez 1997

2.8 Indicadores de calidad del proceso fermentativo

La calidad del ensilaje no solo está relacionada directamente con la composición nutricional de este, también lo está con el desarrollo adecuado del proceso de fermentación. El suceso adecuado o inadecuado de este proceso le imprime ciertas características al ensilaje que permiten su evaluación, entre las principales están las organolépticas como color, olor, textura y las de composición como el nivel de acidez, la concentración de ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal y etanol.

2.8.1 Características organolépticas del ensilado

El olor, color y textura del material son confiables indicadores de lo ocurrido durante el proceso de conservación. Por lo general se relacionan el olor a la predominancia de algún compuesto originado durante la fermentación, de manera que el olor avinagrado coincide con una alta concentración de ácido acético, el olor fétido o rancio coincide con un alto porcentaje de ácido butírico y amoníaco ocasionado por una descomposición de las proteínas por parte de los clostridios. Un ensilaje de buena calidad coincide con un olor ácido afrutado provisto de altos porcentajes de ácido láctico (Hiriart 1998).

El color está relacionado con las condiciones que dominaron durante la fermentación, un color marrón casi negro está relacionado con la alta temperatura al inicio de la fermentación que pudo ocasionar la caramelización de los azúcares y otros compuestos, dando lugar a un ensilaje dulce y sin ningún valor nutritivo, el color pardo o verde azulado acompañado de una textura viscosa puede indicar la proliferación de bacterias productoras de ácido butírico y por ende la putrefacción del material. Un ensilaje adecuadamente conservado tendrá un color que difiere un poco del color de la cosecha original, este cambio es ocasionado por la pérdida de magnesio que sufre la clorofila, transformándose en un pigmento llamado feofitina, este color va desde verde amarillento, castaño y hasta dorado (Hiriart 1998).

La textura del ensilaje debe ser firme, un ensilaje cuyos tejidos son fáciles de desprender puede indicar un exceso de calor durante el proceso o la acción de mohos y levaduras.

2.8.2 Nivel de acidez de la masa ensilada

El nivel de acidez (pH) es un indicador fácil de medir y una forma económica para determinar la calidad del proceso fermentativo de un ensilaje.

Este nivel de acidez (pH) está dado por la transformación a ácidos orgánicos de los azúcares de la planta por parte de los microorganismos

homofermentativos y heterofermentativos presentes en la masa ensilada. Este nivel de acidez no solo depende del tipo de microorganismos predominantes y del proceso en general sino también del tipo de forraje y su capacidad tampón; en general un ensilaje con un pH final superior a 6 indica una fermentación butírica, así como ensilajes excesivamente ácidos pueden indicar una fermentación acética (Cuadro 4). Aunque existen datos que indican que el pH de ensilajes de pastos tropicales tiende a ser menor que los de clima templado (Rojas 1999a), un pH menor de 4.9 es considerado como aceptable (Combellas 1998).

Cuadro 4. Valores clasificatorios para algunos parámetros considerados indicadores de calidad del proceso fermentativo del ensilaje

Clasificación	pH	Ácido Butírico (%MS)	Nitrógeno amoniaco total (N%)
Excelente	3,5	0,1	5-8
Bueno	4,2	0,2	9
Medio	4,3-4,5	0,3-0,5	9-15
Malo	> 4,5	0,5	15

Fuente: Rojas 1999a

2.8.3 Concentración de ácidos orgánicos en el ensilado

Cuando los carbohidratos experimentan los efectos de la respiración aeróbica dan origen a los ácidos orgánicos, el butírico, el acético y el láctico, los primeros dos se volatilizan fácilmente a diferencia del último por lo que se le denomina no volátil. Estos ácidos orgánicos pueden ser utilizados como indicadores del proceso de fermentación, siendo el ácido láctico producido por los lactobacilos el de mayor relevancia por su incidencia en la calidad final del material conservado. El butírico posee un fuerte olor a rancio que es fácilmente absorbido por la piel y la ropa, es indicativo de una mala calidad por ser producto de fermentaciones indeseables y por reducir y en algunos casos anular la respuesta de consumo del ganado, por lo que se desea que esté ausente o en una proporción mínima (Watson y Smith 1984).

La concentración de ácido acético es ocasionada por la fermentación de

cultivos altos en proteína y es el responsable del olor a vinagre del ensilaje, si sus valores son normales, puede aumentar la digestibilidad del ensilaje (Hiriart 1998).

Los parámetros adecuados para la concentración de cada ácido según la clasificación del ensilaje se muestran en el Cuadro 5. Se indica además que la concentración de ácido láctico debe ser mayor del 2% de la MS y la concentración de ácido acético debe ser menor al 0.6% MS (Rojas 1999a).

2.8.4 Proporción de nitrógeno amoniacal presente en el ensilado

Una alta concentración de nitrógeno amoniacal indica una fermentación butírica ocasionada por exceso de proteína, humedad y aireación. Un ensilaje de buena calidad no debe tener más del 10% (Hiriart 1998) de nitrógeno amoniacal en relación al nitrógeno total (Cuadro 5), aunque varios autores indican que este puede llegar al 23% (Combella 1998) del nitrógeno total.

Cuadro 5. Criterios utilizados para evaluar la calidad final del ensilaje en términos de proceso fermentativo

Clase	Ácido acético	Ácido butírico	Ácido láctico	N-NH ₃ % N Total		N soluble, % N Total	DIVMS % MS
	g/kg de MS			Maíz	Otras		
Excelente	<20	0	-	<5	<7	<50	-
Bueno	20-40	<5	-	5-10	7-10	50-60	-
Mediocre	40-55	<5	-	10-15	10-15	60-70	-
Malo	55-75	>5	<5	15-20	15-20	>65	<60
Muy malo	>75	>5	-	>20	>20	>75	-

Fuente: Muslera y Ratera, 1984

2.8.5 Concentración de etanol en el ensilado

La producción de alcoholes como sustancias intermedias de la fermentación de azúcares por el ataque de enzimas producidas por levaduras rara vez supera el 1% (Hiriart 1998; Watson y Smith 1984) de la MS, ya que generalmente se combina con ácidos orgánicos formando ésteres de olor agradable, sin embargo una alta concentración de este puede indicar un fuerte ataque de levaduras por un mal sellado del silo.

2.9 Indicadores del calor nutricional del ensilado

Como ya se dijo el análisis de la composición química es necesario para estimar el valor nutritivo de un ensilaje. El material ensilado al momento de ofrecerlo a los animales nunca será mejor nutricionalmente comparado con el material fresco (Rojas 1999b).

El valor nutritivo del ensilado dependerá en primer término de los cambios provocados por la actividad de las enzimas vegetales y microbianas durante el período de conservación. Un ensilaje bien hecho deberá conservar, en elevada proporción, el valor nutritivo de la planta que se usó en su preparación y ser apetecido por toda clase de ganado. Si la planta que se usó es de alto valor nutritivo el ensilaje resultante también deberá serlo, aunque siempre habrá que esperar una pérdida en su valor, causada por transformaciones que se producen en el curso de la fermentación; incluso en los casos en que se emplean técnicas altamente perfeccionadas de elaboración (Rojas 1999b).

Los componentes de la materia seca utilizados más puntualmente para la valoración de la calidad del forraje conservado mediante el ensilaje son la fibra, proteína y cenizas. Además se consideran también como indicadores de calidad la digestibilidad del material resultante del proceso y la palatabilidad medida a través del consumo voluntario de ensilaje.

2.9.1 Papel de la fibra en la calidad del forraje ensilado

Es esperable que los hidratos de carbono estructurales (celulosa y hemicelulosa) y la lignina, presentes en la fracción vegetal estén estrechamente correlacionados unos con otros. La Fibra Detergente Neutra (FDN) está compuesta de hemicelulosa, celulosa y lignina; la Fibra Detergente Ácida (FDA) incluye celulosa y lignina. La celulosa y hemicelulosa de los forrajes son parcialmente digestibles, pero la lignina es casi indigerible y su presencia puede inhibir total o parcialmente la digestión de los otros constituyentes orgánicos. En consecuencia podría esperarse que la digestibilidad sea afectada por la variación

en la concentración de lignina y por la asociación de lignina con celulosa y hemicelulosa (Bertoia 2004).

La fibra es uno de los valores generalmente asociados con la calidad del los forrajes. Este valor debe ser considerado relativo a la especie de forraje y sin duda la fibra neutro detergente (FND) es la más importante ya que se asocia un alto contenido de ésta con una baja calidad del forraje. También se debe tomar en cuenta la lignina como porcentaje de la materia seca (MS) y de la FND ya que ésta causa un decaimiento en la digestibilidad de la fibra. La concentración de fibra ácido detergente (FAD) incrementa con el grado de madurez del forraje y está generalmente correlacionada con la FND. El ensilaje reduce la concentración de carbohidratos solubles del forraje con un incremento simultáneo de en los ácidos orgánicos y los carbohidratos estructurales (Ekern y Vik-Mo 1992).

2.9.2 Papel de la proteína en la calidad del forraje ensilado

Durante el proceso de conservación es lógico que ocurran cambios en el contenido de proteína del forraje original, estos cambios se pueden clasificar como transformaciones o como pérdidas, con la diferencia que la materia trasformada puede ser utilizada parcialmente por los animales.

La alta cantidad de proteína es asociada generalmente a una mayor calidad del forraje. Durante el proceso de cosecha y de ensilaje se producen pérdidas de la proteína presente en el forraje principalmente a causa de las proteasas de la misma planta que hidrolizan las proteínas hasta aminoácidos, de forma que entre 12 y 14 horas de cortada la planta, entre el 20% y 25% del nitrógeno total se encuentra convertido en nitrógeno no proteico (Hiriart 1998).

Una parte del valor se pierde porque la proteína se convierte en compuestos simples menos valiosos o bien, si la temperatura dentro del silo se eleva por encima de los 50 °C se reducirá notablemente la digestibilidad de la proteína por precipitación. Otro efecto indeseable de un proceso de fermentación mal manejado es la proteólisis ocasionada por las bacterias productoras de ácido

butírico (clostridios), produciendo compuestos amoniacales y amoníaco a partir de estos. Tales sustancias de carácter básico son de dudoso valor nutritivo para el animal e inclusive algunas pueden ser dañinas, debido a que estas sustancias neutralizan los ácidos producidos y favorecen el crecimiento de los clostridios. Sin embargo una proporción considerable de las proteínas verdaderas del cultivo es convertida en aminoácidos cuyo valor alimenticio es igual al de la proteína original (Watson y Smith 1984).

2.9.3 Digestibilidad del forraje ensilado

Numerosas experiencias han demostrado que la digestibilidad de un forraje conservado ya sea como heno o ensilaje es muy similar a la del cultivo en el momento del corte (preferiblemente día D, cuando la relación entre el %MS y la proteína es óptimo). Sin embargo siempre se registran pérdidas en la digestibilidad del forraje conservado debido a cambios químicos y pérdidas durante el proceso (Raymond et al. 1977). Estas variaciones negativas pueden relacionarse con la calidad de la conservación, ya que son menores cuanto mayor es el contenido de ácido láctico y aumentan con alzas en el pH y el contenido de ácido butírico, propiónico y nitrógeno amoniacal.

2.10 Aditivos

Los aditivos son sustancias de naturaleza diversa utilizadas para mejorar o alterar la fermentación durante el ensilaje. De acuerdo a su efecto sobre el proceso de fermentación se pueden distinguir aditivos de tipo preservante, inhibidor y estimulante.

Los preservantes son utilizados para inhibir la actividad de bacterias y hongos (mohos) indeseables o favorecer un tipo de fermentación específica, algunas mezclas de ácidos orgánicos son usadas para este efecto. Una función similar a la anterior desempeñan los aditivos de tipo inhibidor, con el uso de estos se desea reducir sustancialmente el efecto de la fermentación sobre el cultivo, acidificando el interior del silo de tal manera que ninguna bacteria, beneficiosa o

perjudicial pueda desarrollarse exitosamente. Los productos más recomendados son el ácido fórmico o el ácido propiónico aunque se utiliza gran variedad de ácidos, la mayoría como el ácido sulfúrico o clorhídrico no son muy recomendables tanto por su efecto corrosivo como por el daño potencial que pueden causar a humanos y animales (Heinrichs 2003).

Finalmente se cuenta con los aditivos estimulantes que se puede clasificar a su vez en dos tipos: inoculantes y proveedores de sustrato, su función es fomentar el crecimiento de bacterias homofermentativas cuya producción de ácidos orgánicos reduce gradualmente el pH del ensilaje propiciando su estabilización. Estos pueden ser inoculantes biológicos que contengan *Lactobacillus sp.* entre otras bacterias homofermentativas y materiales proveedores de sustrato que proporcionen una fuente de energía para estos microorganismos como la melaza (Heinrichs 2003).

2.10.1 Inoculantes biológicos

Los inoculantes biológicos son microorganismos por lo general liofilizados que se activan al ser adicionados al forraje. El nivel aplicado de estos microorganismos no debe ser menor a 100.000 (cien mil) microorganismos viables por gramo de forraje fresco (Hiriart 1998, Heinrichs 2003). Las bacterias más utilizadas para este fin son las productoras de ácido láctico de tipo homofermentativo entre las que se pueden contar los *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Streptococcus* aunque se pueden incluir algunas heterofermentativas.

Existen en el mercado gran cantidad de productos comerciales formulados especialmente como inoculantes de forrajes, estos no solo contienen bacterias productoras de ácido láctico sino también otros aditivos como enzimas celulolíticas. Estos productos se pueden encontrar como polvo soluble, en gránulos para aplicación directa y líquido soluble sin embargo su alto costo hace que su uso por el productor sea limitado (Mühlbach 1999).

2.10.2 Proveedores de sustrato

Los aditivos usados como proveedores de sustrato para el desarrollo de microorganismos benéficos incluyen a las enzimas y azúcares. Las enzimas tienen como función degradar los carbohidratos de cadena larga presentes en las paredes vegetales como la celulosa y la hemicelulosa y convertirlos en carbohidratos de cadena corta que resultan de fácil aprovechamiento para los microorganismos productores de ácido láctico. Por otro lado, materiales como las melazas, pulpas energéticas y granos ricos en almidones pueden proveer gran cantidad de carbohidratos solubles que sirven como alimento a los microorganismos productores de ácido láctico (Heinrichs 2003). La melaza presenta un contenido de carbohidratos solubles (CHS) de alrededor de 80% de la materia seca (MS) y se ha comprobado que su empleo aumenta los contenidos de materia seca y ácido láctico, además reduce el nivel de pH y los niveles de amoníaco en el ensilaje, sin embargo debe analizarse si las ventajas que provee justifican su costo (Hiriart 1998).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del estudio

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Agrostología y Nutrición Animal de la Escuela de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica (Sede San Carlos), ubicado a 10° 20 minutos latitud norte y 84° 32 minutos longitud oeste, en la localidad Santa Clara, distrito Florencia, cantón San Carlos, provincia Alajuela.

La Sede se encuentra a 172 m.s.n.m, en una zona clasificada como bosque tropical húmedo, transición a muy húmedo. La temperatura promedio anual es de 26°C con 85% de humedad relativa y una precipitación anual que oscila entre los 2500 y 3000 mm.

3.2 Periodo experimental

El periodo experimental inició a partir del 28 de julio del 2005, día en que se realizó la cosecha de las materias primas y se elaboraron los microsilos, hasta el 28 de agosto del mismo año al cumplirse el periodo propuesto de 30 días de fermentación.

3.3 Tratamientos y diseño experimental

Se evaluó diferentes ensilajes compuestos por la mezcla de maíz ó sorgo forrajero con dos niveles de soya forrajera en presencia y ausencia de aditivos. El ensayo fue conducido bajo diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial de tratamientos 2x2x2, donde el primer factor correspondió a “Gramínea” (dos especies: maíz y sorgo), el segundo a “Soya” (dos niveles: 25% y 50% en base fresca) y el tercero a “Aditivos” (Melaza–Inoculante, dos niveles: con y sin). Las combinaciones de factores y niveles dieron origen a ocho tratamientos que fueron repetidos cuatro veces para un total de treinta y dos unidades experimentales (UE).

3.4 Nomenclatura de tratamientos

La nomenclatura de los tratamientos se realizó mediante una codificación que permitiese determinar fácilmente la combinación de materias primas, colocando la letra “C” para maíz, “Sr” para sorgo, “S25” para soya 25%, “S50” para soya 50% y finalmente A1 o A0 para representar la adición o no de los aditivos melaza-inoculante, respectivamente (ej.; CS50A1). La denominación de cada tratamiento se presenta en el Cuadro 6 y en base a esta se realiza la presentación y discusión de los resultados.

Cuadro 6. Nomenclatura de tratamientos de acuerdo a la combinación de sus materias primas

Tratamientos	Descripción
T1= CS25A1	Maíz, Soya 25%, Aditivos (melaza 1.25% e inoculante)
T2= CS50A1	Maíz, Soya 50%, Aditivos (melaza 1.25% e inoculante)
T3= SrS25A1	Sorgo, Soya 25%, Aditivos (melaza 1.25% e inoculante)
T4= SrS50A1	Sorgo, Soya 50%, Aditivos (melaza 1.25% e inoculante)
T5= CS25A0	Maíz, Soya 25%, no aditivos
T6= CS50A0	Maíz, Soya 50%, no aditivos
T7= SrS25A0	Sorgo, Soya 25%, no aditivos
T8= SrS50A0	Sorgo, Soya 50%, no aditivos

3.5 Selección y uso de materiales a ensilar

Los ensilajes fueron elaborados utilizando maíz blanco rústico (*Zea mays*) ó sorgo forrajero (*Sorghum sudanense*), ambas gramíneas comúnmente utilizadas para la elaboración de ensilaje por su contenido de carbohidratos solubles y su alto rendimiento por unidad de área. La gramínea fue complementada con soya forrajera (*Glycine max*) en proporciones de 25% y 50% (base fresca) según el tratamiento.

Los forrajes utilizados (maíz, sorgo y soya) fueron cosechados de dos diferentes fincas según su periodo óptimo de cosecha. Todos los materiales verdes fueron cortados y picados mediante picadora de pasto con cuchilla rotativa convencional que permite un tamaño de partícula ente 5cm y 15cm.

3.5.1 Maíz (*Zea mays*)

El maíz utilizado en el experimento provino de la Finca del Colegio Agropecuario de Fortuna ubicada en La Fortuna de San Carlos. Se cosechó alrededor de 100 kg de materia verde (MV) que incluía tallos, hojas, mazorcas e inflorescencias. La cosecha se realizó a 10 cm de altura sobre el nivel del suelo, las plantas contaban con ochenta días de edad (80 días) y su estado fenológico al momento de la cosecha era “grano lechoso-pastoso”.

El material se cultivó a una distancia de siembra de 80 cm entre hileras y 15 cm entre plantas con una densidad de siembra estimada de 83,333 plantas por hectárea. La producción de materia seca en estas condiciones se aproxima a las 10,12 t/ha considerando una MS corregida de 20,83%.

Una vez picado el material se utilizó para la fabricación del ensilaje en proporciones de de 50% y 75% (base fresca) según el tratamiento, completando el resto con soya.



Figura 1. Maíz rústico blanco de 80 días en estado fenológico “grano lechoso-pastoso” utilizado en la elaboración de ensilaje en microsilo.

3.5.2 Sorgo (*Sorghum sudanense*)

El Sorgo utilizado en las unidades experimentales (UE) provino de la Finca del Colegio Agropecuario de Fortuna ubicada en La Fortuna de San Carlos. Se cosechó alrededor de 100 kg de materia verde (MV) que incluía tallos, hojas e inflorescencias con granos. La cosecha se realizó a 10cm m de altura sobre el nivel del suelo, las plantas contaban con ochenta días (80 días) de edad y su estado fenológico al momento de la cosecha era “grano lechoso-pastoso”.

El material se cultivó a una distancia de siembra de 70 cm entre hileras y 2 cm entre plantas con una densidad de siembra calculada de 714,285 plantas por hectárea. La producción de materia seca en estas condiciones fue de 6,62 t/ha considerando una MS corregida de 23,29%.

Una vez picado el material se utilizó para la fabricación del ensilaje en proporciones de de 50% y 75% (base fresca) según el tratamiento, completando el resto con soya.



Figura 2. Sorgo sudanense de 80 días en estado fenológico “grano lechoso-pastoso” utilizado en la elaboración de ensilaje en microsilos

3.5.3 Soya (*Glycine max*)

La Soya utilizada en el experimento pertenece a la variedad CIGRAS 06, proveniente de la Finca Lechera de la Familia Barrientos ubicada en localidad del Tanque en La Fortuna de San Carlos. Se cosechó alrededor de 100 kg de materia verde (MV) que incluía tallos, hojas y vainas con semillas. La cosecha se realizó a 10 cm de altura sobre el nivel del suelo, las plantas contaban con noventa días (90 días) de edad y su estado fenológico al momento de la cosecha era “semilla llena” (R_6).

El material se cultivó a una distancia de siembra de 50 cm entre hileras y 5 cm entre plantas con una densidad de siembra calculada de 400,000 plantas por hectárea. La producción de materia seca en estas condiciones fue de 17,90 t/ha considerando una MS corregida de 20,56%.

Una vez picado el material se utilizó para la fabricación del ensilaje en proporciones de de 25 y 50% (base fresca) según el tratamiento.



Figura 3. Soya forrajera de 90 días en estado fenológico “Grano Lleno R_6 ” utilizada en la elaboración de ensilaje en microsilo.

3.5.4 Melaza de caña

Se utilizó melaza de caña con 80% de materia seca (MS) como fuente adicional de carbohidratos solubles para el desarrollo de los microorganismos provenientes del inoculante biológico incorporado según el tratamiento. La melaza se adicionó en una proporción de 1,25% de la masa ensilada (base fresca); por lo que la cantidad adicionada a cada microsilo fue de 25 g de melaza fresca.

3.5.5 Inoculante Biológico

El inoculante biológico utilizado fue BIOMAX 5® de CHR HANSEN, este producto está compuesto por dos cepas de *Lactobacillus plantarum*: K-270 y PA-28, especialmente aisladas del forraje a nivel de laboratorio por su alta competitividad, rápido crecimiento, alta producción de ácido láctico, poder inhibidor de levaduras y poder estabilizador del material expuesto al oxígeno. El producto viene en presentación en polvo soluble en botellas de 50 g para una dosis recomendada de aplicación de 1g de producto por tonelada de forraje verde, con una cantidad mínima garantizada de unidades formadoras de colonias (UFC's) de 100.000 por gramo de producto.

3.6 Elaboración de los microsilos

Los microsilos utilizados fueron fabricados con tubos y tapones de polivinilo (PVC) de 4" de diámetro x 16" alto, sellados a presión. Cada microsilo fue provisto de un escape superior e inferior. El escape superior consistió en una manguera de polivinilo flexible de 1/2" (DinconFlex) sumergida en un tubo de ensayo con agua a manera de "sello de agua" que permitiendo la salida de gases producto de la fermentación pero no la entrada de aire. El escape inferior consistió en una manguera plástica de 1/2" bajo la cual se colocó un beaker de 20 ml para la recolección diaria de los efluentes (Fig. 4). La capacidad total de cada microsilo fue de 0,0032 m³, lo que permitió ensilar un peso de 2,0 kg de forraje (base fresca) con una densidad resultante de 625 kg/m³.

El material colocado en cada microsilo fue pesado y mezclado en un

recipiente separado para obtener mayor uniformidad en la mezcla. Una vez mezclado el material, se introdujo en los microsilos, se compactó y se procedió al sellado con silicón líquido para su pesaje de toda la unidad. Los microsilos llenos, pesados y con el respectivo sello de agua en posición, fueron aleatoriamente distribuidos en soportes de madera y cedazo para evitar el movimiento y facilitar la recolección del efluente.

Finalmente, los soportes fueron ubicados sobre mesas del Laboratorio de Agrostología y Nutrición del Instituto Tecnológico de Costa Rica, donde los microsilos fueron mantenidos a temperatura y humedad relativa ambiente hasta el momento de su apertura.

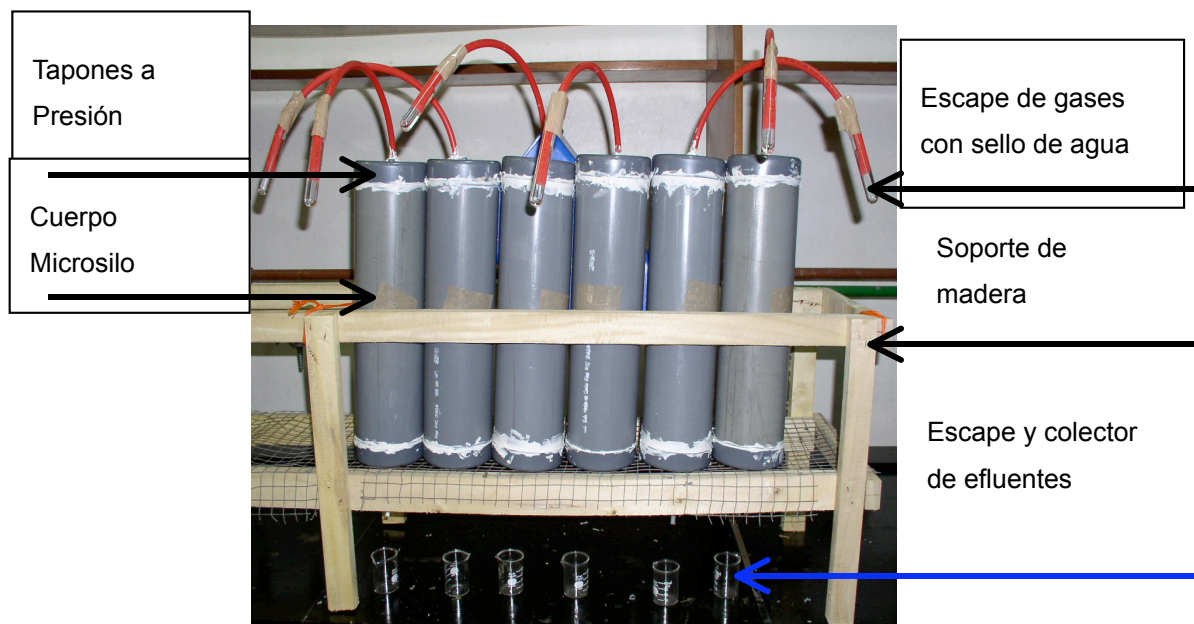


Figura 4. Detalles de fabricación de los microsilos y colocación de los microsilos.

3.7 Toma de muestras

El material a ensilar se muestreó al momento de la cosecha para la realización de análisis de laboratorio.

El ensilado se muestreó inmediatamente después de la apertura de los microsilos a los 30 días de fermentación para la realización de análisis de laboratorio.

3.7.1 Período de cosecha del forraje

Se tomaron muestras directamente en la zona del cultivo y durante la cosecha de los forrajes (gramíneas y soya). Estas muestras fueron llevadas al Laboratorio de Agrostología de la Escuela de Agronomía de Instituto Tecnológico de Costa Rica donde fueron pesadas, secadas y molidas para análisis posteriores de PC, FAD, FND y contenido de MS. A estas muestras se les realizaron las mismas determinaciones que al ensilado, excepto las de calidad fermentativa.

3.7.2 Período de apertura de los microsilos

La segunda etapa de muestreo se llevó a cabo a partir de los 30 días de fermentación de los materiales en el microsilo. Para este efecto, se extrajo el contenido total del microsilos descartando los primeros 5 cm de los extremos, posteriormente se hicieron evaluaciones cualitativas de sus características organolépticas (color y olor) para determinar calidad del proceso fermentativo. Posteriormente el contenido del microsilo fue secado y molido para determinación de contenido de PC, FAD, FND de MS.

3.8 Variables a evaluar

Las variables nivel de acidez, temperatura, liberación de efluente y porcentaje de materia seca a 50 °C, fueron realizados en el laboratorio de Agrostología y Nutrición de la Escuela de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Los análisis químicos para estimación del valor nutritivo fueron hechos en el Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) de la Universidad de Costa Rica.

3.8.1 Determinación del nivel de acidez (pH) del ensilaje in situ

El pH se midió en muestras compuestas por 20 g de ensilaje fresco y 80 ml de agua destilada las cuales fueron agitadas por un periodo de 15 minutos siguiendo la metodología recomendada por Gutierrez et al. (2003). La determinación se realizó mediante pH-metro de electrodos calibrado previamente con solución pH 4 y pH 7.

3.8.2 Determinación de la cantidad efluente liberado por los microsilos

Esta determinación se realizó diariamente por diferencia de peso entre el beaker y el efluente colectado. Una vez tomado el dato diario se colocó el beaker seco en su posición para la medición del día siguiente. El objetivo de las mediciones diarias fue reducir el riesgo de evaporación del efluente.

3.8.3 Determinación de temperatura interna de los microsilos

La determinación de temperatura se hizo entre las 10 y 20 horas de fabricados los microsilos, mediante un termómetro digital de Oregon Instruments (Huger) con una escala de medición de -50 °C a 260 °C. La medición de la temperatura interna del microsilo se realizó en la parte medía del mismo, mediante la introducción del termómetro a través de un agujero taladrado en la pared. Posteriormente se selló el agujero con cinta adhesiva plástica para evitar la entrada de aire.

3.8.4 Determinación del contenido de materia seca (MS)

El contenido de materia parcialmente seca se determinó por secado de la muestra a 50 °C por 96 horas en un horno de aire forzado. El peso de la muestra seca a 50 °C se determinó una vez que esta se equilibró con la humedad ambiente (12 hr después de retiradas del horno). Posteriormente las muestras fueron molidas en un molino Wiley con criba de 1mm. El contenido de materia seca total fue obtenido por corrección del contenido de materia parcialmente seca (50 °C) con el contenido de materia seca a 105 °C ($MS_{50^{\circ}C} \times MS_{105^{\circ}C}$).

3.8.5 Determinación de la concentración de proteína cruda

Esta se determinó según concentración de nitrógeno total utilizando el método micro-Kjendahl (AOAC, 1990).

3.8.6 Determinación de la concentración de carbohidratos estructurales (FND, FAD)

La determinación de carbohidratos estructurales se hizo mediante el método descrito por Van Soest y Robertson (1985).

3.8.7 Determinación de la Energía Digestible

La concentración de energía digestible (ED) se calculó a partir de las ecuaciones de conversión de TND (NRC, 2001). La estimación de TND se obtuvo según el procedimiento de Weiss et al., (1999), a partir de los contenidos de proteína cruda, FND, FAD, Lignina, Cenizas, Extracto Etéreo, N-FND y N-FAD.

3.9 Análisis de Resultados

El efecto de los tratamientos (efectos principales, interacciones dobles y triples), fueron determinadas mediante Análisis de Varianza (ANDEVA) según diseño irrestricto al azar de acuerdo al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

Donde;

Y_{ijkl} = Respuesta individual de la variable medida

μ = Medía general

α_i = Efecto de la i-ésima gramínea.

β_j = Efecto de la j-ésima dosis de soya.

γ_k = Efecto del k-ésimo nivel de aditivo.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre la i-ésima gramínea y la j-ésima dosis de soya.

$(\alpha\gamma)_{ik}$ = Efecto de la interacción del i-ésima gramínea y el k-ésimo nivel de aditivo.

$(\beta\gamma)_{jk}$ = Efecto de la interacción del j-ésima dosis de soya y el k-ésimo nivel de aditivo.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Efecto de la interacción triple de la i-ésima gramínea, la j-ésima dosis de soya y el k-ésimo nivel de aditivo.

ϵ_{ijkl} = Error experimental.

Diferencias entre tratamientos fueron establecidas mediante la opción LSMEANS (procedimiento MIXED de SAS). Las comparaciones entre grupos y fuentes de variación establecidas mediante la opción PDIF de SAS.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan y discuten los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos en las variables de calidad fermentativa y valor nutricional evaluadas.

4.1 Variables indicadoras de la calidad fermentativa

Como indicador de la calidad fermentativa se considera la clasificación del ensilado según sus características organolépticas, nivel de acidez, temperatura y liberación de efluente.

4.1.1 Clasificación organoléptica

Según las características organolépticas del material ensilado obtenido luego de los 30 días, la calidad del proceso fermentativo fue de buena a excelente, presentándose en todos los tratamientos un ensilaje tipo normal o láctico (Cuadro 7) cuyas cualidades incluyen olor avinagrado o afrutado agradable, color desde amarillo verdoso hasta amarillo marrón y textura firme sin ser viscosa (Peñagaricano et al. 1977). Este resultado se ve reforzado por el nivel de pH obtenido por los tratamientos (Cuadro 8) cuyo valor debe oscilar entre 3.5 y 4.5 para considerarse el proceso fermentativo de alta calidad. Esta calidad de fermentación por lo general es indicadora de una alta palatabilidad y una calidad nutricional bastante similar a la materia prima utilizada para el proceso. La literatura indica valores mínimos de materia seca de 25% y una densidad dentro del silo de 750 kg/m³ para la obtención de ensilaje de buena calidad; sin embargo, la compactación a una densidad de 625 kg/m³ y un contenido de materia seca menor de 25% en las materias primas utilizadas no afectó visiblemente la calidad organoléptica del ensilaje obtenido.

Cuadro 7. Características organolépticas y clasificación del ensilaje obtenido a los 30 días de fermentación en microsilos según el tratamiento.

Tratamiento (*)	Olor	Color	Textura	Clasificación	Apariencia (**)
(1) CS25A1	Afrutado	Dorado	Agregado	Normal ó láctico	
(2) CS50A1	Afrutado	Dorado	Agregado	Normal ó láctico	
(3) SrS25A1	Afrutado	Amarillo verdoso	Agregado	Normal ó láctico	
(4) SrS50A1	Avinagrado	Amarillo verdoso	Agregado	Normal ó láctico	

(5) CS25A0	Afrutado	Dorado	Agregado	Normal ó láctico	
(6) CS50A0	Afrutado	Dorado	Agregado	Normal ó láctico	
(7) SrS25A0	Afrutado	Amarillo verdoso	Agregado	Normal ó láctico	
(8) SrS50A0	Avinagrado	Amarillo verdoso	Agregado	Normal ó láctico	

(*) Clave de nomenclatura de tratamientos: Número entre paréntesis representa el numero de tratamiento, C=maíz, S25=soya 25 %, S50=soya 50%, A1=Uso de aditivo Melaza-Inoculante presente, A0=No uso de aditivo Melaza-Inoculante.

(**) Factores externos como la luz y la perspectiva pueden afectar la apariencia y la apreciación de color de la imagen.

4.1.2 Nivel de acidez (pH) a los 30 días de fermentación

El nivel de acidez presentó diferencias significativas ($P=0,0005$) entre tratamientos (Cuadro 8, Cuadro A1 y Cuadro A2) siendo los tratamientos con menor nivel de acidez SrS50A1 y SrS50A0, ambos con 4.3 (Cuadro 8). El menor valor de pH (mayor acidez) se presentó en el tratamiento SrS25A1 con 3.7 (Cuadro 8). Todos los tratamientos presentaron un pH dentro del rango de un buen ensilaje, según Rojas (1999b). El estudio detallado del efecto de tratamientos reveló un efecto simple de los factores “uso de aditivo” y “nivel de soya” ($P=0,0047$ y $P=0,0001$; respectivamente Cuadro A3). El uso del aditivo Melaza-Inoculante en el ensilaje tanto de sorgo-soya como el de maíz-soya produjo un ligero aumento en el nivel de acidez dentro del microsiló. De igual forma, la inclusión de soya al menor nivel (25%), estuvo asociada con ensilajes más ácidos respecto al uso de soya al 50%. La presencia de sorgo ó maíz no produjo ningún efecto significativo ($P=0,0719$) sobre el pH (Cuadro A3). Tampoco se presentaron efectos de interacciones dobles ni triples en el comportamiento de este parámetro (Cuadro A3).

Cuadro 8. Comportamiento de las tres variables de calidad fermentativa evaluadas, pH, temperatura y liberación de efluente.

Tratamiento (*)	Nivel de pH	Temperatura (°C)	Efluente (ml)
(2) CS50A1	4,0bc(**)	27,5a	42,5abc
(1) CS25A1	3,8c	27,6a	51,4ab
(4) SrS50A1	4,3a	27,6a	70,6a
(3) SrS25A1	3,7c	27,5a	65,5a
(6) CS50A0	4,2ab	27,4a	20,9bcd
(5) CS25A0	4,0bc	27,5a	18,4cd
(8) SrS50A0	4,3a	27,6a	22,6bcd
(7) SrS25A0	4,1ab	27,4a	6,9d
Error Standard	0,13	0,12	11,05

(*) Clave de nomenclatura de tratamientos: Número entre paréntesis representa el número de tratamiento, C=maíz, S25=soya 25 %, S50=soya 50%, MB1=Uso de aditivo Melaza-Inoculante presente, MB0=No uso de aditivo Melaza-Inoculante.

(**) Medias con diferente letra en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Este comportamiento es congruente con una mayor adición de sustrato fermentable (carbohidratos solubles) en los tratamientos en los que se incorporó como aditivo, melaza y bacterias productoras de ácido láctico (BAL). Por otra parte, en los casos en los que se adicionó una mayor cantidad de forraje proteico (50% soya), se aumentó la capacidad tampón de la mezcla y se redujo el sustrato fermentable (menos gramínea) contribuyendo a obtener valores de pH relativamente mayores. A pesar de que se obtuvieron diferencias significativas en pH, los valores extremos encontrados (3.7 y 4.3) se encuentran dentro del rango de pH óptimo en el producto ensilado final, indicando un buen proceso fermentativo, el cual si bien podría ser mejorado por la adición de melaza y bacterias homofermentativas como *Lactobacillus plantarum*, en el presente estudio no fue factor determinante para lograr el pH requerido. El uso del nivel mayor de soya (50%) tampoco comprometió el pH del ensilaje con valores superiores al nivel máximo permisible.

4.1.3 Temperatura entre las 10 y 20 horas de fermentación

La variable temperatura fue evaluada entre 10 y 20 horas de fabricados los microsilos. La fluctuación fue debida a la complejidad de fabricación de las unidades experimentales y al poco personal disponible para su fabricación (3 personas), lo que impidió la toma de temperatura a una misma hora de todas las unidades experimentales. Entre las 10 y las 20 horas de fabricación, la temperatura interna de los microsilos era muy similar a la temperatura externa lo que indica que cuando se realizó la toma de la temperatura interna de los microsilos aun la actividad química y bacteriológica dentro del microsilos no era suficiente como para incrementar la temperatura, aunque en la literatura se reporta que el pico de temperatura ocurre entre los 5 y 6 días en ensilajes tipo bunker o trinchera, para la determinación de este pico a nivel de microsilos lo más recomendable es darle un seguimiento diario al comportamiento de la temperatura ya que por el nivel de sellado y compactación de los microsilos este comportamiento puede ser muy variable. Por otro lado no se determinaron diferencias significativas ($P = 0,5025$) por efecto de tratamientos (Cuadro 8).

Tampoco hubo efectos significativos de factores individuales o de sus interacciones (Cuadro A3).

La respiración de las plantas después de cortadas y la acción de bacterias consumidoras de carbohidratos son los factores que producen un aumento considerable en la temperatura dentro del silo. Tanto el pico de temperatura como el de acidez pueden producirse entre los 5 y 6 días de sellado el silo y va a ser influenciado por la cantidad de carbohidratos solubles y por el nivel de oxígeno atrapado en la masa ensilada. Se debe compactar el material para eliminar el oxígeno atrapado pero un exceso de compactación puede evitar el incremento en la temperatura necesario para eliminar bacterias no deseables dentro de silo.

4.1.4 Producción de total de efluente a los 30 días

La producción total de efluente por tratamiento a lo largo del periodo de fermentación presentó diferencias significativas ($P = 0,0024$; Cuadro A1) por efecto de tratamiento. El estudio detallado de este efecto reveló que solo el factor “uso de aditivo” ejerció un efecto significativo ($P < 0.0001$; Cuadro A3). Los tratamientos con aditivo melaza-inoculante presentaron un valor promedio de 57,4 ml de efluente, mientras de los tratamientos sin aditivo presentaron un valor promedio de 17.2 ml (Cuadro 8). El error estándar de esta variable fue bastante alto, con un 11,05 (Cuadro 8 y Cuadro A1) lo que pudo contribuir a la no detección de diferencias significativas entre los niveles de los otros factores evaluados. Los resultados obtenidos demuestran que la adición de líquido proveniente tanto de la melaza como del agua usada como vehículo para el inoculante BAL contribuyó significativamente a incrementar la cantidad de efluente producido. De acuerdo con esto una de las desventajas de incorporar estos aditivos al ensilaje es el incremento de la humedad dentro del silo y por ende un aumento en las pérdidas por lixiviación, lo que podría ocasionar un lavado de algunos nutrientes como vitaminas, minerales además del porcentaje de materia seca que podría perderse en este lixiviado.

4.2 Variables indicadoras del valor nutricional

Como variables indicadoras del valor nutricional del ensilado se seleccionaron la materia seca (MS), proteína cruda (PC), energía digestible (ED), fibra ácido detergente (FAD) y fibra neutro detergente (FND).

4.2.1 Contenido (%) de Materia Seca (MS)

En general los contenidos de materia seca de los ensilajes fueron mayores que los de las materias primas (Cuadro A4). También hubo efecto ($P=0,0001$; Cuadro A1) de tratamiento sobre esta variable. El estudio detallado del efecto de tratamientos reveló que existieron efectos simples de los factores “tipo de gramínea” y “uso de aditivo” ($P<0,0001$ y $P=0,032$, respectivamente; Cuadro A3). En general, los ensilajes con maíz presentaron menores contenidos de MS que aquellos con sorgo (22,4% vs. 25,3%) y los que no tuvieron aditivos también presentaron menores contenidos de MS que aquellos a los que se les adicionó melaza-inoculante (Cuadro 9). Estos resultados son congruentes con el mayor contenido de MS existente en el sorgo y en el segundo caso por el alto contenido de materia seca de la melaza. Otro factor que pudo incidir en este resultado según Kearney citado por Vargas et al. (1981), es el efecto higroscópico de la melaza. Este efecto podría provocar la salida del líquido intracelular y por ende la concentración de sólidos en el ensilaje. Esto también explicaría parcialmente la mayor liberación de efluente ocurrida en los tratamientos con melaza-inoculante (Cuadro 8). El aparente incremento en porcentaje de MS del producto final ensilado respecto a las materias primas, es debido principalmente a la pérdida de fluidos a través del proceso de fermentación. No fue posible cuantificar la cantidad de materia seca perdida a causa del proceso fermentativo y la liberación de efluentes por una omisión en el planteamiento de la metodología de evaluación de esta variable. En el Apéndice 1 se ha incluido una propuesta del formulario para toma de datos corrigiendo la deficiencia antes señalada.

Cuadro 9. Comportamiento de las variables indicadoras del valor nutricional según el tratamiento.

Tratamiento (*)	Materia Seca (%)	Proteína Cruda (%)	Energía Digestible (Mcal)	Fibra Ácido Detergente (%)	Fibra Neutro Detergente (%)
(2)CS50A1	22,5bc(**)	11,4a	2,48a	37,7d	58,3c
(1)CS25A1	22,5bc	9,9bc	2,51a	37,4d	57,9c
(4)SrS50A1	25,9a	10,1bc	2,42b	40,4c	57,6c
(3)SrS25A1	26,2a	7,4d	2,36c	41,7bc	62,0ab
(6)CS50A0	22,1c	10,8ab	2,06e	40,4c	59,7bc
(5)CS25A0	22,6bc	9,9bc	2,48a	40,0c	62,2ab
(8)SrS50A0	23,8b	9,5c	2,35cd	43,2b	58,5c
(7)SrS25A0	25,4a	8,2d	2,30d	44,0a	63,8a
Error Standard	0,71	0,6	0,03	0,93	1,51

(*) Clave de nomenclatura de tratamientos: Número entre paréntesis representa el numero de tratamiento, C=maíz, S25=soya 25 %, S50=soya 50%, MB1=Uso de aditivo Melaza-Inoculante presente, MB0=No uso de aditivo Melaza-Inoculante.

(**) Medias con diferente letra en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0.05$)

4.2.2 Proteína Cruda (PC)

Existió efecto de tratamiento sobre esta variable ($P = 0,0001$; Cuadro A1 y Cuadro A2). La PC varió alrededor de 4 puntos porcentuales entre el tratamiento con el mayor y menor valor (CS50A1= 11,4% vs. SrS50A1 = 7,4%) como se muestra en el Cuadro 9.

Se presentaron efectos simples de los factores “gramínea” y “nivel de soya” (Cuadro A3). Los tratamientos con maíz mostraron un contenido promedio de PC de 10,5%, mientras que los que contenían de sorgo presentaron un valor promedio de 8,9% PC. La adición de 50% de soya a la mezcla también contribuyó con los mayores valores de PC (10,5%), comparados con los tratamientos con 25% soya (8,9% PC).

La diferencia entre el nivel PC de ensilajes con sorgo ó con maíz obedece al contenido de esta fracción en las materias primas respectivas. Así, el sorgo fresco presentó 7,8% PC mientras que el maíz fresco contenía 13,2% PC, prácticamente igual que el valor mostrado por la soya fresca (13,6%). Llama la

atención el bajo valor de PC de la soya lo cual se debió a que un alto porcentaje (53,49% Cuadro 10) de la planta estaba constituido por el tallo cuyo contenido de proteína fue bajo (8,2%; Cuadro A4). No obstante lo anterior, se presentó consistentemente un mayor valor en el contenido de PC en aquellos tratamientos con soya 50% respecto a aquellos con soya 25%. La mayor adición de soya no afectó negativamente el proceso fermentativo, hecho que se reflejó en el nivel de acidez (pH) de los tratamientos con 50% soya. Se sugiere que con la adición de soya a niveles del 50% y con contenido de PC similares a los mostrados en este estudio, se podría mejorar la calidad nutritiva del producto final ensilado cuando se usan materiales pobres en proteína como el sorgo y otros pastos tropicales, sin que esto influya negativamente en el proceso fermentativo.

Cuadro 10. Proporción componente/planta entera de soya y su contenido de proteína cruda.

Componente de la planta	Relación (%)	Contenido de PC (%)
Hojas	17,2	20,2
Vainas	29,31	25,5
Tallo	53,49	8,2

4.2.3 Energía Digestible (ED)

Los contenidos de ED fueron afectados por tratamiento ($P < 0,0001$; Cuadro 9, Cuadro A1 y Cuadro A2), pero además se obtuvieron efectos de interacciones dobles y triple ($P < 0.0001$) (Cuadro A3). Valores extremos de contenidos energéticos entre tratamientos estuvieron representados por CS50A1 con 2,50 Mcal/kg MS y CS50A0 con 2,06 Mcal/kg MS (Cuadro 9).

El estudio de las interacciones sugiere que:

Cuando la soya sustituyó el maíz en la mayor proporción (50%), el contenido energético del ensilaje disminuyó, pero el nivel de soya tuvo un efecto inverso sobre este parámetro en el caso de mezclas con sorgo (efecto significativo de la interacción “gramínea” x “nivel de soya” Cuadro A3 y Cuadro 11).

Cuadro 11. Efecto de la interacción doble “gramínea” x “nivel de soya” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje

Gramínea	Nivel de Soya	
	25	50
Maíz	2,48 a(*)	2,28 d
Sorgo	2,33 c	2,39 b

(*) Valores con letra diferente difieren estadísticamente ($P < 0,05$) según opción LSMEANS/PDIFF de SAS

El uso de aditivos (melaza-inóculo) ayudó a incrementar el nivel ED particularmente cuando se utilizó el máximo nivel de soya (efecto significativo de la interacción “aditivo” x “nivel de soya” Cuadro A3 y Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto de interacción doble “aditivo” x “nivel de soya” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje

Uso de aditivo	Nivel de Soya	
	25	50
Sin	2,39 c (*)	2,21 d
Con	2,42 b	2,46 a

(*) Valores con letra diferente difieren estadísticamente ($P < 0,05$) según opción LSMEANS/PDIFF de SAS

El uso de aditivos incrementó el contenido energético tanto en ensilajes de sorgo como de maíz, aunque el efecto fue más evidente en el caso del maíz (efecto significativo de la interacción “aditivo” x “gramínea” Cuadro A3 y Cuadro 13).

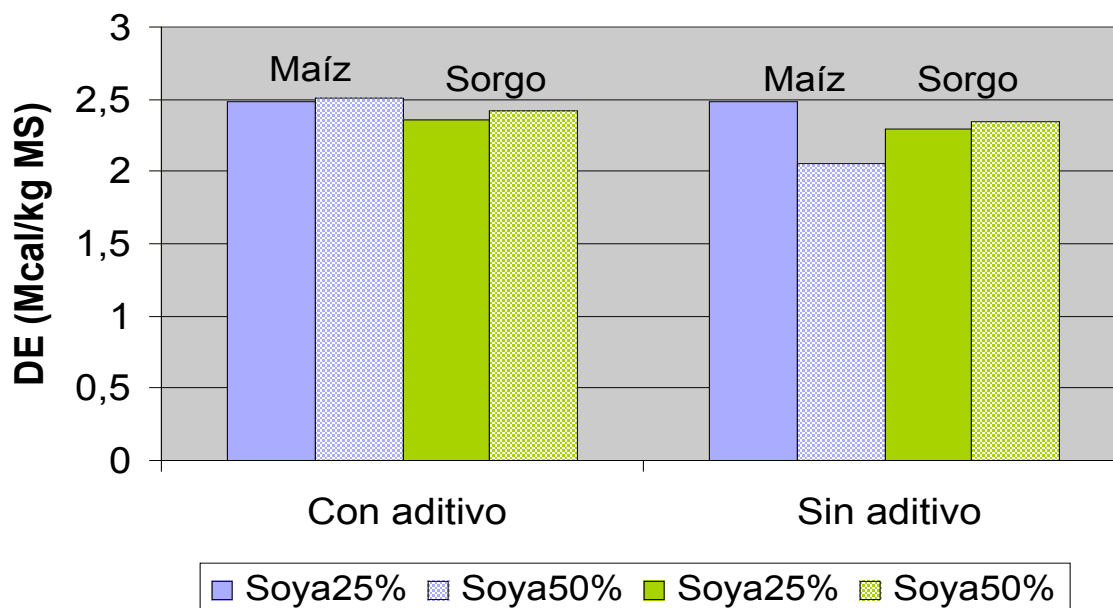
Cuadro 13. Efecto de interacción doble “aditivo” x “gramínea” en el contenido de ED (Mcal/kgMS) del ensilaje

Gramínea	Uso de aditivo	
	Sin	Con
Maíz	2,27 d (*)	2,49 a
Sorgo	2,33 c	2,39 b

(*) Valores con letra diferente difieren estadísticamente ($P < 0,05$) según opción LSMEANS/PDIFF de SAS

La interacción triple sugiere que en el caso de ensilajes de maíz, es necesario el uso de aditivos para mantener el nivel energético cuando la soya se usa a niveles de 50%. En los ensilajes de sorgo independientemente del uso de aditivo, el mayor uso de soya estuvo asociado con incrementos en el nivel energético (Fig. 5). El rol esperable de la melaza como fuente de carbohidratos solubles para microorganismos y la presencia de bacterias celulolíticas en el inóculo, capaces de fraccionar los carbohidratos de cadena larga como la celulosa y la hemicelulosa y mejorar su disponibilidad, no fue contundente en los resultados

obtenidos, con excepción del ensilaje de maíz y soya 50% (Fig. 5). Excluyendo este tratamiento (maíz-soya 50%), la adición del mayor nivel de soya estuvo



asociado con mayores niveles de ED tanto en ensilajes de sorgo como de maíz, tal como era esperable dado el mayor contenido de energía en la planta de soya respecto a las dos gramíneas (Cuadro A4).

Figura 5. Efecto de la interacción triple gramínea-soya-aditivo sobre la Energía Digestible (ED)

4.2.4 Fibra Neutro Detergente (FND)

La fibra neutro detergente (FND) fue significativamente afectada por tratamientos ($P = 0,0017$; Cuadro A1 y Cuadro A2). No se presentaron efectos simples debido al factor “gramínea”, pero si efectos de “nivel de soya” y “uso de aditivo” ($P=0,0007$ y $0,01$, respectivamente; Cuadro A3).

En general, el uso de soya 50% al igual que el uso de aditivo bajó el

contenido de FND del ensilaje (Cuadro 9). Vargas et al. (1981), concuerdan en que esta diferencia es atribuida al efecto del proceso de fermentación bacteriana sobre la fibra. La acción de las bacterias celulolíticas produce un desdoblamiento de ciertos componentes de la pared celular y por ende un aumento en la concentración de carbohidratos solubles reduciendo la fracción fibrosa tanto FND como FAD.

El efecto de la soya es atribuible al relativamente bajo contenido de FND en la materia prima respecto a las gramíneas (maíz y sorgo; Cuadro A4).

Los altos valores de FND afecta negativamente el consumo de alimento por parte del animal y disminuyen la tasa de pasaje provocando una disminución en la calidad nutritiva. Los valores obtenidos en el ensilaje se mantuvieron cercanos a los de las materia primas originales (Cuadro A4), aunque con una ligera reducción de la FND en el ensilaje.

4.2.5 Fibra Ácido Detergente (FAD)

La fibra ácido detergente fue afectada por el factor tratamiento ($P < 0,0001$) (Cuadro A3). El estudio detallado reveló efectos significativos del factor “gramínea” ($P < 0.0001$) y “aditivo” ($P < 0,0001$) (Cuadro A5). En general, los ensilajes con maíz presentaron menos concentraciones de FAD que los de sorgo (38.9 y 42.3% FAD, respectivamente). El uso de aditivos también contribuyó a disminuir el contenido de FAD. Ensilajes sin uso de aditivo presentaron valores promedio de 41.9 % FAD, mientras que cuando se uso melaza-inóculo los valores fueron de 39.3% FAD. La FAD está inversamente correlacionada con la digestibilidad. Mayor concentración de carbohidratos solubles en el maíz y la acción fibrolítica de las bacteria en el inóculo parecieran contribuir a obtener ensilajes con contenidos relativamente menores de FAD y por tanto presumiblemente más digestibles.

Las diferencias en contenidos de fibra entre maíz y sorgo no parecieran ser lo suficientemente importantes como para representar diferencias en los

procesos fermentativos. Es por ello que en ambos casos los ensilajes obtenidos fueron buenos en cuanto a su contenido de FAD.

V. CONCLUSIONES.

Bajo las condiciones en las que se realizó este estudio se concluye que:

1. La incorporación de un aditivo como Melaza (1,25%)-Inoculante podría ser beneficioso para la calidad del ensilaje ya que produce un aumento en el nivel de acidez dentro del silo, mejora el porcentaje de materia seca del ensilaje y reduce la fracción fibrosa del material ensilado, pero su uso puede ocasionar un aumento en la liberación de efluentes. Además el beneficio real va a depender de la combinación de materiales y las proporciones en que se usen para la fabricación del ensilaje.
2. El uso de la soya en proporciones hasta de 50% mejora el valor nutricional del ensilaje aportando una mayor concentración de proteína cruda y energía digestible sin afectar negativamente el proceso de fermentación, obteniéndose también ensilaje de excelente calidad organoléptica.
3. La mayor respuesta positiva en ED al uso del aditivo (melaza-inoculo) se obtuvo cuando se utilizó el mayor nivel de soya (50%) y en el ensilaje de maíz.
4. Ensilajes a base de sorgo se ven más beneficiados que los de maíz, en su contenido de energía digestible cuando se usa una alta proporción de soya

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso en pequeñas proporciones (1,25% BV) de melaza acompañada de algún inoculante biológico para mejorar los niveles de acidez dentro del silo. Además la melaza es fuente de materia seca y los microorganismos son desdobladores de la pared celular por lo que se pueden obtener múltiples beneficios de esta combinación.
2. Se recomienda el uso de soya hasta una proporción de 50% (BV) de acuerdo a los hallazgos de este estudio como mejorador del valor nutricional del ensilaje especialmente cuando se ensila sorgo
3. Para futuras investigaciones se recomienda un replanteamiento de la metodología de estimación de las pérdidas de materia seca ocurridas durante el proceso de fermentación mediante el pesaje del material colocado en los microsilos así como la totalidad del material resultante.
4. También se recomienda para la evaluación de la variable temperatura la toma de ésta durante un periodo determinado que cubra al menos los primeros 5 días

VII. LITERATURA CITADA

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of analysis. 15 ed. Arlington, Virginia, USA. 69 p.

Bertoia, L. 2004. Algunos Conceptos Sobre Ensilaje. Sitio Web. Consultado 28 Set. 2004. Documento en línea. Disponible en <http://mejorpasto.com.ar/UNLZ/2004/TX3.htm/>

Combellas, J. 1998. Alimentación de la vaca de doble propósito y sus crías. Venezuela. Fundación INLACA. 196 p.

Cowan, T. 2004 Estudio 3.0 - Usó de forrajes ensilados en sistemas de producción animal en gran escala. Sitio Web. Gatton, Australia. Consultado 28 Set. 2004. Documento en línea. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s05.htm#TopOfPage>

Ekern, A; Vik-Mo, L. 1983. Forrajes conservados como alimento para vacas lecheras. In Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster, W; Swan, H. 1ed en español. México DF., México. Editorial AGT editor S. A. p. 235-268.

Gutierrez, et al. 2003. Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. Revista Agronomía Costarricense (27)1: 79-89p.

Heinrichs, J. 2004. Silage production/management for dairy feeding programs. Sitio Web. Dairy and Animal Science Penn State University, USA: Consultado 28 Set. 2004. Documento en línea. Disponible en <http://www.das.psu.edu/dairynutrition/education/workshop2003/>

Hiriart, M. 1998. Ensilados: Procesamiento y Calidad. 1 ed. México DF, México. Editorial Trillas. 95 p.

McDonald, P. y Whittenbury, R. 1970. Pérdidas Durante el Ensilado. In Conservación de Forrajes. Wilkins, R. Zaragoza, España. Editorial Acribia. p. 106-116.

Mühlbach, P. 2004 Estudio 3.0 – Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de forrajes tropicales. Sitio Web. Gatton, Australia. Consultado 28 Set. 2004. Documento en línea. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/X8486S/x8486s0b.htm>

Muslera, E; Ratera, C. 1983. Praderas y Forrajes: Producción y Aprovechamiento. Madrid, España. Editorial Mundi-Prensa. 702 p.

National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirement for dairy cattle. Nacional Academy. 381 p.

Peñagaricano, J; Arias, W; Llana N. 1977 Ensilaje. Montevideo, Uruguay. Editorial Hemisferio Sur. 344 p.

Raymond, F; Shepperson, G; y Waltham, R. 1977. Forraje: Conservación y Alimentación. Trad. C. Bernat. 1 ed español. Barcelona, España. Ediciones GEA. 280 p.

Rojas A. 1999a. Estándares de calidad del ensilaje. In Seminario Magistral: Estrategias de Alimentación de la Vaca Lechera en Verano. Auditorio de la Facultad de Agronomía de la UCR. Memoria. San José, Costa Rica. s.e. s.p.

Rojas A. 1999b. Producción, costo y utilización de ensilajes en el ganado lechero. In Seminario Magistral: Estrategias de Alimentación de la Vaca Lechera en Verano. Auditorio de la Facultad de Agronomía de la UCR. Memoria. San José, Costa Rica. s.e. s.p.

Thomas, P; Chamberlain, D. 1985 El ensilaje como alimento. In Ensilaje para producción de leche. Rook, J; Thomas P. Montevideo, Uruguay. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur SRL. p. 67-110.

Thomas, P; Morrison, I. 1985 Aspectos Técnicos del Proceso de Ensilaje.

In Ensilaje Para Producción de Leche. Rook, J; Thomas P. Montevideo, Uruguay. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur SRL. p. 14-39.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Cornell University, A Laboratory Manual for Animal Science.

Vargas, et al. 1981. Estudio sobre los cambios físico-químicos durante la fermentación del pasto elefante en microsilos de laboratorio con tres niveles de melaza. Revista Agronomía Costarricense (5)1-2: 121-125p.

Vélez, M. 1997. Producción de Ganado Lechero en el Trópico. 2 ed. Tegucigalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Zootecnia, Zamorano, Honduras. 189 p.

Watson, S; Smith, A. 1984. El Ensilaje. Trad. R. Vera; Q. Zapata. 9 ed español. México D. F. México. Editorial Continental. 183 p.

Weiss, W. 1999. Energy prediction equation for ruminant feeds. In: Proceedings Cornell Nutrition Conference. Ronchesteer, N. Y, USA. 176-185p.

VIII. ANEXOS

Composición nutricional, Análisis de Varianza y análisis de efectos de fuentes de variación se presentan a continuación:

Cuadro A1. Valor de la probabilidad (P) para el efecto de tratamiento según Análisis de Varianza para cada variable evaluada

Variable	Valor de P	Error Standard
Temperatura	0,5025	0,0837
Nivel de acidez (pH)	0,0005	0,09014
Efluente	0,0024	11,0551
Materia Seca (MS)	< 0,0001	0,5018
Energía Digestible (ED)	< 0,0001	0,01824
Proteína Cruda (PC)	< 0,0001	0,4277
Fibra Ácido Detergente (FAD)	< 0,0001	0,6551
Fibra Neutro Detergente (FND)	0,0017	1,0701

(*) Valores de *P* menores a 0,05 indican diferencias significativas para cada fuente de variación