

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EFEECTO DEL TIPO DE INOCULANTES SOBRE LA
FERMENTACIÓN EN EL ENSILAJE DE MAÍZ.**

POR:

SALVADOR ORDAZ PUGA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2014

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EFFECTO DEL TIPO DE INOCULANTES SOBRE
LA FERMENTACIÓN EN EL ENSILAJE DE
MAÍZ**

POR:

SALVADOR ORDAZ PUGA

ASESOR PRINCIPAL

DR. PEDRO ANTONIO ROBLES TRILLO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

MCV. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA JUNIO 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EFFECTO DEL TIPO DE INOCULANTES SOBRE LA FERMENTACIÓN
EN EL ENSILAJE DE MAÍZ**

TESIS POR:

SALVADOR ORDAZ PUGA

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como para
obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**DR. PEDRO ANTONIO ROBLES TRILLO
PRESIDENTE**

COLABORADORES

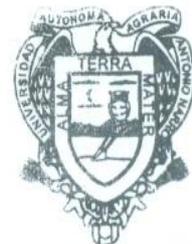
DR. PEDRO CANO BÍOS.

DR. FRANCISCO GERARDO VELIZ DERAS

DR. RAFAEL RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

ING. SALVADOR ORDAZ VARGAS

MCV. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EFFECTO DEL TIPO DE INOCULANTES SOBRE LA FERMENTACIÓN
EN EL ENSILAJE DE MAÍZ**

TESIS POR:

SALVADOR ORDAZ PUGA

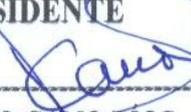
Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como para
obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

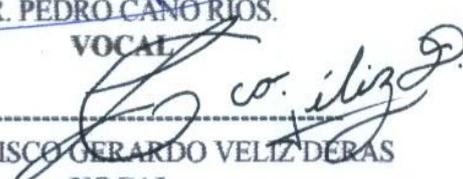
JURADO:



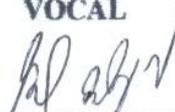
DR. PEDRO ANTONIO ROBLES TRILLO
PRESIDENTE



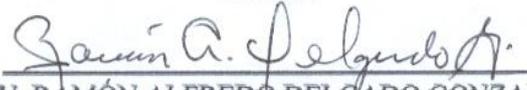
DR. PEDRO CANO RIOS.
VOCAL



DR. FRANCISCO GERARDO VELIZ DERAS
VOCAL



ING. SALVADOR ORDAZ VARGAS
VOCAL



MCV. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO 2014

Agradecimientos

A *mi familia*, a mi madre la *Sra. Yolanda Puga Torres*, gracias mamá por ser mi guía y un apoyo incondicional durante estos años, por enseñarme que la familia es lo primero; gracias por ser el pilar que sostiene nuestra familia, a *mi papá el Ing. Salvador Ordaz Vargas*, gracias papá por sembrar en mi el amor por el campo, por ser mi consejero y amigo, gracias por compartir tus conocimientos conmigo y por enseñarme a disfrutar el trabajo, gracias por cada uno de tus consejos y “dichos” los llevaré conmigo toda la vida; a mis hermanos *Mariana y Sair*, gracias hermanos por su apoyo y por hacer más fáciles mis días de estudiante, gracias a ustedes soy el hermano mayor de nuestra familia pero creo que me han enseñado más ustedes de lo que les he podido enseñar yo, gracias por eso; espero el día en el que me nombren en su trabajo de tesis háganme sentir más orgulloso de ustedes.

A mis tíos *Cecilia Ordaz y Jorge Salcido*, les agradezco que siempre hayan creído en mí, gracias por el inmenso apoyo que me brindaron desde niño, gracias por ser mis consejeros y mis amigos, esto es fruto de algo con lo que ustedes comenzaron hace mucho tiempo.

A Dios, por darme salud, paciencia y sabiduría durante el desarrollo de este proyecto y a lo largo de mi carrera.

A la empresa *Beta Santa Mónica*, a su director el *Ing. Gustavo Díaz de León* y al *Ing. José Antonio Muñoz* por abrirme las puertas para llevar a cabo este proyecto, gracias por el impulso que le han dado a mi vida profesional, las enseñanzas, los viajes, gracias por las buenas experiencias.

A la *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* mi casa de estudios durante cinco años y a todo el personal docente que fue parte de mi formación profesional; en especial a las personas que hicieron posible este trabajo, el *Dr. Pedro Antonio Robles Trillo*, gracias por su paciencia y por su dedicación en este proyecto, gracias por todos los consejos, enseñanzas y por la amistad que tenemos desde hace ya algunos años, al *Dr. Pedro Cano Ríos*, infinitamente agradecido, es un honor el que haya participado en este proyecto, gracias por los consejos y aportaciones a este trabajo, gracias por su inquebrantable amistad y aprecio para conmigo y mi familia.

Dedicatoria

Esto es para ti mamá, gracias por hacerme un hombre de bien, por educarme como lo has hecho, este trabajo es tuyo, es el fruto de muchos años, gracias por alentarme a ser mejor persona y profesionista; gracias por todos los momentos que me has demostrado lo fuerte y sabia que eres.

A mi papá el Ing. Salvador Ordaz Vargas, este trabajo es tanto mío como tuyo, gracias por cada momento que estuviste guiándome en este proyecto, sin ti esto no hubiera sido posible, este trabajo es el fruto de varios años de trabajo, de los viajes; especialmente de uno, gracias por compartir esa y muchas experiencias inolvidables conmigo.

A la familia Ordaz Bernal y Ordaz Salcido, este es el primero de muchos frutos en mi carrera profesional, se los comparto y les agradezco por cada momento, por cada día que han estado para mi.

A mis abuelos, Ángel, Yolanda, Salvador y Rita por regalarme a los mejores padres del mundo, sin ustedes hoy no estaría escribiendo esto.

A mis amigos, los hermanos que escogí, Cesar, Héctor, Carlos, Luis; gracias por su amistad, les comparto este logro en mi vida profesional, les deseo mucho éxito y se que la vida nos tiene preparadas cosas aun mejores. Gracias amigos.

A mis amigos, Sofía, Michelle, Damián; gracias por los momentos inolvidables, por los retos superados y las vivencias en nuestra ALMA TERRA MATER, esto también es para ustedes, siempre fuimos y seremos el mejor equipo que haya existido en Narro Laguna.

A la Ing. Rocío Maeda Reyes, gracias por tu apoyo en la primera etapa de este proyecto; te comparto este logro, gracias por tu empeño y dedicación.

Al **equipo de ensilajes** de *Beta Santa Mónica*, ustedes fueron la fuerza que hizo posible este trabajo, gracias muchachos y fue un honor ser parte de ese equipo durante varios años.

Al MVZ Aurelio Torres, Jesús Torres, Jonathan, Rubén, Ileana mi equipo de trabajo durante mis prácticas profesionales, con este trabajo agradezco todas sus enseñanzas y apoyo durante este proyecto y en mi estancia en el Establo Santa Teresa.

“A todos los que siempre han estado, los que ya no están y los que están por venir” ...

INDICE

1	RESUMEN	viii
2	INTRODUCCIÓN	1
3	REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1	Importancia del ensilaje como método de conservación de forraje.....	3
3.2	El ensilaje de maíz.....	4
3.3	Ingeniería del ensilaje.....	4
3.3.1	Tipos de silos.....	4
3.3.2	Silos horizontales.	5
3.3.3	Silos trinchera.....	5
3.3.4	Silos bunker.....	5
3.3.5	Silos pastel.....	6
3.3.6	Silos empacados.	6
3.3.7	Llenado de silos.....	7
3.3.8	Cosecha	7
3.3.9	Transporte.....	9
3.3.10	Sellado.....	10
3.4	El proceso de ensilaje y sus fases.....	10
3.4.1	Fase aeróbica.	11
3.4.2	Fase de fermentación.....	11
3.4.3	Fase estable	11
3.4.4	Fase de alimentación o fase de deterioro.....	12
3.5	Calidad del ensilaje.	13
3.5.1	Definición de los valores en un análisis bromatológico para ensilaje de maíz. ..	13
3.5.2	Humedad/Materia Seca (MS).....	14
3.5.3	Proteína cruda (PC).	15
3.5.4	Fibra detergente ácido (ADF).....	15
3.5.5	Fibra detergente neutro (NDF).	16
3.5.6	NDF digestible en 48 (dNDF 48).	16
3.5.7	Lignina.	16
3.5.8	Lípidos totales.	17
3.5.9	Digestibilidad del NDF (NDFD).....	17
3.5.10	Cenizas.	17
3.5.11	Minerales.....	17

3.5.12	Nutrientes digestibles totales (TDN).....	17
3.5.13	Energía neta de lactancia (NE _l).....	18
3.6	Evaluación de los ensilajes.....	18
3.6.1	Áreas del silo a muestrear.	19
3.6.2	Determinación del porcentaje de <i>materia seca</i> o humedad del ensilaje.....	19
3.6.3	Determinación de pH.	20
3.6.4	Temperatura.	20
3.6.5	Prueba de densidad del ensilaje.....	20
3.6.6	Tamaño de partícula.	21
3.6.7	Ensilajes con olores y sabores anormales.....	23
4	Microflora del ensilaje	23
4.1	Microorganismos deseables, bacterias productoras de ácido láctico.	24
4.2	Microorganismos indeseables.	25
4.2.1	Levaduras	25
4.2.2	Enterobacterias	26
4.2.3	Clostridios	27
4.2.4	Bacterias ácido acéticas.....	29
4.2.5	Bacilos.....	29
4.2.6	Mohos.....	30
4.2.7	Listeria.....	32
4.3	Aditivos para el ensilaje.	33
4.4	Aditivos que mejoran la fermentación del ensilaje.	34
4.5	Aditivos inhibidores del deterioro aeróbico.	35
4.6	Mezclas de aditivos	36
4.6.1	Aditivos inhibidores de la fermentación el ensilaje.	37
4.7	Ácidos del ensilaje.	38
4.7.1	Ácidos grasos volátiles:.....	38
4.7.2	Ácido láctico:	38
4.7.3	Ácido acético.....	38
4.7.4	Ácido propionico.....	38
4.7.5	Acido butírico.....	39
4.7.6	Etanol	39
4.7.7	Nitrógeno amoniacal	39
4.8	Conteo de microorganismos aeróbicos.....	40
4.8.1	Levaduras	40

4.8.2	Mohos.....	40
4.8.3	Bacilos.....	40
4.9	Calidad de la fermentación.....	41
4.9.1	pH.....	41
4.9.2	Capacidad búfer.....	42
4.9.3	Ácido láctico.	42
4.9.4	Ácido acético.....	42
4.9.5	Acido butírico.....	43
4.9.6	Amoniacó.	43
4.9.7	Etanol.	44
4.10	Estabilidad aeróbica.	45
4.11	Inoculantes	45
4.11.1	Inoculantes homofermentadores.....	46
4.11.2	Inoculantes heterofermentadores.....	47
4.11.3	Diferencia entre inoculantes heterofermentadores y homofermentadores.	48
4.12	Lactobacillus buchneri.	49
4.13	Combinaciones de inoculantes.....	50
4.14	Microorganismos ideales en un inoculante.	50
4.15	Dosis.....	50
5	Materiales y métodos.	52
5.1	Inoculantes, dosis y dilución.	52
5.2	Elaboración de los silos pastel.	53
5.2.1	Capacidad y dimensiones de los silos pastel.	54
5.2.2	Apisonado.....	54
5.2.3	Sellado.....	54
5.3	Monitoreo de temperatura.	54
5.3.1	Sensores de temperatura (Tiny-Tag),	54
5.3.2	Termómetro digital.....	55
5.4	Apertura de los silos pastel.....	56
5.4.1	Eliminación de material deteriorado en la superficie de los silos pastel.	56
5.5	Fase de alimentación (feed-out).	56
5.5.1	Manejo de la cara de los silos pastel.	56
5.5.2	Densidad de los silos pastel.....	57
5.6	Toma de muestras.....	58
5.6.1	Muestreo en la fase de llenado	58
5.6.2	Muestreo en la fase estable del ensilaje:	58

5.6.3	Muestreo en la fase de alimentación:	58
5.7	Evaluación de estabilidad aeróbica mediante análisis de perfil de fermentación.....	59
5.8	Análisis estadístico.....	60
5.8.1	Diseño experimental.....	60
5.8.2	Variables de medición.....	60
5.8.2	Análisis de los datos.....	60
6	Resultados y discusión.	61
	Conclusiones	64
7	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	65

Índice de cuadros y figuras.

Cuadro 1 Recomendaciones para el tamaño de partícula de forraje y RTM basado en tres experimentos usando vacas en lactancia temprana alimentadas con henilaje de alfalfa o ensilaje de maíz con o sin cascarilla de algodón.	22
Cuadro 2 Clasificación de los aditivos para ensilaje.	33
Cuadro 3 Concentraciones típicas de una fermentación común, productos finales en el ensilaje de maíz y en maíz con humedad alta.....	44
Cuadro 4 Hoja de cálculo adaptada de la desarrollada por la Universidad de Wisconsin (http://fyi.uwex.edu/forage/cs/).	57
Figura 1 Monitoreo de temperatura.....	55
Figura 2 Monitoreo de temperatura.....	55
Figura 3 Muestreo para obtener densidad	57
Grafica 1 Comportamiento de la temperatura de los silos pastel durante la fase de “alimentación” o “deterioro aeróbico” desde la hora cero (apertura) hasta las 72 horas (inicio del consumo).	63

1 RESUMEN

En este estudio se evaluó el desempeño de tres diferentes inoculantes en el ensilaje de maíz realizando 16 silos pastel con cuatro repeticiones por cada tipo de inoculante y testigo. El enfoque del estudio se centra en el efecto que tienen estos inoculantes sobre la estabilidad aeróbica.

Lo que se buscó al realizar este experimento es que al ensilar el maíz y utilizar inoculantes estos intervinieran de tal forma que se llevara a cabo una fermentación adecuada.

Mediante análisis de laboratorio (perfil de fermentación, bromatológicos), y mediciones de temperatura durante las cuatro fases del proceso de fermentación se observó el comportamiento de los diferentes inoculantes y cómo actúan sobre la calidad nutricional y la calidad de fermentación del ensilaje.

PALABRAS CLAVE: Ensilaje de maíz, inoculantes, fermentación, estabilidad aeróbica, calidad.

2 INTRODUCCIÓN

El ensilado de maíz (*Zea Mays*) sirve como un forraje de alta energía para las vacas lecheras. Esto es muy importante para los hatos altamente productivos y para establos que tienen problemas para producir o comprar heno o forraje de alta calidad. El ensilaje de maíz, con su relativamente alto contenido de energía, está bien adaptado para su uso en raciones de bajo costo para la engorda de ganado y para el ganado lechero. El ensilaje de maíz requiere menos mano de obra por tonelada producida que muchos otros cultivos de forraje. Puede extender el período de cosecha y proporcionar una oportunidad para el salvamento de maíces estresados o dañados. Además, un ensilado de maíz eficiente puede reciclar nutrientes para las plantas, especialmente grandes cantidades de N y K, aun así el maíz ensilado tiene algunas desventajas y una de las principales es que es un producto difícil sacar al mercado ya que se dificulta el transporte a áreas alejadas por el deterioro que sufre al ser expuesto al oxígeno (*Crops and Soils (Penn State Extension), 2014*).

Ensilar es una actividad importante para preservar la calidad de los forrajes. Aunque la fermentación del ensilaje ocurre naturalmente bajo condiciones anaeróbicas debido a la población natural de bacterias en la planta, la velocidad y eficiencia en la fermentación (disminución del pH) es variable, dependiendo del número y tipo de bacterias productoras de ácido láctico en el cultivo. La rapidez con que disminuye el pH afecta la cantidad de azúcares utilizados por las bacterias, la preservación de la proteína verdadera, la cantidad de ácidos láctico, acético, etanol, y finalmente la calidad del ensilado (*Contreras-Gevea y Muck, 2009*).

Los inoculantes microbiales contienen bacterias seleccionadas para dominar la fermentación de los cultivos en el silo. Los inoculantes están divididos en dos categorías dependiendo de cómo fermentan un azúcar común en la planta, la glucosa. Los homofermentadores producen solo ácido láctico y dentro de ellos se encuentran especies de *Lactobacillus* como *Lactobacillus plantarum*, y especies de *Pediococcus* spp, y *Enterococcus* spp. La otra categoría, los heterofermentadores producen ácido láctico, ácido acético o etanol, y bióxido de carbono. *Lactobacillus buchneri* es el mejor ejemplo de un heterofermentador (*Contreras-Gevea y Muck, 2009*).

La estabilidad aeróbica es un término para definir la cantidad de tiempo que un ensilaje permanece frío y no sufre deterioro después de estar expuesto al aire. Cuando la fermentación está completa y el ensilaje es expuesto al aire durante la fase de almacenamiento y alimentación, el calentamiento en el silo es usualmente iniciado por levaduras y en menor medida por bacterias. La exposición al aire es la primer parte de una cadena de reacciones que resultan en deterioro del ensilaje (*Kung Jr, 2010*).

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia del ensilaje como método de conservación de forraje.

El ensilado es un método de conservación para los cultivos húmedos, que consiste en una fermentación ácido-láctica esencialmente, es una buena opción para sostener la producción continua de leche y carne siempre y cuando el proceso sea óptimo y de costo adecuado (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

El alimento natural para el ganado y otros animales domésticos lo constituyen los pastos y los forrajes verdes. Sin embargo, debido a las condiciones climáticas, en casi ninguna parte del mundo la producción de forrajes es constante durante todo el año. En las zonas templadas, el crecimiento de las plantas se detiene durante los meses de invierno como consecuencia de las bajas temperaturas, y en las zonas tropicales, durante los periodos de sequía. En algunas zonas el exceso de humedad puede ser limitante para la producción de forrajes (*Chaverra Gil y Bernal Eusse, 2001*).

En los países con condiciones climáticas extremas, se suplementa el pastoreo de los animales o se reemplaza con forrajes conservados, hasta por periodos de seis meses; lo cual significa que en los meses de crecimiento favorable de los pastos, se requiere producir el alimento necesario para todo el año, si se requiere mantener el hato y los niveles de producción (*Chaverra Gil y Bernal Eusse, 2001*).

El objetivo fundamental de conservar los pastos y los cultivos forrajeros temporales es el de cosechar y almacenar su biomasa, con pérdidas mínimas de nutrientes, aunque por lo general el valor nutricional de los materiales conservados es más bajo que el del cultivo en el momento de la cosecha. La conservación de los forrajes está asociada a gastos de energía de forma directa y a la utilizada en la mecanización de la cosecha, el acondicionamiento del material y el suministro del ensilaje a los animales (*Chaverra Gil y Bernal Eusse, 2001*).

3.2 El ensilaje de maíz.

El ensilaje de maíz es un componente importante en las raciones del ganado bovino lechero, ya que es un forraje de alto rendimiento energético (*Goodrich, R.D y J.C. Meiske. 1985*).

En México los ensilajes de maíz generalmente tienen un valor energético bajo en comparación a los ensilados en Estados Unidos de América y Europa (*Chalupa W., 1995*). Lo anterior se atribuye al énfasis en el rendimiento de forraje por unidad de superficie, sin considerar la calidad nutritiva. La selección de híbridos es fundamental para mejorar esa situación; existe suficiente evidencia de diferencias entre híbridos en contenido de fibra y digestibilidad de la materia seca (*Faz Contreras et al., 2001*).

El incremento de la productividad del maíz forrajero sin disminuir la calidad del forraje es determinante para eficientar la producción de leche consecuentemente con el aumento de la cantidad de ensilaje de calidad en las raciones para la alimentación del ganado, se reducen los costos de producción sin disminuir la producción de leche. (*Sánchez, Mascorro y Amaya, 2000*)

3.3 Ingeniería del ensilaje

3.3.1 Tipos de silos

Existen varios métodos para almacenar el forraje, estos métodos pueden ayudar a terminar satisfactoriamente el proceso de ensilaje. (*Weinberg y Ashbell, 2003*)

El propósito de estos métodos de almacenamiento es prevenir en un alto porcentaje las pérdidas que ocurren durante la fermentación del ensilaje tratando de frenar la entrada de oxígeno, limitar esta entrada de oxígeno al forraje resultara en un alimento de calidad con muy poca o nula contaminación por mohos u otro tipo de contaminantes, siempre hay que tener en mente que para obtener un ensilaje de buena calidad hay muchos puntos que se tienen que cuidar; escoger el tipo de silo es solo uno de los puntos

importantes, todos los métodos tienen ventajas y desventajas y tienen grandes diferencias en cuanto a sus costos. (Weinberg y Ashbell, 2003)

Algunos de los métodos para almacenar ensilaje incluyen, los silos horizontales (silos trinchera y silos bunker), silos empacados, y silos pastel (Weinberg y Ashbell, 2003)

3.3.2 Silos horizontales.

Hay dos tipos de silos horizontales, los silos por debajo del nivel del suelo (silos trinchera horizontales) y los que están a nivel del suelo (silos bunker). Los silos horizontales tiene algunas ventajas, pueden almacenar grandes cantidades de forraje, pueden ser llenados con equipo convencional que haya en el establo, requiere menos energía para mover forraje y ofrece mejores tasas de llenado (Tremblay, 2014).

3.3.3 Silos trinchera.

Estos generalmente son excavados en una pendiente para favorecer el drenado y el acceso. En este tipo de silos se recomienda tener una entrada abierta durante el almacenamiento, y revisar a detalle las paredes de tierra (si es el caso) para evitar algún derrumbe antes del inicio o durante la fase de llenado (Tremblay, 2014).

3.3.4 Silos bunker.

Generalmente son hechos de concreto y las dimensiones pueden variar según las necesidades de cada productor, este tipo de silos tienen la ventaja de almacenar grandes cantidades de forraje, cuentan con un sistema de drenaje y además gracias a que ambos lados están abiertos, permite tener tasas de llenado más altas ya que si se cuenta con el equipo suficiente se pueden trabajar por dos flancos a la vez (Tremblay, 2014).

Una de las desventajas que tienen estos tipos de silos es que requieren de mayor manejo al momento de sellar el forraje (Tremblay, 2014).

3.3.5 Silos pastel.

Los silos pastel son ideales para el almacenamiento de forraje inesperado en una explotación o para almacenar forraje cuando se carece de bunkers o cualquier otra estructura de almacenamiento (*Rankin M., 2014*).

Los silos pastel tienen muchas desventajas ya que generalmente son hechos en plataformas de tierra y esto favorece la contaminación del forraje durante la fase de llenado (*Tremblay, 2014*).

Para mejorar la calidad de los silos pastel pueden utilizarse llantas sobre el plástico para evitar entradas de aire.

El ancho y el largo de los silos pastel dependerá de la cantidad de forraje que se quiera almacenar, hacer un silo pastel largo previene grandes pérdidas por entrada de oxígeno ya que al momento de sellar con plástico este silo se vuelve más manejable, es importante cuidar la altura para que al momento de compactar el forraje, el tractor pueda subir por cualquiera de los flancos del silo pastel y no corra el riesgo de voltearse (*Rankin M., 2014; Tremblay, 2014*).

3.3.6 Silos empacados.

El henilaje o el empacado de silos es uno de los métodos de almacenamiento de forraje más utilizados, generalmente se usa con pastos o forraje con alta cantidad de humedad. El forraje es empacado con una bolsa plástica que impide la entrada de oxígeno (*Tremblay, 2014*).

Los sistemas de henilaje son muy flexibles, requieren menos inversión que otros sistemas de almacenamiento, menos personal y menos costos por combustible comparado con el ensilaje cortado, además ofrece una potencial reducción en pérdidas demateria seca y perdida por cuestiones climáticas. Sin embargo puede resultar caro

dependiendo de los costos del plástico que se necesita y si no se tiene un buen manejo de la bolsa al realizar el empaqueo ya que esta puede romperse y el proceso fracasará (*Rankin M., 2014; Tremblay, 2014*).

3.3.7 Llenado de silos.

El llenado rápido de los silos y la compactación adecuada son determinantes para obtener una excelente calidad en los silos; el compactado es sumamente importante para la exclusión del aire del silo que asegura un medio anaerobio donde los nutrientes son preservados, para esto se recomienda una densidad de empaque mínima del ensilado de maíz con una base seca de 225 Kg/m³ (*López y Ortega, 2006*).

El llenado debe ser tan rápido como sea posible para eliminar el aire de inmediato y minimizar las pérdidas que ocasiona la respiración de la planta y la actividad de los organismos aeróbicos, por ejemplo los silos tipo bunker son llenados en capas colocadas una sobre otra, hasta que el silo alcanza su capacidad y el ensilado es inclinado para facilitar el drenado por la lluvia y reducir la superficie expuesta al aire (*López y Ortega, 2006*).

La compactación es efectuada con tractores que ruedan hacia adelante y hacia atrás continuamente durante el llenado; la presión específica en las capas delgadas del forraje es determinante en el grado de compactación y depende de las características del tractor y velocidad. La profundidad del efecto de compactación que hace el tractor es de 20 a 40 cm., el bunker debe ser al menos dos veces más ancho que el tractor para asegurar que cada franja a lo largo del ensilado pueda ser compactada (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

3.3.8 Cosecha

Existen cultivos diferentes con diferentes prácticas al momento de la cosecha. El trigo por ejemplo es cosechado en la fase de masoso-lechoso con un contenido de materia

seca de 300g kg^{-1} y está sometido a un corto periodo de pre oreado antes de cosecharlo. Esta práctica intenta asegurar la mejor calidad nutricional y optimizar las propiedades de este cultivo para ensilarse. Además cosechar y cortar simultáneamente puede aminorar considerablemente los costos en el proceso de cosecha esto podría resultar en una apreciable pérdida de grano por la agresiva rotación de los discos al cortar. Los cereales de granos pequeños son susceptibles a grandes pérdidas de grano porque sus características de flujo son distintas y conducen a que se pierdan estos granos durante el proceso. Las leguminosas se dejan secar intensivamente para producir heno con el fin de superar los problemas asociados con su alta capacidad buffer y los efectos subsecuentes que promueven una fermentación butírica por clostridios si se ensilan húmedas (Weinberg y Ashbell, 2003).

En el caso del maíz, en zonas áridas el contenido de materia seca es lo que ayuda a determinar el tiempo para el último riego, pero en zonas frías es determinado por las condiciones climáticas (Weinberg y Ashbell, 2003).

Las cosechadoras de maíz son equipadas con un artefacto que tritura los granos (rolador) del maíz para incrementar la digestibilidad en el rumen (H. Honig, 1980).

En algunos casos (pastos húmedos y leguminosas principalmente) esta recomendado exponer al cultivo al sol (oreado) en el campo para obtener una materia seca adecuada necesaria para la fermentación deseada y para prevenir pérdidas por efluentes (Weinberg y Ashbell, 2003).

El oreado depende en gran parte de la radiación solar y para un oreado eficiente se recomienda esparcir la biomasa en lomillos anchos para incrementar la superficie de área expuesta al sol y así disminuir el espesor del cultivo (Weinberg y Ashbell, 2003).

En las áreas lluviosas como en el norte de Europa el oreado de los pastos húmedos no está recomendado ya que estos estarían expuestos y podrían ser dañados por las lluvias; si la mayoría de los tipos de pastos no son oreados podrían ocurrir pérdidas por exceso de humedad y por lo tanto una indeseable fermentación clostridial secundaria. Por lo tanto en algunas áreas la cosecha se planea para que el oreado sea por las mañanas soleadas y recogerlo por la tarde (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

Las pérdidas durante el oreado surgen por la continua respiración de la planta y por la actividad de los microorganismos aeróbicos, la gravedad de estas pérdidas durante esta etapa depende de la temperatura durante el oreado y su contenido inicial de materia seca (*H. Honig, 1980*).

La cosecha debe llevarse a cabo cuando el estado de madurez, los rendimientos de toneladas por hectárea y las propiedades para ensilar el cultivo sean óptimos y las tres estén en su pico (*H. Honig, 1980*).

Es importante tomar en cuenta el tamaño de partícula en el corte, esto se puede ajustar según el número de cuchillas de la cosechadora. Un inadecuado tamaño de partícula puede hacer mermar la digestibilidad del forraje en el rumen y además partículas muy pequeñas pueden provocar tener mayor efluente durante el ensilaje (*H. Honig, 1980*).

3.3.9 Transporte

El cultivo cortado puede ser transportado del campo al área donde se va ensilar por una variedad de camiones y vagones según sean los recursos del productor. El llenado y el tiempo de descarga siempre dependerá del tipo de camión, la duración del viaje (del campo al área de recepción para ensilar) y del número de tractores con que se cuente al momento de realizar la compactación del silo, es importante darle tiempo al operador

del tractor para que pueda subir el forraje cortado al montón para que después de esparcirlo pueda compactarlo con las ruedas del tractor (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

3.3.10 Sellado

El sellado de un silo bunker o de un silo pastel generalmente se hace con varias capas de plástico, normalmente hechas de polietileno de varios grosores (0.1 - 0.2 mm). El plástico protege la superficie del material ensilado contra la penetración de aire, entre más grueso habrá menos penetración de oxígeno. La capa de plástico deberá de ser resistente a los rayos UV para que resista la prolongada exposición a la luz del sol (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

Si un ensilaje se deja desprotegido puede haber pérdidas desde .50 cm hasta un poco más de un metro en el interior del silo y pueden exceder el 50% de la masa. Particularmente esto es preocupante si consideramos que más del 20% de la masa ensilada puede estar en los primeros 0.75 centímetros. Además estas pérdidas no serán apreciadas hasta que el silo sea abierto, incluso ya abierto el silo, el daño solo es aparente en los primeros 15 a 30 centímetros del ensilaje esto esconde el hecho de que esta área dañada representa más ensilaje que el que originalmente entro al silo (*Bolsen et al 1992*).

Las principales pérdidas pueden minimizarse con el sellado, que generalmente se hace con plástico (polietileno) y llantas sobre la superficie del silo, este método reducirá la pérdida de nutrientes (*Bolsen et al 1992*).

3.4 El proceso de ensilaje y sus fases.

Ensilar es un método de conservación de forraje basado en una espontánea fermentación ácido láctica bajo condiciones anaeróbicas. Las bacterias ácido lácticas fermentan los carbohidratos hidrosolubles del cultivo y los convierten en ácido láctico y en una menor cantidad, a ácido acético. Gracias a la producción de estos ácidos el pH del material

ensilado desciende y los microorganismos dañinos son inhibidos. Una vez que el material fresco a ensilar es cosechado, apisonado en el lugar donde se decidió almacenar y sellado debidamente para evitar la entrada de oxígeno, el proceso de ensilaje puede dividirse en cuatro fases (*Weinberg y Muck 1996; Merry et al. 1997*).

3.4.1 Fase aeróbica.

Esta fase normalmente solo dura algunos minutos, en esta fase el oxígeno atmosférico presente entre las partículas de la planta es reducido, esto gracias a la respiración de la planta y a los microorganismos aeróbicos facultativos y aeróbicos como las levaduras y las enterobacterias. Además, las enzimas de las plantas como las proteasas y las carbohidrasas permanecen activas durante esta fase provocando que el pH se mantenga dentro de los rangos normales (pH 6.5-6.0) para jugo de forraje fresco (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

3.4.2 Fase de fermentación

Esta fase comienza cuando el proceso se vuelve anaeróbico y continúa así durante varios días a semanas dependiendo de las propiedades del forraje ensilado y de las condiciones en las que se está llevando a cabo el proceso de ensilaje. Si la fermentación continúa satisfactoriamente las bacterias ácido lácticas (BAL) se desarrollan y se convierten en la población dominante durante esta fase. Gracias a la producción del ácido láctico y otros ácidos *el pH* puede descender a valores entre un 3.8 a 5.0 (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

3.4.3 Fase estable

Esta fase comenzará siempre y cuando se prevenga la entrada de aire al silo. La mayoría de los microorganismos de la fase de fermentación descienden en número. Algunos microorganismos resistentes al ácido (acidófilos) sobreviven durante este periodo pero generalmente están inactivos, otros como los clostridios y los bacilos sobreviven como esporas. Solo algunas proteasas, carbohidrasas tolerantes a los ácidos y algunos

microorganismos especializados como el *Lactobacillus buchneri* continúan activos a un ritmo bajo (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

3.4.4 Fase de alimentación o fase de deterioro.

Esta fase comienza tan pronto y como el ensilaje es expuesto al aire. Durante esta fase es inevitable que haya una exposición al aire, pero podría empezar antes si hay algún daño en la cubierta del ensilaje. El proceso de deterioro se puede dividir en dos fases (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

El comienzo del deterioro se da gracias a la degradación de ácidos orgánicos preservados por las levaduras y ocasionalmente por bacterias ácido acéticas. Esto causara un aumento en el pH, y así la segunda fase de deterioro comienza, esta fase está asociada con un aumento en la temperatura, y a la actividad de deterioro por microorganismos como los bacilos (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

La última etapa también incluye la actividad de muchos otros microorganismos aeróbicos (facultativos) como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes que son abiertos y expuestos al aire. Sin embargo la tasa de deterioro puede ser más alta dependiendo del número y la actividad de los organismos que causan este deterioro. Las pérdidas de materia seca por el deterioro pueden llegar a 1.5 - 4.5% por día y pueden observarse en la áreas afectadas. Estas pérdidas están en el mismo rango que las pérdidas que pueden ocurrir en silos herméticos durante varios meses de almacenamiento (Honig and Wooldford 1980).

Para evitar fallas es importante controlar y optimizar cada fase del proceso de ensilaje. En la fase 1 o fase aeróbica las buenas prácticas para buen llenado del silo ayudaran para minimizar la cantidad de oxígeno presente entre las partículas de las plantas en el silo. Buenas técnicas en la cosecha combinadas con un buen llenado del silo

minimizarán las pérdidas de carbohidratos hidrosolubles (CHS) a través de la respiración aeróbica en el campo y en el silo, esto dejara disponibles más CHS para la fermentación ácido láctica de la fase 2 (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

Durante la fase 2 y 3 el productor no podrá tener el control en el proceso de ensilaje. Pero existen métodos para optimizar la fase dos y tres basados en usar aditivos para los ensilajes estos son aplicados al momento de estar ensilando (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

La fase 4 o fase de deterioro comenzará cuando el oxígeno esté disponible. Para minimizar pérdidas por el deterioro por oxígeno, durante la fase de almacenamiento se requiere un silo hermético y cualquier daño a la cubierta del silo tendría que ser reparada lo más rápido posible. Durante esta fase el ingreso de aire puede ser minimizado por una tasa de consumo alta. Además si se usaron aditivos al momento de ensilar estos pueden disminuir las pérdidas durante esta última fase (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

3.5 Calidad del ensilaje.

3.5.1 Definición de los valores en un análisis bromatológico para ensilaje de maíz.

Los resultados del análisis del ensilaje de maíz son de poco valor si no se les comprende y se les usa. Estos resultados pueden usarse para: balancear las dietas y mejorar el futuro manejo de la cosecha si el forraje actual es de calidad cuestionable (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

Los resultados del análisis se expresan en “tal como recibido” y en “100% base materia seca (MS).” “Tal como recibido” a menudo se le llama también “tal como ofrecido” o “fresco.” El material en base “tal como recibido” incluye el agua o la humedad contenida en el alimento. Los nutrientes expresados en esta base representan el

contenido en nutrientes del alimento al momento de ser recibido en el laboratorio (García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005).

En base materia seca significa que toda la humedad ha sido removida. La concentración en nutrientes es aquella contenida en la MS del alimento. Los valores que se reportan en base seca van a ser siempre mayores que aquellos reportados en “tal como recibido.”(García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005). Para convertir de tal como recibido a base MS, se debe usar la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Nutriente (tal como recibido)} \times 100}{\% \text{ MS}} = \text{Nutriente (base MS)}$$

% MS

3.5.2 Humedad/Materia Seca (MS).

Humedad es la cantidad de agua contenida en el alimento. Porcentaje de humedad = 100 – % MS. La MS es el porcentaje del alimento que no es agua. Porcentaje de MS = 100 – % humedad. Una muestra de ensilaje de maíz con 30% de MS contiene 70% de agua. Conocer el contenido de humedad del ensilaje de maíz es crítico para poder balancear las dietas en forma adecuada. Contenidos de humedad más bajos están asociados por lo general con plantas más maduras, las cuales pueden alterar la digestibilidad y el contenido energético de este forraje de forma significativa. Una fermentación adecuada es también altamente dependiente de un adecuado contenido de humedad, que para el ensilaje de maíz debe estar entre 60 y 70%. Cuando se ensila en un silo torre, la humedad deseable para minimizar el efluente es de 60-65% (García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005).

Una apropiada humedad al momento de la cosecha es muy importante para la buena compactación de la masa ensilada, la exclusión de aire; suficiente humedad promueve una fermentación ácido láctica. Ensilar con altos contenidos de humedad puede llevar a una fermentación prolongada, excesiva pérdida de proteínas y pérdidas de energía. Una

fermentación secundaria de tipo clostridial puede ocurrir si se ensila con una humedad alta dejando como resultado altos niveles de ácido butírico y nitrógeno amoniacal. Ensilar con una humedad más baja de lo normal puede provocar un ensilaje inestable con problemas debidos al desarrollo de levaduras, mohos y bacilos indeseables. Un bajo contenido de humedad comúnmente tiene altos niveles de calentamiento y esto provoca daños en las proteínas del forraje ensilado esto se monitorea vía ADIN por sus siglas en inglés (Nitrógeno insoluble ácido detergente) como % total de proteína cruda (*Seglar, 2003*).

3.5.3 Proteína cruda (PC).

La proteína cruda es denominada “cruda” ya que no es una medición directa de la proteína sino una estimación de la proteína total basada en el contenido en nitrógeno del alimento (Nitrógeno x 6.25 = proteína cruda). La proteína cruda incluye la proteína verdadera y el nitrógeno no proteico (NPN) tal cómo el nitrógeno ureico y el amoniacal. El valor de proteína cruda no suministra información acerca de la composición en aminoácidos, la digestibilidad intestinal de la proteína o cuan aprovechable es en el rumen (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

Usualmente los niveles de proteína cruda son inversos a los niveles de almidón en el ensilaje, un alto contenido en los valores de proteína cruda comúnmente indica que el llenado con almidón del grano de maíz se vio mermado durante el desarrollo de la planta, maíces estresados por agua e híbridos con bajo rendimiento en almidón tienen contenidos de proteína cruda más altos (*Seglar, 2003*).

3.5.4 Fibra detergente ácido (ADF).

El ADF consiste primariamente de celulosa, lignina. Está estrechamente relacionado con la fracción no digestible del forraje y es un factor muy importante en el cálculo del contenido energético del alimento. Cuanto mayor es el contenido en ADF menor es la

digestibilidad del alimento y la energía que contendrá (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.5 Fibra detergente neutro (NDF).

El total de la fibra de un forraje está contenido en el NDF o “paredes celulares.” Esta fracción contiene celulosa, hemicelulosa, y lignina. El NDF suministra la mejor estimación del contenido total en fibra del alimento y está estrechamente relacionado con el consumo de alimento. Al aumentar los valores del NDF, el consumo total de alimento disminuye. Por lo general se asume que los rumiantes van a consumir un máximo de NDF cercano al 1.2 por ciento de su peso corporal. Las gramíneas contienen más NDF que las leguminosas comparadas a un estado similar de madurez (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.6 NDF digestible en 48 (dNDF 48).

La importancia de medir la dNDF 48 ha sido reconocida recientemente. La digestibilidad de la fibra varía entre leguminosas y gramíneas cosechadas a un estado de madurez similar, incluso para una misma especie cuando crece bajo diferentes condiciones climáticas. Al digerir el NDF más rápidamente, los rumiantes pueden pasar el alimento más rápidamente por el rumen, lo que permite un mayor consumo de materia seca y una mejora en el desempeño del animal. Disminuciones en la dNDF 48 son por lo general un reflejo de un mayor contenido en lignina en la fracción de NDF. La dNDF se mide como la digestión del NDF in vitro durante 48 horas (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.7 Lignina.

La lignina es un polímero componente de las paredes celulares que suministra rigidez y soporte estructural a las plantas, y que no puede ser digerido por las enzimas del animal. Aumenta al madurar las plantas, y es más alta para la misma especie vegetal cuando

crece bajo clima cálido. Cuanto mayor es el contenido en lignina de un forraje, menor es la dNDF (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.8 Lípidos totales.

También conocido como extracción con éter (EE). Este término incluye todas las sustancias que son solubles en éter (de ahí el término EE). Si bien contiene principalmente lípidos, también incluye otras sustancias solubles en grasas tales como la clorofila y las vitaminas liposolubles, y es de un alto contenido energético cuando la fracción representa principalmente lípidos (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.9 Digestibilidad del NDF (NDFD).

NDFD es la dNDF expresada como porcentaje del NDF. Por lo tanto $NDFD = dNDF/NDF * 100$ (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.10 Cenizas.

La ceniza es el residuo remanente luego que toda la materia orgánica presente en una muestra es completamente incinerada, por lo tanto $100 - \text{cenizas} = \text{materia orgánica}$. Consiste en toda la materia inorgánica (o minerales) del alimento, así como los contaminantes inorgánicos, tales como la tierra y la arena (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.11 Minerales.

Los valores de calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg), y potasio (K) se expresan como porcentaje de cada uno en el alimento (*García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005*).

3.5.12 Nutrientes digestibles totales (TDN).

Los TDN representan la suma de la PC digestible, los carbohidratos digestibles y los lípidos digestibles (los lípidos se multiplican por 2.25 para compensar por su alto contenido energético). Como los alimentos se usan de forma diferente en las diferentes especies animales, el porcentaje de los TDN de un alimento es diferente para cada especie. En general los TDN están altamente correlacionados con el contenido

energético del alimento. Los TDN son estimados de diferentes maneras. Los TDN en los informes de laboratorio son estimados a partir del valor de la NEL, la cual es calculada a su vez a partir del contenido en ADF del *ensilaje* (García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005). La ecuación para calcular TDN es:

$$\text{TDN} = 31.4 + (53.1 * \text{NE}_1)$$

3.5.13 Energía neta de lactancia (NE₁).

La energía neta de lactancia es el término usado por el NRC (National Research Council) para estimar los requerimientos energéticos y los valores energéticos de los alimentos para vacas lecheras. Por lo general se la expresa como megacalorías por libra (Mcal/lb) o megacalorías por kilogramo (Mcal/kg). La NEI del ensilaje de maíz es calculada a partir del ADF con la siguiente ecuación (García, Thiex, Kalscheur y Tjardes, 2005).

$$\text{NE}_1 = 1.044 (0.0124 * \text{ADF})$$

3.6 Evaluación de los ensilajes.

No todos los ensilajes tienen que ser analizados; en cuanto a calidad de fermentación, existen varias herramientas y procedimientos que nos pueden ayudar para evaluar los ensilajes (Seglar, 2003).

El equipamiento para la evaluación de un ensilaje puede incluir:

- 1.- Potenciómetro, papel tornasol (tiras pH).
- 2.- Termómetro.
- 3.- Koster tester ®, o un microondas para determinar % MS.
- 4.- Herramientas para determinar densidad (taladro con saca bocados).

5.-Separador de partículas de la Universidad de Pennsylvania.

(Seglar, 2003).

3.6.1 Áreas del silo a muestrear.

Una inspección visual de la cara y la superficie del silo pueden determinar la calidad del manejo durante la fase de extracción del ensilaje. El manejo de la cara en los silos debe ser evaluado a lo largo y ancho de la misma para determinar si se está consumiendo por lo menos 6 pulgadas cada día y además para identificar que la cara este limpia(Seglar, 2003).

Se deben de identificar las líneas o áreas del silo en donde posiblemente no se haya compactado correctamente el forraje y por lo tanto probablemente habrá cambios de color en el forraje, presencia de mohos y calentamiento. Se recomienda que estos datos obtenidos se archiven y se identifique con exactitud el silo al cual pertenecen, servirá como una referencia en el futuro que puede ayudar a corregir errores en el próximo ensilaje. Muestrear los ensilajes para pH y temperatura es una actividad importante, sobre todo si se sospecha de una inestabilidad aeróbica se recomienda muestrear para pH y temperatura a unos 2 o 3 pies por dentro de la masa ensilada (Seglar, 2003).

3.6.2 Determinación del porcentaje de *materia seca* o humedad del ensilaje.

Determinar la materia seca de un ensilaje es una actividad que se debe de realizar al abrir un ensilaje, esto para confirmar la precisión de los reportes de laboratorio o simplemente para generar la información más rápidamente. Determinar materia seca mediante el uso de un horno de microondas es una actividad que demanda menos tiempo comparada con la determinación con un Koster Tester®, con un horno de microondas se requiere personal que esté presente para realizar el monitoreo en los silos y a la recepción del forraje en la fase de llenado. Determinar materia seca ayudará a

predecir la inestabilidad aeróbica (baja humedad) o una fermentación secundaria (Clostridial) por humedad alta (Seglar, 2003).

3.6.3 Determinación de pH.

Se puede determinar pH utilizando tiras reactivas para pH o un potenciómetro convencional, para realizar esta actividad es necesario tomar una muestra de 200gr o 500gr de ensilaje con 500 ml de agua destilada; el agua destilada y la muestra de forraje se mezclan en un recipiente se deja reposar por algunos minutos, después de hacer esto se introduce el papel tornasol o el medidor de pH en esta solución y se obtendrá el pH del forraje (Seglar, 2003).

3.6.4 Temperatura.

Para determinar la temperatura de un ensilaje es necesario un termómetro, de preferencia que tenga entre 30 a 90 centímetros de longitud para poder comparar la temperatura de la cara del silo con la temperatura adentro del silo a esta distancia (30 a 90 centímetros). Generalmente un silo con un deficiente manejo en la cara tendrá altas temperaturas y por lo tanto un pH alto y viceversa. La temperatura y pH indican que hay una actividad de levaduras por lo cual el silo estará sufriendo una inestabilidad aeróbica. Las lecturas de temperatura deben tomarse en varios puntos del silo para eliminar la influencia que tiene la temperatura ambiente sobre este. Una meta para un ensilaje estable es que no exceda más de 6°C por encima de la temperatura ambiental. Estructuras de almacenamiento muy largas son capaces de retener el calor por más tiempo que las pequeñas estructuras (Seglar, 2003).

3.6.5 Prueba de densidad del ensilaje.

Una valoración de que tan bien compactado está el ensilaje es crucial para la evaluación de la calidad en el ensilaje. La prueba de densidad se basa en los kilogramos de materia seca de ensilaje que haya en un metro cubico (Seglar, 2003).

Determinar la densidad es posible mediante la extracción de una porción de la cara del silo con ayuda de un taladro con un sacabocado, el muestreo se hace en varios puntos de la cara del silo, el forraje extraído en el sacabocados se pesa, el espacio que deja el forraje extraído es medido y estos datos (el peso de la muestra y la cantidad de centímetros que perforo el taladro) se vacían en la *hoja de cálculo de densidad de la Universidad de Wisconsin*, hoja de cálculo que básicamente utiliza estos datos con algunas fórmulas matemáticas para darnos como resultado los Kg de MS por metro cubico del silo. Es importante señalar que existen otras maneras para determinar la densidad pero esta es una de las más populares y fáciles de manejar (*O.P. Salvador, 2014*).

Un silo con problemas de calentamiento puede que haya tenido problemas al momento de la compactación, determinar la densidad puede dar una explicación de la situación de ese silo en particular(*Seglar, 2003*).

3.6.6 Tamaño de partícula.

Tener una distribución apropiada del tamaño de partículas de los alimentos es una parte importante de la formulación de raciones (*Heinrichs & Kononoff, 2002*).

El separador de partículas de Penn State es un sistema con el que se puede valorar el tamaño de partícula del ensilaje. El tamaño de partícula ideal debe de ser lo suficientemente corto para producir una buena fermentación del silo, pero también debe ser lo suficientemente larga para proveer de fibra efectiva a la vaca. Las cribas de Penn State pueden ser utilizadas para determinar el tamaño de partícula del silo y estos resultados se pueden comparar con los de la RTM (ración totalmente mezclada), si es que existen algunos problemas de salud en el establo (*Seglar, 2003*).

Frecuentemente los problemas con la producción y salud de un establo se quieren relacionar con la calidad de fermentación de un ensilaje cuando realmente muchas de las veces los problemas vienen con el tamaño de partícula y esto provoca que la vaca no tenga la suficiente fibra efectiva en la ración y como resultante puede haber problemas de salud como acidosis ruminales sub agudas en el hato (Seglar, 2003).

Las pruebas de tamaño de partícula deben de llevarse a cabo para comparar los resultados obtenidos directamente del silo con los resultados obtenidos de la RTM (ración totalmente mezclada). Si los resultados de tamaño de partícula del silo son adecuados y en la RTM el tamaño de partícula es menor al ideal, se puede concluir que hay un exceso de tiempo de mezclado en el carro mezclador (Seglar, 2003).

Monitorear diariamente la RTM que se entrega en el pesebre determinara la habilidad del operador del carro mezclador para formular tiradas consistentes de RTM. Otro uso de las cribas o separadores de partículas de Penn State es monitorear la separación de partículas de la RTM fresca versus la RTM sobrante. Esta comparación permite determinar si las vacas están clasificando las partes de la ración con tallos largos y prefieren en lugar de estos tallos los concentrados que contiene la ración(Heinrichs y Kononoff, 2002).

Estas son las recomendaciones de Jud Heinrichs y Paul Kononoff del tamaño de partícula ideal en 2002:

Cuadro1 Recomendaciones para el tamaño de partícula de forraje y RTM basado en tres experimentos usando vacas en lactancia temprana alimentadas con henilaje de alfalfa o ensilaje de maíz con o sin cascarilla de algodón.

Filtro	Poro(mm)	Partícula(mm)	Ensilaje de Maíz	Henilaje	RTM
Criba superior	19	>19.0	3 a 8	10 a 20	2 a 8
Criba media	8	8.0 a 19.0	45 a 65	45 a 75	30 a 50
Criba inferior	1.18 ^a	1.67 a 8.0	30 a 40	20 a 30	30 a 50
Bandeja baja		<1.67	<5	<5	<20

^aLos poros son cuadrados, así que la abertura más grande es la diagonal, que es de 1.67 mm. Esta es la razón por la que las partículas más grandes que pueden pasar a la criba inferior son de 1.67 mm de largo.

3.6.7 Ensilajes con olores y sabores anormales.

Los ensilajes clostridiales se vuelven inpalatables primariamente por la proteólisis del nitrógeno en la producción de aminas, amidas u otros productos inpalatables desechos del nitrógeno. Los clostridios que producen ácido butírico no siempre son los que disminuyen la ingesta, generalmente la ingesta se suprime cuando hay productos de una proteólisis del nitrógeno presentes. Las levaduras que causan ensilajes calientes e inestables no siempre son las que desalientan la ingesta. Otras levaduras sin embargo producen olores y sabores muy desagradables para la vaca. El alcohol mezclado con el olor del vinagre proveniente del ácido acético produce un olor muy penetrante que algunas veces causa que la vaca rechace los ensilajes. Otros productos finales de las levaduras son el metil- acetato y el etil-acetato, estos compuestos tienen un olor parecido a los removedores de esmalte de las uñas (*Seglar, 2003*).

La probabilidad de que las vacas lecheras acepten un ensilaje clostridial puede aumentar removiendo unas 12 a 24 horas el ensilaje que se va a alimentar para someterlo a un proceso de “oreado” que tendrá como fin que los compuestos que causan malos olores y sabores se disipen, tal vez no en su totalidad pero quizá será menos el rechazo por parte de las vacas (*Seglar, 2003*).

4 Microflora del ensilaje

La microflora del ensilaje juega un papel clave en el proceso de conservación. La flora puede básicamente ser dividida en dos grandes grupos de microorganismos llamados, “los deseables” y “los indeseables”. Los microorganismos deseables son las bacterias ácido lácticas. Los microorganismos indeseables son los organismos que pueden causar deterioro anaeróbico (clostridios y enterobacterias) o deterioro aeróbico (levaduras, bacilos, listeria y mohos). Muchos de estos organismos que deterioran no hacen mermar el valor nutricional del ensilaje pero si son determinantes en el efecto sobre la salud

animal o la calidad de leche (ej. *Listeria*, clostridios, mohos y bacilos) (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

4.1 Microorganismos deseables, bacterias productoras de ácido láctico.

Las bacterias ácido lácticas pertenecen a la flora epifita de la planta. Recurrentemente la población de BAL se incrementa substancialmente entre la cosecha y el proceso de ensilado. Esto se explica por la reactivación de células latentes y otras no cultivadas, y no por la inoculación de las máquinas cosechadoras o por el simple crecimiento de la población original. Las características del cultivo como, contenido de azúcares, contenido de materia seca y composición de los azúcares, combinados con las propiedades del grupo BAL así como su tolerancia a condiciones ácidas o de presión osmótica, y el uso del substrato, influirán en forma decisiva sobre la capacidad de competencia de la flora BAL durante la fermentación del ensilaje (*Woolford 1984; McDonald et al. 1991*).

Los componentes BAL que se asocian con el proceso de ensilaje pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un rango de temperaturas que oscila entre 5° y 50°C, con un óptimo entre 25° y 40°C. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores entre 4 y 5, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. Todos los miembros del BAL son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaeróbica (*Teuber et al., 1992*).

Tomando en cuenta su metabolismo de los azúcares, los miembros BAL pueden ser clasificados como homofermentadores obligatorios, heterofermentadores facultativos o heterofermentadores obligatorios. Los homofermentadores obligatorios producen más de 85 por ciento de ácido láctico a partir de hexosas (azúcares C₆) como la glucosa, pero

no pueden degradar las pentosas (azúcares C₅) como la xilosa. Los heterofermentadores facultativos también producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol. Los heterofermentadores obligatorios degradan las hexosas y las pentosas, pero se distinguen de los homofermentadores en que degradan las hexosas en proporciones equimolares de ácido láctico, CO₂, ácido acético y/o etanol (Schleifer y Ludwig 1995). Los homofermentadores obligatorios reúnen especies como *Pediococcus damnosus* y *Lactobacillus ruminis*. Los heterofermentadores facultativos incluyen a *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* y *Enterococcus faecium*. Los heterofermentadores obligatorios incluyen miembros del género *Leuconostoc* y algunos *Lactobacillus* como *L. brevis* y *L. buchneri* (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

4.2 Microorganismos indeseables.

4.2.1 Levaduras

Las levaduras son microorganismos eucarióticos, anaeróbicos facultativos y heterotróficos. En ensilajes anaeróbicos la actividad de las levaduras aeróbicas se considera como indeseable. Bajo condiciones de un ensilaje anaerobio las levaduras fermentan los azúcares convirtiéndolos a etanol y CO₂ (McDonald et al 1991). Esta producción de etanol en el ensilaje no solo disminuye la cantidad de azúcar disponible para la fermentación ácido láctica sino que también puede tener un efecto negativo en el sabor de la leche (Randby et al. 1998). Bajo condiciones aeróbicas muchas especies de levaduras degradan el ácido láctico a CO₂ y H₂O. La degradación del ácido láctico causa un aumento en el pH del ensilaje, y esto da pie al crecimiento de otros organismos que deterioran el ensilaje. (McDonald et al. 1991).

Las poblaciones de levaduras pueden elevarse a 10^7 unidades formadores de colonias por gramo durante las primeras semanas del proceso de ensilaje, un almacenamiento prolongado puede llevar a una disminución en el número de levaduras (*Jonsson y Pahlow, 1984*). Los factores que afectaran la sobrevivencia de las levaduras durante el almacenamiento son el grado de anaerobiosis y las concentraciones de ácidos orgánicos. La presencia de oxígeno incrementa la sobrevivencia y el crecimiento de levaduras durante el almacenamiento (*Jonsson y Pahlow, 1984*), mientras que los niveles altos de ácido fórmico o ácido acético reducen la sobrevivencia durante la fase de almacenamiento (*Driehuis y Van Wakselaar, 1996*). La actividad inicial de las levaduras aparece para ser incrementada en los cultivos con un bajo pH inicial (<5), debido a la adición de aditivos ácidos, y a cultivos con un alto contenido de azúcar (ej. papas, cascara de naranja o remolacha). Estos cultivos pueden resultar en ensilajes con altos contenidos de etanol y con bajos niveles de ácido láctico (*Ashbell et al 1987; Driehuis y Van Wakselaar, 1996*). Los aditivos para ensilaje permiten inhibir la actividad de las levaduras.

4.2.2 Enterobacterias

Las enterobacterias son anaeróbicas facultativas. La mayoría de las enterobacterias del ensilaje son reconocidas por no ser patogénicas. Sin embargo, su crecimiento en el ensilaje es indeseable porque compiten con las bacterias ácido lácticas por los azúcares disponibles y además las enterobacterias pueden degradar la proteínas. Esta degradación de proteína no solo causa una reducción en el valor nutritivo sino que también conduce a la producción de componentes tóxicos como aminas biogénicas y ácidos grasos de cadena ramificada. Las aminas biogénicas son conocidas por tener un efecto negativo en la palatabilidad del ensilaje (*Woolford 1984; McDonald et al. 1991*), especialmente en animales que aún no están acostumbrados a su sabor (*Van Os et al. 1997*). Además,

el amoníaco formado a través de la proteólisis incrementa la capacidad búfer del cultivo ensilado, y esto contrarresta el rápido descenso del pH del ensilaje.

Un atributo particular de las enterobacterias es su habilidad, en el proceso de ensilaje, para reducir el nitrato (NO_3) a nitrito (NO_2). Las enterobacterias en el ensilaje pueden luego degradar el nitrito en amoníaco y óxido de nitrógeno (N_2O), pero este también puede ser transformado en monóxido de nitrógeno (NO) y nitrato (*Spoelstra, 1985*). En presencia de aire, el NO es oxidado produciendo una mezcla de gases, óxidos amarillo-marrones de nitrógeno (NO_2 , N_2O_3 , N_2O_4). Los gases de NO y NO_2 dañan el tejido pulmonar y pueden causar enfermedades con síntomas parecidos a la neumonía, conocida como enfermedad del ensilaje (*Woolford, 1984*). Para evitar el contacto de los animales con estos gases de nitrógeno se recomienda que no sean estabulados cerca de los silos cuando se llena el silo o durante su primera semana de almacenaje. A pesar de estos problemas, se considera útil que ocurra una leve reducción de nitritos, ya que los nitritos y el NO que se generan son inhibidores muy potentes de los clostridios y mejoran la calidad del (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

Las enterobacterias no se desarrollarán mientras el ensilaje tenga un pH bajo. Los métodos para ensilar inducen a una rápida y suficiente caída en el pH del ensilaje por lo tanto disminuirán el crecimiento enterobacterial. (*Mc Donald et al 1991*).

4.2.3 Clostridios

Los clostridios son bacterias anaeróbicas (formadoras de endosporas). Muchos clostridios fermentan carbohidratos y también proteínas, así que son la razón de muchos problemas tales como la reducción del valor nutritivo y la producción de aminos biogénicos, un proceso similar que en las enterobacterias. Además, los clostridios en el ensilaje pueden dañar la calidad de leche. Esto se debe al hecho que las esporas

clostridiales pueden sobrevivir al paso a través del tracto digestivo de una vaca. Las esporas clostridiales presentes en el ensilaje se transfieren a la leche, por contaminación fecal en la ubre. El *Clostridium tyrobutyricum* es ácido tolerante y es la especie más relevante en la industria lechera. Además de la fermentación de carbohidratos el *C. tyrobutyricum* puede degradar el ácido láctico a ácido butírico, H₂ y CO₂ de acuerdo con la siguiente reacción:



Esta fermentación ácido butírica no solo contrarresta a la fermentación ácido láctica en el ensilaje y quesos, también es responsable por una significativa producción de gases, causando en los quesos un defecto llamado “late blowing” en quesos duros y semi duros como lo son el Emmental, Grana, Gouda y Parmesano (*Gibson, 1965*). Algunos clostridios pueden causar serios problemas de salud. Uno de los más extremadamente tóxicos *Clostridium* sp. es el *C. botulinum*. Este organismo puede causar botulismo, que puede ser mortal para el ganado. Afortunadamente, *C. botulinum* tiene una limitada ácido tolerancia, y no crece en un ensilado bien fermentado. Las incidencias de botulismo en animales causadas por ensilaje contaminado con *C. botulinum* puede casi siempre atribuirse a la presencia de un cadáver (ratas, pájaros etc.) en el ensilaje (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

Un típico “ensilaje clostridial” es caracterizado por un alto contenido de ácido butírico, más de 5g/kg de materia seca, un pH alto (más de 5 en ensilajes con bajo contenido de materia seca), y un alto nivel de amoníaco y aminos. Los métodos de ensilaje pueden causar una rápida y suficiente caída del pH del ensilaje y esto ayudara a prevenir el desarrollo de un “ensilaje clostridial”, porque similar a las enterobacterias, los clostridios son inhibidos por un bajo pH. Además, los clostridios son más susceptibles a

una baja disponibilidad de agua (baja actividad de agua (a_w)) que las bacterias ácido lácticas (*Kleter et al., 1982; 1984, Huchet et al., 1995*). Por esta razón incrementar el valor de a_w de un cultivo con dejándolo madurar con una alta cantidad de materia seca puede ser una manera de inhibir el clostridium. Finalmente, los clostridios serán también inhibidos por los nitritos y el NO o compuestos que degradados en el ensilaje de nitritos y NO (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

4.2.4 Bacterias ácido acéticas.

Las bacterias ácido acéticas son bacterias aeróbicas obligadas, ácido tolerantes. Hasta ahora todas las bacterias ácido acéticas que se han aislado del ensilaje son pertenecientes al género *Acetobacter* (*Spoelstra et al. 1988*). La actividad del *Acetobacter* sp. en el ensilaje es indeseable ya que estas bacterias pueden iniciar un deterioro aeróbico, debido a el hecho que son viables para oxidar lactato y acetato a dióxido de carbono y agua. Generalmente, las levaduras son las principales iniciadoras del deterioro aeróbico, y las bacterias ácido acéticas están ausentes, o juegan un papel menor. Sin embargo, para todos los ensilajes de maíz hay evidencia que las bacterias ácido acéticas por si solas pueden iniciar un deterioro aeróbico. Además, la inhibición selectiva de levaduras puede incrementar la proliferación de bacterias ácido acéticas en el ensilaje. (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

4.2.5 Bacilos

Los bacilos son como los clostridios (formadores de endosporas), son bacterias en forma de bastón. Sin embargo, pueden ser fácilmente distinguidas de los clostridios por el hecho de que son aerobios facultativos, mientras que todos los clostridios son anaerobios obligados (*Claus and Berkeley 1986; Cato et al. 1986*).

Los bacilos aeróbicos facultativos fermentan un abanico amplio de carbohidratos a compuestos como ácidos orgánicos (ej. acetato, lactato y butirato) o etanol, 2,3-

butanodiol y glicerol (*Claus y Berkeley 1986*). Algunos *Bacilos sp.* específicos son viables para producir sustancias anti fúngicas y han sido utilizados para inhibir el deterioro aeróbico del ensilaje (*Phillip y Fellner 1992; Moran et al. 1993*), excepto por unas cepas específicas, la proliferación de los bacilos en el ensilaje es generalmente indeseable.

No es solo que haya bacilos menos eficientes productores de ácido acético y láctico (*McDonald et al. 1991*), sino también estos bacilos pueden aumentar el deterioro aeróbico (*Lindgren et al. 1985; Vreman et al, in press*). Además, números altos de esporas de Bacilos en la leche bronca se han asociado con niveles altos en vacas frescas (*Waes 1987; te Giffel et al. 1995*). Parece muy viable que las esporas de los bacilos sean transferidas del ensilaje a la leche vía heces similar a las esporas de los clostridios (*Vreman et al, in press*). Esporas psicotrópicas de *B. cereus* son consideradas las más importantes en el deterioro orgánico de la leche pasteurizada (*Giffel 1997*). Altos valores de estos *B. cereus* (psicotrópicos) se han encontrado en ensilajes. (*Labots et al. 1965*).

Para disminuir el crecimiento de bacilos en el ensilaje, las temperaturas del almacenamiento no deben ser muy altas y el ingreso del aire debe de ser minimizado. (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*). Además la contaminación inicial de la planta fresca con tierra o estiércol debe de ser prevenida (*Rammer et al. 1994*).

4.2.6 Mohos

Los mohos son organismos eucarióticos. Una infestación por mohos en un ensilaje puede ser detectada fácilmente por las largas estructuras filamentosas y las esporas de colores que la mayoría de las especies producen. Los mohos se desarrollan en partes del silo donde generalmente hay oxígeno presente. Durante el almacenamiento esto es

usualmente solo en la superficie de las capas de plástico del ensilaje, pero durante el deterioro aeróbico de la fase 4 todo el ensilaje puede tornarse mohoso.

Las especies de mohos que generalmente han sido aisladas del ensilaje pertenecen al género de *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* and *Trichoderma* (Pelhate 1977; Woolford 1984; Frevel *et al.* 1985; Jonsson *et al.* 1990; Nout *et al.* 1993).

Los mohos no solo causan una reducción del valor nutritivo y la palatabilidad del ensilaje, también pueden tener un efecto negativo en la salud animal y del ser humano.

Las esporas de los mohos son asociadas con daño en los pulmones y reacciones alérgicas (May, 1993). Otros problemas de salud están asociados a micotoxinas que pueden ser producidas por los mohos (Auerbach, 1996). Dependiendo de la cantidad y tipo de toxinas presentes en el ensilaje el rango de problemas puede ser bajo con problemas digestivos menores, pocos problemas de fertilidad y una reducida función inmune, o puede ser alto, serios problemas en los riñones y abortos. (Stefanie J.W.H. *et al.*, 2000). Algunas de las micotoxinas más importantes son las producidas por especies de mohos como lo son el *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti*, and *Byssochlamys nivea*. Especialmente el *Penicillium roqueforti* una especie ácido tolerante que puede crecer con niveles muy bajos de oxígeno y con altos niveles de CO₂ ha sido detectada como una de las especies predominantes en varios tipos de ensilajes (Lacey 1989; Nout *et al.* 1993; Auerbach *et al.* 1998; Auerbach 1996). Sigue habiendo inseguridad sobre bajo qué condiciones se forman las micotoxinas en el ensilaje. Un ensilaje severamente infestado no necesariamente contiene altos niveles de micotoxinas y no todos los tipos de micotoxinas producidas por las diferentes especies de mohos tienen que estar presentes en un ensilaje (Nout *et al.* 1993; Auerbach 1996). Para la Aflatoxina B₁, una micotoxina del *Aspergillus flavus*, es sabido que puede ser

transferida del alimento de los animales a la leche. Sin embargo, hasta ahora no se sabe si es hay transferencias similares con las micotoxinas provenientes de *P. roqueforti* o *A. fumigatus* (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

Las buenas prácticas para ensilar que tienen que ver con minimizar el ingreso de aire tales como una buena compactación y el sellado del silo, añadir aditivos que prevengan el comienzo de deterioro aeróbico ayudaran a prevenir o limitar el crecimiento de mohos.(Stefanie J.W.H. et al, 2000).

4.2.7 Listeria

Los miembros del género de *Listeria* son aeróbicos o anaeróbicos facultativos. Con respecto a la calidad del ensilaje las *Listeria* spp son las anaeróbicas facultativas como la *L. monocytogenes*, porque estas especies son patógenas para varios animales y para el hombre. Especialmente animales con un sistema inmune deprimido (ej. hembras preñadas y neonatos), son susceptibles a infecciones por *L. monocytogenes*. El ensilaje contaminado con *L. monocytogenes* ha sido asociado con casos fatales de listeriosis en cabras y ovejas. “Además, Sanaa et al. (1993) identificó que una pobre calidad del ensilaje es una de las principales fuentes de contaminación por *L. monocytogenes* en la leche bronca(Stefanie J.W.H. et al, 2000)”. El crecimiento y la sobrevivencia de *Listeria* en el ensilaje es dererminado por el grado de anaerobiosis, y el pH del ensilaje. *L. monocytogenes* puede tolerar un bajo pH de 3.8 a 4.2 durante largos periodos de tiempo solo si hay oxigeno presente. Bajo condiciones anaeróbicas estrictas es rápidamente eliminado por un pH bajo. Los ensilajes que tienen altas posibilidades de deterioro en la superficie, como los grandes ensilados empacados parecen ser particularmente los más viables para contaminarse con *Listeria* (Fenlon et al. 1989). *L. monocytogenes* generalmente no se desarrolla en un ensilaje bien fermentado que tenga un pH bajo. Hasta ahora el método más efectivo para prevenir el desarrollo y

crecimiento de *L. monocytogenes* es mantener el ensilaje en un estado anaeróbico (McDonald *et al.* 1991)

4.3 Aditivos para el ensilaje.

En los últimos años se ha hecho más común utilizar aditivos para el ensilaje con el fin de mejorar el proceso de ensilaje. Escoger un aditivo parece ser limitado si se ve el largo número de aditivos químicos y biológicos para los ensilajes que están comercialmente disponibles. “Afortunadamente, tomar la decisión para un aditivo adecuado es menos complicado de lo que parece, ya que la mayoría de los aditivos tienen debilidades en algunas categorías como se muestra en el cuadro 2 adaptado de (McDonald *et al.* 1991)”, (Stefanie J.W.H. *et al.*, 2000).

Cuadro 2 Clasificación de los aditivos para ensilaje.

Tipo de aditivo	Ingrediente activo típico	Comentarios
Estimulantes de fermentación	BAC	Puede afectar la estabilidad aeróbica
	Azúcares (melaza)	
	Enzimas	
Inhibidores de fermentación	Acido fórmico*	
	Acido láctico*	
	Acidos minerales	
	Nitritos	Inhibición de clostridios
	Sulfitos	
	Cloruro de sodio	
Inhibidores de deterioro aeróbico	BAC	
	Acido propiónico*	
	Acido benzoico*	
	Acido sórbico*	
Nutrientes	Urea	Puede mejorar estabilidad aeróbica
	Amoníaco	Puede mejorar estabilidad aeróbica
	Minerales	
Absorbentes	Pulpa seca de remolacha azucarera	
	Paja	

*O su sal correspondiente

Entre los productos en ciertas categorías existen diferencias en las propiedades y en la efectividad general, la conveniencia para cada tipo de cultivo y la facilidad de manejar la aplicación. Al unir estos factores con el precio y la disponibilidad, se determinara que producto será el más adecuado para un ensilaje en específico. Un inconveniente de

algunos aditivos químicos es que pueden ser corrosivos para el equipo que se usa para la aplicación, o que pueden ser peligrosos al momento de manejarlos. Los aditivos biológicos son no-corrosivos y seguros para manejar, pero sin duda son costosos. Además, su efectividad puede ser menos segura, ya que está basada en la actividad de organismos vivos.

El correcto almacenamiento de estos aditivos biológicos por el vendedor, el almacenista y el productor es de vital importancia (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

A pesar de estas desventajas, en Europa y Estados Unidos los inoculantes bacterianos hoy en día se han vuelto los aditivos más comúnmente usados para maíz, pastos y leguminosas que pueden ser madurados hasta por encima de 300g de materia seca por Kg⁻¹ (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

4.4 Aditivos que mejoran la fermentación del ensilaje.

Asumiendo que hay buenas técnicas de cosecha y ensilado la fermentación inicial del ensilaje (fase 2) puede ser sub-óptima. Esto puede deberse a la falta de suficientes y adecuados números de bacterias ácido lácticas o a la falta de suficientes cantidades de CHS (Carbohidratos hidrosolubles) o ambos. La cantidad de CHS necesaria para obtener una suficiente fermentación depende del contenido de materia seca y de la capacidad búfer del cultivo. “Weissbach and Honig (1996) caracterizaron la relación entre estos factores (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*)”:

$$\mathbf{CF=MS (\%)+8 CHS/CB}$$

CF= Coeficiente de fermentación.

MS= Contenido de materia seca.

CHS= Carbohidratos hidrosolubles.

CB= Capacidad búfer.

Forrajes con un insuficiente sustrato fermentable o también con bajos niveles de contenido de materia seca tienen un CF <32. En estos forrajes la fermentación suficiente solo se podrá lograr si el contenido de azúcar del material se incrementa, añadiendo azúcares directamente (melaza) o añadiendo enzimas que liberen los azúcares del cultivo. En forrajes con un CF de 35 o más hay suficiente sustrato para una buena fermentación. También añadir las bacterias ácido lácticas adecuadas pueden acelerar y mejorar el proceso de ensilaje. En silos con altos contenidos de materia seca la disponibilidad de una adecuada bacteria ácido láctica osmotolerante puede convertirse en un factor limitante en el proceso de ensilaje. Se ha demostrado que estas bacterias representan solo un porcentaje pequeño de población natural de bacterias en los cultivos forrajeros. Los forrajes con un porcentaje de materia seca por encima del 50% son considerados difíciles de ensilar (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

La fórmula de Weissbach and Hong (1996) no aplica para cultivos con contenidos bajos de nitratos como un manejo para pastos y para todos los cultivos de cereales inmaduros ya que estos cultivos son más propensos a fermentaciones clostridiales que los cultivos con un moderado contenido de nitratos (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

Los inoculantes que incrementan la fermentación ácido láctica podrían ser usados para inhibir la actividad clostridial. El mínimo número de bacterias ácido lácticas que se requieren para inhibir la actividad clostridial fue estimada en 100 000 UFC (Unidades formadoras de colonias) por gramo de forraje fresco (*Stefanie J.W.H. et al, 2000*).

4.5 Aditivos inhibidores del deterioro aeróbico.

Está claro que para inhibir el deterioro aeróbico, los organismos que deterioran, en particular aquellos que causan el comienzo del deterioro (levaduras, bacterias ácido acéticas) su actividad y crecimiento deben ser inhibidos. Algunos aditivos han probado

ser efectivos en este aspecto, incluidos los aditivos químicos que tienen como base los ácidos grasos volátiles como el ácido propiónico y el ácido acético, y aditivos biológicos que tienen como base bacteriocinas producidas por los microorganismos tales como los lactobacilos y los bacilos. (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

Además es sabido que el ácido ascórbico y el ácido benzoico tienen una fuerte actividad antimicrobiana. Recientemente fue descubierto que el *Lactobacillus buchneri* es un inhibidor del deterioro aeróbico muy efectivo. La inhibición del deterioro se da principalmente gracias a la capacidad de *L. buchneri* para degradar ácido láctico a ácido acético y 1,2- propanediol, por ende causa una significativa reducción en los números de levaduras. Esta reducción en el número de levaduras va de la mano con el hecho de que los ácidos grasos volátiles como el ácido propiónico y el ácido acético son mucho mejores inhibidores de las levaduras que el ácido láctico y sus mezclas con ácido láctico y propiónico. “Los resultados de Moon (1983) también explican porque los inoculantes biológicos promueven la fermentación homofermentativa ácido láctica, en la mayoría de los casos no mejora o incluso la estabilidad aeróbica disminuye (Stefanie J.W.H. et al, 2000)”.

Los aditivos biológicos basados en el propionato producen propionobacterias aparentemente menos adecuadas para la mejora de la estabilidad aeróbica, debido al hecho de que estas bacterias solamente proliferan y producen propionato si el pH del ensilaje permanece relativamente alto (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

4.6 Mezclas de aditivos

Los aditivos comerciales contienen más de un ingrediente activo para tener una alta eficacia y una amplia gama de aplicabilidad. Los más populares son por ejemplo las

combinaciones de inoculantes que simulan la fermentación homofermentativa ácido láctica junto con enzimas que degradan azúcar, o combinaciones de químicos que inhiben el deterioro aeróbico y la fermentación como el ácido fórmico, sales de sulfitos y ácido propiónico. Los nuevos aditivos actualmente empiezan a desarrollarse para que disminuyan el efecto negativo de una fermentación ácido láctica homofermentativa en la estabilidad aeróbica. Se han obtenido resultados prometedores combinando bacterias ácido lácticas homofermentativas o heterofermentativas facultativas con químicos como lo es el amoníaco y el benzoato de sodio, o combinando bacterias ácido lácticas heterofermentativas facultativas con heterofermentativas obligadas como *L. buchneri*. (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

4.6.1 Aditivos inhibidores de la fermentación el ensilaje.

Los inhibidores podrían en teoría ser usados para cualquier tipo de forraje. Sin embargo, en la práctica son generalmente usados solo para cultivos húmedos que tienen un bajo contenido de Carbohidratos solubles en agua y que tienen una alta capacidad buffer. En los países bajos las sales de los ácidos se han convertido en los inhibidores de fermentación más populares. Una ventaja de estas sales es que son más fáciles y seguras de manejar que sus ácidos correspondientes. Los aditivos para ensilaje inhibidores de la fermentación pueden reducir los conteos de esporas clostridiales. En ensilajes de pastos maduros se ha observado una disminución en el conteo de esporas. Para inhibir el crecimiento clostridial los inhibidores de fermentación más efectivos parecen ser los aditivos basados en ácido fórmico, hexametileno y nitrato. (Stefanie J.W.H. et al, 2000).

4.7 Ácidos del ensilaje.

4.7.1 Ácidos grasos volátiles:

Estos ácidos se evaporan fácilmente cuando son expuestos al aire y son los responsables de darle al ensilaje un olor característico, el ácido láctico en contraste tiene un olor agradable y no se volatiliza hasta la exposición al aire. El ácido láctico crea la fermentación eficiente ya que es más fuerte que los demás ácidos volátiles. Los ácidos grasos volátiles proveen propiedades que favorecen la estabilidad aeróbica (*Seglar, 2003*).

4.7.2 Ácido láctico:

Ácido láctico: el ácido primario de la fermentación resultado de una homofermentación deseable. El ensilaje ideal usualmente (no siempre) tendrá 3 veces más ácido láctico de lo que comprenden los ácidos grasos volátiles. Dependiendo del cultivo, los niveles pueden van desde 1-3%. El ácido láctico es el ácido con la presencia más marcada de todos los ácidos en el ensilaje, su presencia bajara el pH más efectivamente que los demás ácidos grasos volátiles. Generalmente, la presencia de niveles altos de ácido láctico indica una fermentación eficiente y por consecuente una mínima pérdida de materia seca (*Seglar, 2003*).

4.7.3 Ácido acético

El ácido acético con su característico olor y sabor a vinagre usualmente es el ácido producido durante la fermentación más predominante y ayuda a mantener la estabilidad aeróbica. Comúnmente se puede encontrar menos de un 3% en un ensilaje. Cualquier número por encima del 3% sugiere una ineficiente fermentación heterofermentativa (*Seglar, 2003*).

4.7.4 Ácido propionico

Produce un olor y un sabor dulce muy penetrante y es comúnmente el ácido con niveles más bajos producido durante la fermentación para el mantenimiento de la estabilidad

aeróbica. Generalmente se debe de encontrar en valores menores a un 1% en los ensilajes (*Seglar, 2003*).

4.7.5 Acido butírico

Produce un olor y sabor parecido a la mantequilla rancia. Un ensilaje de calidad debe tener menos de un 0.1%. Niveles elevados del ácido butírico indican un deterioro por una fermentación secundaria, la cual en presencia de nitrógeno no palatable y sus productos finales como aminas y amidas puede conducir a una significativa reducción en el consumo de materia seca y en los niveles de energía del forraje. El ácido butírico y la proteólisis del nitrógeno es el resultado de la actividad clostridial en el silo (*Seglar, 2003*).

4.7.6 Etanol

Produce un olor a alcohol y es un indicador primario de la actividad de levaduras. Las levaduras convierten las azúcares a alcohol y pueden metabolizar el ácido láctico, el cual aumentara el pH y provocara un ensilaje inestable. Las bacterias anaeróbicas facultativas durante las fases tempranas del proceso de ensilaje pueden producir etanol. La presencia de etanol es más prevalente en ensilajes con alta humedad. Los valores de etanol deben de estar por debajo de un 0.5% (*Seglar, 2003*).

4.7.7 Nitrógeno amoniacal

Niveles altos de amoniaco indican una pobre o una extensiva fermentación, indicando una pérdida de proteínas derivada de una actividad enzimática proteolítica en el cultivo. Altos niveles de nitrógeno amoniacal también se asocian con actividad proteolítica de una fermentación secundaria por clostridios y con esto se presentaran problemas significativos durante la alimentación. El uso de anhídrido de amonio y urea como aditivos para el forraje causaran altos niveles de amoniaco. Los valores usualmente deben de estar por debajo del 15% en la alfalfa y en los ensilajes de pastos; en el

ensilaje de maíz con un alto contenido de humedad deben de ser menores al 10% (Seglar, 2003).

4.8 Conteo de microorganismos aeróbicos.

El conteo de las poblaciones de levaduras, mohos y bacilos indica la vida del ensilaje almacenado y se expresan en unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/gr) (Seglar, 2003).

4.8.1 Levaduras

Conteos mayores a 100.000 UFC/gr son indeseables. Las levaduras utilizan el ácidoláctico como sustrato en presencia de oxígeno, causando una elevación del pH. Las pérdidas de materia seca ocurren por la producción de bióxido de carbono, agua y el calentamiento. La actividad de las levaduras precede al crecimiento de mohos (Seglar, 2003).

4.8.2 Mohos

Conteos por debajo de 100,00 ufc/gr son deseables. Cuando los niveles de ácido láctico son disminuidos por las levaduras y el pH se aumenta por encima del 4.5, el ambiente del ensilaje conduce a un crecimiento de mohos. Esto resultara comúnmente en un ensilaje mohoso, caliente, con muy poca energía y muy inpalatable (Seglar, 2003).

4.8.3 Bacilos

Los conteos de bacilos por debajo de 100.000 ufc/gr son deseables. Puede haber campos probablemente muy contaminados con estos microorganismos durante la cosecha. Los bacilos son altamente termófilos en la presencia de oxígeno y son los responsables primarios por una alto contenido de ADIN (por sus siglas en ingles Nitrógeno ácido detergente insoluble) y es expresado como un porcentaje de materia seca de proteína cruda que es inmovilizada del FDA y no es digestible para el ganado. Altos niveles de ADIN indican un calentamiento excesivo durante la fermentación temprana y durante el

almacenamiento esto a causa de actividad de levaduras, mohos y especialmente bacilos ya que son altamente termófilos (Seglar, 2003).

4.9 Calidad de la fermentación.

Los análisis de fermentación son una herramienta para evaluar la calidad de un ensilaje y están disponibles en la mayoría de los laboratorios especializados en análisis de forrajes. Los reportes de fermentación comúnmente incluyen el pH, ácido láctico, acético, propiónico, butírico, amoníaco y etanol (*Kung y Shaver, 2001*).

Un análisis de calidad de fermentación puede darnos un panorama de que tan bien o mal se fermentó un silo basado en las cantidades de los ácidos grasos volátiles y con esto asumir que microorganismos son los que están presentes en determinado ensilaje. En muchos casos pero no en todos, la fermentación que sufre un forraje puede ser explicada por varios factores como lo son el contenido de humedad, la capacidad buffer y el contenido de azúcar. Sin embargo los factores de manejo como lo son la velocidad de almacenamiento, la densidad, el tipo de aditivo utilizado, el tamaño al corte, el manejo del silo durante el almacenamiento y durante la fase de exposición al oxígeno pueden afectar también los análisis de fermentación (*Kung y Shaver, 2001*).

4.9.1 pH

El pH de una muestra de ensilaje sirve para medir la acidez, aunque también se puede ver afectada por la capacidad buffer del cultivo. Dos muestras pueden contener el mismo pH pero diferentes concentraciones de ácidos. En general los ensilajes de leguminosas tienen un pH más alto que en el caso del ensilaje de maíz o de otros pastos.

Rara vez los ensilajes de maíz tienen un pH más alto a 4.2. En algunos casos esto se asocia con un alto contenido de materia seca (42%) tal es el caso con ensilajes que se dejan madurar mucho o que sufrieron estrés de agua.

Existen varias razones por las cuales el pH de un ensilaje puede estar alto:

- Ensilaje muy seco >50% MS
- Ensilaje con una fermentación incompleta, un muestreo muy temprano relativo a la cosecha, climas fríos durante la cosecha y lentitud en la fase de almacenamiento.

(Kung y Shaver, 2001).

4.9.2 Capacidad búfer.

La capacidad búfer de un ensilaje se mide como el grado de resistencia que tiene un forraje para cambiar el pH. Todos los forrajes tienen diferente capacidad búfer. Forrajes frescos con alta capacidad búfer requerirán más ácido para reducir su pH que forrajes con baja capacidad búfer. En general las leguminosas (frescas) tienen una alta capacidad búfer comparada con el maíz u otros pastos *(Kung y Shaver, 2001)*.

4.9.3 Ácido láctico.

Algunas razones por las cuales puede haber niveles bajos de ácido láctico en un ensilaje son:

- Fermentación restringida a la par de un alto contenido de materia seca (especialmente en leguminosas y pastos con >50% MS)
- Fermentación restringida y climas fríos.
- Muestréos erróneos tomados después de una considerable exposición aeróbica.
- Ensilajes con altos contenidos de ácido butírico (ensilajes clostridiales) generalmente los ensilajes clostridiales tienen un muy bajo ácidoláctico.

(Kung y Shaver, 2001).

4.9.4 Ácido acético.

Ensilajes muy húmedos <25% MS, fermentaciones prolongadas, pobre compactación, lentitud al momento de llenado del silo, son razones para tener altas concentraciones de

ácidoacético en un ensilaje >3 a 4%. Ensilajes tratados con amoniacó tienden a tener niveles altos de ácido acético ya que la fermentación se prolonga por la adición de amoniacó y esto aumenta el pH del ensilaje.

Altos niveles de ácido acético >4-6% pueden causar una ingesta de materia seca baja aunque no en muchos de los casos sucede, hay especulaciones acerca de esto ya que la disminución en la ingesta de materia seca podría ser asociada a una pobre fermentación y no necesariamente a altos niveles de ácido acético. En estudios recientes hay animales que no deprimen su consumo de materia seca cuando se les alimenta con ensilajes que contienen niveles altos de ácido acético estos ensilajes fueron tratados con *Lactobacillus buchneri* que mejora la estabilidad aeróbica (Kung y Shaver, 2001).

4.9.5 Acido butírico.

Altas concentraciones de ácido butírico >0.5% indican que el ensilaje sufrió una fermentación clostridial, la cual es una de los tipos más pobres de fermentación que existen. Ensilajes con altos niveles de ácido butírico generalmente tienen poco valor nutritivo y altos niveles de FDA y FDN ya que muchos de los nutrientes solubles han sido degradados. Estos ensilajes pueden tener altas concentraciones de proteínas solubles y pueden contener pequeños compuestos de proteínas que se llaman aminos las cuales pueden afectar el desempeño del animal que las consuma.

Altos niveles de ácido butírico pueden inducir una cetosis en vacas lactantes ya que el valor energético del ensilaje es muy bajo.

(Kung y Shaver, 2001).

4.9.6 Amoniacó.

Altas concentraciones de amoniacó >12 a 15% de la proteína cruda, son resultado de una alta desnaturalización de proteínas en el silo causada por una lenta disminución de

pH o por acción de clostridios. En general los ensilajes húmedos < 30% MS tienen incluso más amoníaco por la potencial fermentación clostridial que existe en ellos.

En teoría si hay niveles altos de amoníaco en un ensilaje no debería de haber efectos negativos en el desempeño de la vaca si la dieta tiene balanceado los niveles de nitrógeno, sin embargo un alto contenido de amoníaco contribuye a un exceso de proteína degradable en el rumen y esto podría causar un efecto negativo en la leche y en el desempeño reproductivo. Se puede obtener los contenidos de nitrógeno, urea de la leche y la sangre para saber si hay un exceso de proteína degradable en el rumen (*Kung y Shaver, 2001*).

4.9.7 Etanol.

Altas concentraciones de etanol generalmente son un indicador de que existe acción metabólica por parte de las levaduras. Los contenidos de etanol en un ensilaje deben de ser bajo <1 a 2%. Contenidos altos de etanol >3 a 4% pueden causar olores desagradables en la leche (*Kung y Shaver, 2001*).

Cuadro3 Concentraciones típicas de una fermentación común, productos finales en el ensilaje de maíz y en maíz con humedad alta

Producto final	Ensilaje de maíz (30-40%) ¹	Maíz con altos contenidos de humedad (70-75%) ¹
pH	3.7 a 4.2	4.0 a 4.5
Ácido láctico %	4 a 7	0.5 a 2.0
Ácido acético %	1 a 3	<0.5
Ácido propionico %	<0.1	<0.1
Ácido butírico %	0	0
Etanol %	1 a 3	0.2 a 2.0
Amoníaco -N (% de CP)	5 a 7	<10
¹ Base materia seca		

4.10 Estabilidad aeróbica.

Estabilidad aeróbica es un término utilizado por los nutriólogos para definir la cantidad de tiempo que el ensilaje permanece frío y no sufre deterioro después de su exposición al aire. Cuando la fermentación está completa y el ensilaje es expuesto al aire durante la fase de alimentación o durante la fase de almacenamiento (silos con aberturas, hoyos, silos mal sellados), el calor en el silo es generalmente iniciado por las levaduras (en menores veces por algunas bacterias).

Cuando los animales consumen ensilajes deteriorados las causas exactas de que se reduzca la ingesta aún no están bien comprendidas. Las levaduras tienen desechos que perjudican y alteran la fermentación del rumen, el consumo directo de nutrientes deteriorados reduce el desempeño del animal así como también la producción el consumo de productos indeseables como las micotoxinas provenientes de los mohos (*Kung Jr., 2005*).

En general, el aumento de la temperatura del ensilaje, después de expuesto al aire, es la manera más fácil de diagnosticar el deterioro aeróbico. Esto se hace con un termómetro que tenga unos 30 cm de largo en la cara del silo. Temperaturas superiores a 5 °C de la temperatura ambiente indican deterioro. Pero otros síntomas deben ser considerados como mohos visibles, falta de olor dulce o ácido, olor a material enmohecido (*Andrade Filho, et al 2010*).

4.11 Inoculantes

Los inoculantes microbiales contienen bacterias seleccionadas para dominar la fermentación de los cultivos en el silo. Los inoculantes están divididos en dos categorías dependiendo de cómo fermentan un azúcar común en la planta, la glucosa. *Los homofermentadores* producen solo ácido láctico y dentro de ellos se encuentran especies de *Lactobacillus* como *Lactobacillus plantarum*, y especies de *Pediococcus spp*, y *Enterococcus spp*. La otra categoría, los heterofermentadores producen ácido láctico,

ácido acético o etanol, y bióxido de carbono. *Lactobacillus buchneri* es el mejor ejemplo de un heterofermentador (Contreras-Govea y Muck, 2009).

4.11.1 Inoculantes homofermentadores.

Las BPAL (bacterias productoras de ácidoláctico), homofermentadoras son los inoculantes más comunes en el mercado. Inicialmente, el objetivo principal de usar estos inoculantes fue preservar la calidad de las plantas ensiladas tan cerca a su estado original como fuera posible. Las bacterias homofermentadoras logran este objetivo a través de bajar el pH, reduciendo las pérdidas de materia seca a un nivel mínimo (2–3%), disminuyendo proteólisis (el rompimiento de proteínas) y formación de amonio, y aumentando ácido láctico y digestibilidad de la materia seca. Una reducción rápida en el pH también puede inhibir bacterias de clostridios que producen ácido butírico, un producto de una mala fermentación que produce un mal olor. Además, bacterias homofermentadoras tienen el potencial de mejorar el desempeño animal. Una revisión de estudios de investigación reportó que esos inoculantes mejoran la ganancia de peso en ganado de carne y la producción de leche de las vacas en lactación en el 50% de los estudios (Kung y Muck, 1997).

La causa de este mejoramiento en el desempeño no está clara. Estudios bajo condiciones in vitro sugieren que los ensilajes inoculados mejoran el crecimiento de las bacterias ruminales, lo cual ha sido observado aun cuando los inoculantes tuvieron poco efecto en la fermentación del ensilaje. Sin embargo, los estudios in vitro también mostraron que no todos los inoculantes funcionan igual, lo cual podría indicar un efecto específico de ciertas cepas. (Muck, 2008).

Un inoculante homofermentador es una buena elección para ensilaje de leguminosas, como la alfalfa, tienen más baja cantidad de carbohidratos solubles y una mayor resistencia a bajar el pH que los pastos o el maíz. En consecuencia, el ensilado de

leguminosas tiende a tener un pH más alto que el ensilado de maíz y zacates, haciéndolos más susceptible a una fermentación clostridial cuando se ensilan más húmedo (>65% de humedad). Un inoculante homofermentador hace un uso más eficiente de los azúcares de la planta al bajar el pH, especialmente cuando el contenido de humedad está marginalmente alto. Los inoculantes homofermentadores son la mejor elección cuando se quiere mejorar la calidad del alimento de cualquier clase de ensilado. Los inoculantes homofermentadores aumentan la recuperación de material seco de un silo bien manejado porque la fermentación es más eficiente (*Contreras-Govea y Muck, 2009*).

Aunque no está aun completamente entendido, inoculantes homofermentadores, cuando son efectivos, mejoran la condición del animal en un 3 a 5% (*Kung y Muck, 1997*).

4.11.2 Inoculantes heterofermentadores.

El principal propósito de los inoculantes heterofermentadores es mejorar la estabilidad aeróbica (la presencia de oxígeno) a través de reducir el nivel de levaduras en el ensilaje (un alto nivel de levaduras puede causar calentamiento). *Lactobacillus buchneri* es la principal bacteria productora de ácido láctico heterofermentativa usada en cultivos forrajeros en U.S.A. (*Muck, 2008*). *Lactobacillus buchneri* produce más ácido acético que bacterias homofermentativas. (*Kleinschmit y Kung, 2006*).

Estas bacterias son más efectivas en maíz que en alfalfa o cereales de grano pequeño porque *L. buchneri* es menos abundante en maíz que en alfalfa (*Lin et al., 1992*).

Debido al bajo nivel de *L. buchneri* y otras bacterias heterofermentadores en maíz, ácido acético, un inhibidor de levaduras, normalmente es más bajo en maíz que en alfalfa, haciendo el maíz más susceptible a problemas de estabilidad aeróbica, principalmente cuando el silo es abierto en el verano con temperaturas altas.

Un problema con *L. buchneri* es que crece más lento que otras bacterias en el ensilaje; por tanto, las bacterias naturales homofermentadoras promoverán la fermentación inicial, y más tarde *L. buchneri* convertirá el ácido láctico a ácido acético. Debido a esto, cuando *L. buchneri* es usado, se recomienda dejar un mínimo de 45–60 días antes de abrir el silo para asegurar una buena estabilidad aeróbica (Muck, 2008).

Recientemente, algunas BPAL heterofermentadoras, tales como *L. buchneri*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, y *L. brevis*, se ha reportado que producen feruloil esterasas. Las feruloil esterasas son enzimas que aumentan la degradación de la pared celular, liberando más carbohidratos solubles de las plantas para fermentación o uso de las bacterias del rumen. La ventaja de estas cepas de BPAL es que, además de mejorar la estabilidad aeróbica, aumentan la digestibilidad del ensilaje y —potencialmente— el desempeño animal (Nsereko *et al.*, 2008).

4.11.3 Diferencia entre inoculantes heterofermentadores y homofermentadores.

Los homofermentativos son más eficientes en el uso de la energía que los heterofermentativos. Durante la homofermentación, cada molécula de glucosa produce dos moléculas de ácido láctico, una mayor recuperación de materia seca y poca pérdida de energía en el ensilaje. El ácido láctico es además un ácido fuerte que reduce más el pH en el ensilado que otros ácidos. El pH final es más alto cuando la fermentación es dominada por heterofermentadores comparado con homofermentadores. Por cada molécula de glucosa usada en heterofermentación, es producida una molécula de ácido láctico, una de ácido acético o etanol, y bióxido de carbono. El bióxido de carbono sale del ensilaje como un gas, resultando en pérdidas de materia seca. El ácido acético no es un ácido fuerte como el láctico, y el etanol no tiene efecto en el pH (Contreras-Govea & Muck, 2009).

4.12 Lactobacillus buchneri.

Es la principal bacteria heterofermentadoras usada como inoculante para ensilaje. Estas bacterias pueden convertir ácido láctico a ácido acético y otros productos. El ácido acético es un buen inhibidor de levaduras y hongos que provocan calentamiento y pudrición del ensilaje. Por tanto, el ácido acético puede mejorar la estabilidad aeróbica del ensilado. Comparado con los inoculantes homofermentadores, las pérdidas de material seca son similares o mayores en 1 a 2%, y la digestibilidad no es afectada significativamente por *L. buchneri*, pero la estabilidad aeróbica es consistentemente mejorada en los ensilados y maíces de alta humedad. Sin embargo, *L. buchneri* no parece mejorar la condición animal más allá de solo mantener el ensilado fresco en el silo por más tiempo (larga vida del silo) (Contreras-Govea y Muck, 2009).

Un inoculante que contiene *L. buchneri* pueden ser una buena elección cuando se ha tenido la experiencia de una pobre estabilidad aeróbica en el pasado. La mayor concentración de ácido acético producido por estos inoculantes decrece el crecimiento de levaduras y hongos que provocan que el ensilado se caliente y pudra. Sin embargo, es importante reconocer que muchos problemas de calentamiento son provocados por otros aspectos de manejo del ensilaje como ensilar cultivos muy secos, una baja densidad de almacenamiento, un pobre sellado, baja tasa de remoción del ensilado y remover más ensilado del silo de lo que se va a alimentar inmediatamente. Estos aspectos deben de ser revisados antes de buscar la ayuda de un aditivo para ensilaje. Aun cuando el manejo del ensilado es bueno, se pueden tener problemas de calentamiento durante la remoción del ensilado de maíz, de cereales de grano pequeño y de maíz de alta humedad, especialmente en el verano. Puesto que no sabemos qué tan caliente va a estar el próximo verano, la aplicación de *L.buchneri* o una combinación de inoculantes en anticipación a problemas de pudrición (por ejemplo en maíz) puede ser

útil para evitar calentamiento en ensilados que se calientan al momento de alimentar (Contreras-Govea y Muck, 2009).

4.13 Combinaciones de inoculantes.

La combinación proporciona una buena fermentación y recuperación de materia seca a través de una mayor concentración de ácido acético y una mejor estabilidad aeróbica que un inoculante homofermentador. Además, el pH disminuye más rápido con la combinación de inoculantes que con uno conteniendo solo *L. buchneri*. No hay investigación publicada en este momento que indique si estos productos mejoran la condición del animal tanto como los inoculantes homofermentadores tradicionales (Contreras-Govea y Muck, 2009).

4.14 Microorganismos ideales en un inoculante.

Un inoculante puede contener una o más cepas de bacteria productora de ácido láctico. La especie homofermentativa más común es *Lactobacillus plantarum*. Otras especies comunes homofermentativas incluyen *Lactobacillus* o *Pediococcus* y *Enterococcus faecium*. *Lactobacillus buchneri* es la especie heterofermentativa usada para mejorar la estabilidad aeróbica (Contreras-Govea y Muck, 2009).

4.15 Dosis.

Las etiquetas de los inoculantes son muy variables y hace difícil que los productos se puedan comparar. Lo que importa es la cantidad de bacterias productoras de ácido láctico vivas por unidad de cultivo (dosis de inoculación). Se debe comprar un producto que asegure al menos 90 billones (o 9×10^{10}) de bacterias productoras de ácido láctico vivas por ton de cultivo o bien 100,000 por gramo de cultivo. Algunos productos dicen cuántas bacterias hay en la bolsa o envase, o cuántas bacterias hay por gramo de inoculante. En esos casos, se debe calcular la cantidad a aplicar dividiendo el número de bacterias que dice en el paquete entre el número de toneladas que el paquete puede

tratar. Dosis de aplicación del inoculante mayores al mínimo puede ser mejor, aunque no siempre, porque hay diferencia en la actividad de las bacterias o bien en la estabilidad de la población bacteriana entre algunos productos en particular. Las Compañías deben de tener datos de investigación que soporten la eficiencia de sus inoculantes y deben de tomar medidas que aseguren que el producto que se compra contiene el número y especies de bacteria que aparece en la etiqueta (*Contreras-Govea y Muck, 2009*).

5 Materiales y métodos.

5.1 Inoculantes, dosis y dilución.

El procedimiento experimental considero utilizar combinaciones comerciales de bacterias productoras de ácido láctico homofermentadoras, heterofermentadoras y un testigo, que se describen a continuación junto con su dosificación y dilución según lo que el laboratorio que comercializa los inoculantes utilizados indica en la etiqueta del producto:

Tratamiento 1: *L. Plantarum + L. Acidilacti + E. Faecium + L. Salivarius*

- ✓ 5 gramos por tonelada.
- ✓ 75 gramos por camión de 15 toneladas.
- ✓ 75 gramos diluidos en 16 litros de agua.
- ✓ Para ser más eficientes en la aplicación se usaron dos mochilas aspersoras cada una con 8 litros de agua y 37.5 gramos de este inoculante.

Tratamiento 2: *L. Plantarum + P. Pentosaceus.*

- ✓ 5 gramos por tonelada.
- ✓ 75 gramos por camión de 15 toneladas.
- ✓ 75 gramos diluidos en 16 litros de agua.
- ✓ Para ser más eficientes en la aplicación se usaron dos mochilas aspersoras cada una con 8 litros de agua y 37.5 gramos de este inoculante

Tratamiento 3: *L. Buchneri + E. Faecium + L. Plantarum.*

- ✓ 2 gramos por tonelada
- ✓ 30 gramos por camión de 15 toneladas

- ✓ 30 gramos diluidos en 16 litros de agua.
- ✓ Para ser más eficientes en la aplicación se usaron dos mochilas aspersoras cada una con 8 litros de agua y 15 gramos de este inoculante.

Tratamiento Testigo: (Sin inoculante).

5.2 Elaboración de los silos pastel.

El día 25 de Julio del año 2013 se comenzó con la cosecha del maíz para este estudio, el híbrido de maíz utilizado en este estudio fue “9150” de la compañía ABT (Agribiotech), este maíz fue cosechado con una ensiladora CLAAS (Jaguar 890).

Se cosecharon 1014 toneladas, almacenadas en 16 silos pastel de 60 toneladas cada uno aproximadamente.

Tratando de lograr cierta uniformidad en la materia seca, los predios de donde fue cosechado el material para este estudio fueron monitoreados previamente, escogiendo plantas al azar del predio, moliéndolas y determinando materia seca con ayuda de un horno de microondas.

Los camiones que transportaban el maíz cosechado se pesaron en la báscula del establo ahí se tomaban datos para su identificación y se realizaba la toma de muestras (*Ver, “Toma de muestras”*).

A la llegada de los camiones al área de almacenamiento estos descargaban el maíz en una explanada de tierra para que dos tractores John Deere 7025 con ayuda de una pala pasaran por el montón que dejaba cada camión con el fin de exponer el material y que dos personas equipadas con mochila aspersora pudieran hacer la aplicación del inoculante, este paso se realizaba cuatro veces para que se pudiera aplicar la dosis adecuada por tonelada lo más uniforme posible.

5.2.1 Capacidad y dimensiones de los silos pastel.

El estudio trató que todos los silos pastel fueran idénticos en dimensiones buscando una altura de 1.5 metros y un ancho de 7 a 8 metros. Cada uno de los silos pastel albergó 60 toneladas de maíz aproximadamente (*Tremblay, 2014; Rankin M., 2014*).

5.2.2 Apisonado.

El apisonado o compactado de cada silo pastel se realizó con dos tractores John Deere modelo 7025 con llanta doble, los tractores tenían un peso de 9,950 y 10,050 Kilogramos (*López y Ortega, 2006*).

5.2.3 Sellado.

El uso de plástico se ha incrementado para cubrir los silos para conservar desde ensilajes de corte directo, ensilajes pre-oreados y ensilajes con baja humedad.

Se usó plástico negro de polietileno de 800 micras, silo stop (película plástica de 45 micras impide en un 100% la penetración de oxígeno), lonas industriales y llantas en la superficie de los silos pastel (*Weinberg y Ashbell, 2003*).

5.3 Monitoreo de temperatura.

La temperatura es un factor que es fácil y práctico de medir que nos da un panorama de cómo se está comportando la fermentación de un ensilaje. En este estudio se pudieron realizar mediciones de temperatura de dos maneras diferentes.

5.3.1 Sensores de temperatura (Tiny-Tag),

En pastel 7 y 8, estos sensores fueron plantados previamente a la fase de sellado a un metro de profundidad en el centro de estos pasteles, estos sensores permitieron monitorear la temperatura de estos dos silos pastel durante 21 días (días que dura el proceso de fermentación en el ensilaje); los sensores hacían una medición cada 3 horas durante 21 días y al extraerlos se obtuvo una gráfica de cómo se comportó la temperatura en estos dos silos pastel. Se escogieron estos dos silos pastel ya que el 7 fue

inoculado con *L. Buchneri* + *E. Faecium* + *L. Plantarum*, y el silo pastel 8 fue un testigo, el propósito de esto fue comparar como se comportaba la temperatura de un silo pastel con *L. Buchneri* contra uno que no estuviera inoculado.

5.3.2 Termómetro digital

Otra metodología utilizada en este estudio para determinar la temperatura diaria de los silos pastel durante la fase de fermentación fue utilizando un termómetro digital con una punta de 11 centímetros el cual fue introducido en lo que en este caso le llamamos punto A, punto B y punto C (Figura 1) de la superficie del silo pastel.

La temperatura fue monitoreada desde el 26 de Julio del 2013 fecha de inicio del estudio hasta Octubre de 2013.

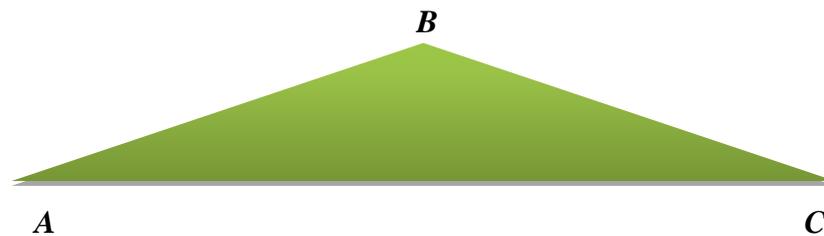


Figura 1

Durante la fase de alimentación la temperatura también fue monitoreada con un termómetro digital.

La actividad de monitoreo de temperatura en esta fase consistía en tomar tres puntos de la cara del silo pastel (1, 2, 3, figura 2) y tomar la temperatura a las 24, 48 y 72 horas con el fin de observar los cambios de temperatura de la cara del silo pastel durante 3 días de exposición al oxígeno.



Figura 2

5.4 Apertura de los silos pastel.

El 19 de febrero del 2014, a los 209 días de fermentación se comenzaron a consumir los silos pastel. Apertura de la mitad de los silos pastel: esta actividad consistió en abrir los silos pastel solo a la mitad con el fin de tener la cara del silo pastel para, tomar muestras (*Ver, "Toma de muestras"*) para análisis bromatológicos, determinar densidad de cada silo pastel, y monitorear la temperatura durante 72 horas de exposición de la cara al oxígeno(*Seglar et al., 1999*).

5.4.1 Eliminación de material deteriorado en la superficie de los silos pastel.

Esta actividad consistía en eliminar el material deteriorado formado en la superficie y las orillas de los silos, la presencia de hongo fue notable a causa de las perforaciones que se hicieron durante el proceso de ensilaje para la extracción de muestras, esto daba pie a penetración de oxígeno en la superficie de los silos pastel, el hongo era eliminado con el uso de horquillas y todo el material contaminado era retirado del área de trabajo.

5.5 Fase de alimentación (feed-out).

Con el uso de un trascabo y un camión de carga se comenzaba la fase de extracción y consumo del silo pastel. Por cada mitad de silo pastel se entregaba al establo alrededor de 30 toneladas (2 camiones de carga) el tonelaje de cada camión de carga era registrado para al final del proceso de muestreo pesar la segunda mitad y comparar las toneladas entrantes con las toneladas de salida y con esto determinar la cantidad o porcentaje de merma en cada uno de los silos pastel.

5.5.1 Manejo de la cara de los silos pastel.

Con la ayuda de la pala del trascabo se hacía un corte a la cara del silo pastel con el fin de dejar la cara lo más lisa posible para evitar la penetración de oxígeno a la mitad restante del silo.

5.5.2 Densidad de los silos pastel.

Se determinó la densidad (kg/ms/m3) de cada uno de los silos pastel para evaluar el proceso de compactación. Se utilizó un taladro de baterías con un sacabocado, esta actividad consistió en perforar tres puntos (punto 1, punto 2, punto 3) de la cara del silo pastel como se muestra en la *figura 4*, el material obtenido con el sacabocado se pesaba, el orificio que dejaba la perforación con el sacabocado se medía en centímetros y tanto el peso de la muestra como los centímetros que perforo el taladro en la cara del silo se capturaban en una hoja de cálculo adaptada de la desarrollada por la Universidad de Wisconsin (<http://fyi.uwex.edu/forage/cs/>)(cuadro 4) la cual con estos datos nos ayudó a determinar los kg/ms/m3 en cada silo pastel.

Cuadro4 Hoja de cálculo adaptada de la desarrollada por la Universidad de Wisconsin (<http://fyi.uwex.edu/forage/cs/>).

PASTEL 1

ENSILAJE DE MAÍZ BLANCO

FECHA

19-feb-14

Muestra	TEMPERATURA centigrados	Peso Kg	Area cm ²	Prof cm	Densidad kg/m ³	MS %	DENSIDAD kg MS/m ³	OBJETIVO kg MS/m ³
1	19	0.1980	18.0956	22.00	497.36	34	169.10	> 225
2	18	0.1780		21.00	468.41		159.26	
3	19.5	0.2030		23.00	487.75		165.83	
					484.51		164.73	



Figura 3

5.6 Toma de muestras.

5.6.1 Muestreo en la fase de llenado

Durante esta fase se tomaron 3 muestras por cada camión de cada silo pastel.

1. Se tomó una muestra para determinar el promedio de materia seca de cada uno de los silos pastel.
2. Una muestra que se identificó con el número del silo pastel y estas fueron enviadas al laboratorio encargado de realizar los estudios bromatológicos.
3. Una muestra con la que se determinó el tamaño de partícula utilizando las cribas de Penn State.

5.6.2 Muestreo en la fase estable del ensilaje:

A los 21 días de fermentación se perforaron los 16 silos pastel en 3 puntos diferentes de la superficie para extraer una muestra compuesta y enviarla al laboratorio para realizarle análisis bromatológicos.

5.6.3 Muestreo en la fase de alimentación:

En esta fase final del estudio se tomaban tres muestras.

1. Muestra para determinar materia seca en horno de microondas, esta muestra permitía alimentar la hoja de cálculo de densidad de cada silo pastel.
2. Muestra compuesta del forraje para análisis bromatológico, y ácidos grasos volátiles en el laboratorio.

3.

Después

de 72 horas de exposición de la cara del silo al oxígeno se tomaba una muestra solo para determinar ácidos grasos volátiles en el laboratorio.

5.7 Evaluación de estabilidad aeróbica mediante análisis de perfil de fermentación.

El análisis de perfil de fermentación en el laboratorio sirve para verificar hallazgos o para ayudar al diagnóstico de problemas en el silo que no pueden resolverse en el sitio de la evaluación. Si se requieren muestras estas deben tomarse en recipientes herméticos que no aislen al material ensilado del oxígeno y agua, estas muestras se pueden identificar con un marcador permanente con todos los datos posibles para evitar confusiones a la hora de la entrega de los resultados, para el transporte de las muestras se recomienda que estén refrigeradas y que no estén expuestas al sol durante su traslado. (Seglar et al., 1999).

Para evaluar la estabilidad aeróbica en este estudio se evaluó el perfil de fermentación (ácidos grasos volátiles). Para lo cual se tomaron muestras a las cero horas de abrir la primera mitad de los silos pastel, y una segunda muestra fue tomada a las 72 horas después de que el silo estuvo expuesto al oxígeno.

Estas muestras fueron debidamente etiquetadas, y enviadas al laboratorio; para cuidar la calidad de las muestras estas fueron refrigeradas durante su traslado y se evitó que estuvieran expuestas al sol siguiendo las recomendaciones de Seglar et al. (1999).

5.8 Análisis estadístico.

5.8.1 Diseño experimental.

Para la elaboración de los silos pastel, los tres diferentes tratamientos y el testigo fueron ordenados en un diseño al azar, en donde:

Tratamiento 1: *L. Plantarum* + *L. Acidilacti* + *E. Faecium* + *L. Salivarius*.

Tratamiento 2: *L. Plantarum* + *P. Pentosaceus*.

Tratamiento 3: *L. Buchneri* + *E. Faecium* + *L. Plantarum*

Sin tratamiento 4: Testigo.

5.8.2 Variables de medición.

Se evaluaron las siguientes variables: % de ácido láctico, % ácido acético, % amoníaco y temperatura, para cada tratamiento durante 72 horas durante la fase de “alimentación” (exposición al oxígeno).

5.8.2 Análisis de los datos.

A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA), y para separar las medias se usó la diferencia mínima significativa (LSD) al 5% utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.1.

6 Resultados y discusión.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del tipo del inoculante sobre la fermentación del ensilaje de maíz. Los resultados de este trabajo se presentan en el cuadro 3 y en la gráfica 1.

El efecto del inoculante sobre el porcentaje de ácido láctico solo muestra una tendencia entre tratamientos ($P = 0.1$), de tal forma que numéricamente el tratamiento 1 fue el que más cantidad arrojó.

Cuadro 3. Efecto de los diferentes inoculantes sobre variables de fermentación del ensilaje de maíz.

Variable	Testigo	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Valor-p
%Ácido láctico	6.1438 ^b	6.933 ^a	6.253 ^b	6.523 ^{ab}	P=0.1
%Ácido acético	4.533 ^a	4.876 ^a	4.653 ^a	4.908 ^a	P>0.1
%Amoniaco	0.693 ^a	0.793 ^a	0.770 ^a	0.700 ^a	P>0.1
Temperatura	21.889 ^a	19.866 ^b	21.577 ^a	21.094 ^a	P<0.05

Renglon con literal distinta fueron significativamente diferentes ($P=0.1$)

Testigo: No tratado

Tratamiento 1: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidilacti*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius*.

Tratamiento 2: *Lactobacillus plantarum*, *Pedococcus pentosaceus*.

Tratamiento 3: *Lactobacillus buchneri*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*.

Rota et al. (2012) mencionan que “las bacterias ácido lácticas (BAL), son usadas como aditivos en los ensilajes para mejorar la fermentación del ensilaje y la preservación del valor energético; se han usado estas bacterias ya que son rápidas y eficientes productoras de ácido láctico mejorando así la fermentación natural del ensilaje”, señalando además que los ensilajes inoculados, comparados con ensilajes no tratados, muestran un pH más bajo, mayor ácido láctico y menos contenido de nitrógeno amoniacal.

Tampoco se observó diferencia significativa ($P > 0.1$) en el efecto del tipo de inoculante sobre la cantidad de ácido acético, sin embargo existe una diferencia numérica desfavorable para los silos de pastel testigo que son los que producen menos ácido

acético y los silos pastel tratados con *L.buchneri*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* (**tratamiento 3**) arrojaron porcentajes más altos de este ácido.

Muck (2004) afirma que los efectos de la inoculación de los ensilajes con *L.buchneri* se muestran cuando hay una disminución en las poblaciones de levaduras, en este trabajo los silos tratados con esta bacteria fueron los que tenían conteos de levaduras menores, esto se puede deber gracias a la conversión de ácido láctico a acético por parte de esta bacteria

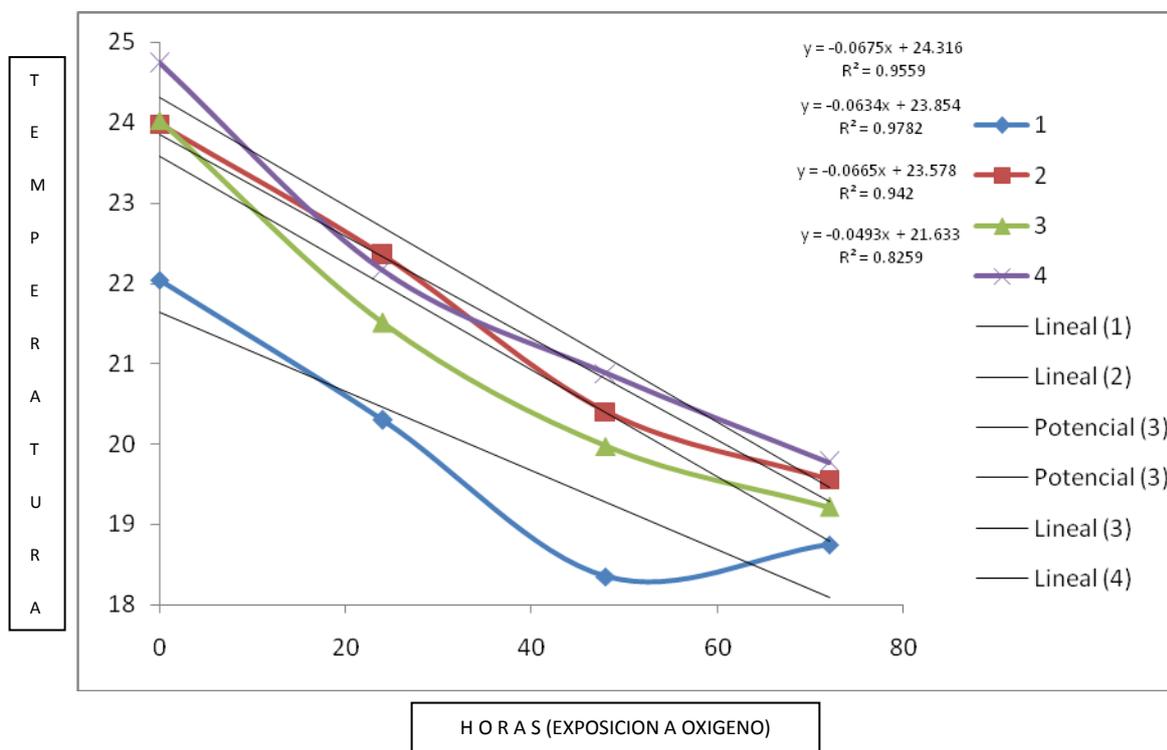
En cuanto al contenido de amoníaco no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.1$), pero hay una diferencia numérica en el porcentaje de amoníaco siguiendo el mismo patrón que en las demás variables siendo los silos pastel testigo los que tienen valores menores y siendo los pasteles inoculados los que arrojan los datos más altos destacando los silos pastel del tratamiento 1 con el porcentaje más alto de amoníaco. Niveles altos de amoníaco indican una pobre o una extensiva fermentación, indicando una pérdida de proteínas derivada de una actividad enzimática proteolítica en el cultivo. Altos niveles de nitrógeno amoniacal también se asocian con actividad proteolítica de una fermentación secundaria por clostridios y con esto se presentaron problemas significativos durante la alimentación (Seglar, 2003).

En la temperatura hubo diferencia significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos siendo mejor el que tiene la mezcla de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidilacti*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius* (**tratamiento 1**) ya que mantuvo más fríos los silos pastel tratados en un periodo de 72 horas a partir de la exposición al oxígeno en la fase de alimentación o deterioro aerobico. Generalmente un silo con un deficiente manejo en la cara tendrá altas temperaturas y por lo tanto un pH alto y viceversa. La temperatura y pH indican que hay una actividad de levaduras por lo cual

el silo estará sufriendo una inestabilidad aeróbica. Las lecturas de temperatura deben tomarse en varios puntos del silo para eliminar la influencia que tiene la temperatura ambiente sobre este. Una meta para un ensilaje estable es que no exceda más de 6°C por encima de la temperatura ambiente. Estructuras de almacenamiento muy largas son capaces de retener el calor por más tiempo que las pequeñas estructuras (Seglar, 2003).

En la gráfica 1 se puede observar el descenso de temperatura en todos los silos pastel en la fase de “alimentación” desde su apertura hasta las 72 horas posteriores, destacando los silos pastel con inoculados con *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidilacti*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius*, enfriándose más rápidamente y con un descenso de temperatura considerable a la hora 50.

Gráfica 1 Comportamiento de la temperatura de los silos pastel durante la fase de “alimentación” o “deterioro aeróbico” desde la hora cero (apertura) hasta las 72 horas (inicio del consumo).



En este estudio, no se llevaron a cabo las determinaciones de otras variables como otros ácidos grasos (butírico y propiónico) así como el que son de gran importancia para conocer aún más la fermentación en los silos pastel.

Es importante señalar que este trabajo se realizó en condiciones de operación en un establo comercial, desde la cosecha hasta el almacenamiento del maíz en los silos pastel, en este estudio se trató de controlar cada una de las fases en la ingeniería del ensilaje y a pesar de la magnitud del proyecto cuidar los detalles para que cada uno de los silos pastel fuera idéntico al otro.

Conclusiones

Bajo las condiciones establecidas en este trabajo no se observaron efectos de la aplicación de inoculantes sobre la cantidad de ácido acético, láctico, amoníaco de los ensilajes evaluados. Sólo en el caso de la temperatura se manifestó efecto del tipo de inoculante y una correlación elevada entre el tiempo post exposición al oxígeno y la disminución de la temperatura, lo cual implica mejor estabilidad aeróbica en el ensilaje. Utilizar inoculantes no es una garantía de una excelente fermentación sin embargo ayuda a mejorarla y a proteger los silos en la fase más crítica que es la fase de alimentación o la fase de deterioro aeróbico.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Andrade Filho, R., Mohamad, L., (n.d.). *Estrategias para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje*. Producir XXI. A. 18, (219).
2. Ashbell, G., Pahlow, G., Dinter, B., & Weinberg, Z.G. 1987. *Dynamics of orange peel fermentation during ensilage*. *J. Appl. Bacteriol.*, 63: 275-279.
3. Auerbach, H. 1996. *Verfahrensgrundlagen zur Senkung des Risikos eines Befalls von Silagen mit *Penicillium roqueforti* und einer Kontamination mit Mykotoxinen dieses Schimmelpilzes*. Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 168, p. 1-167, Ph.D. diss. Universität Hohenheim, Germany.
4. Auerbach, H., E. Oldenburg, and F. Weissbach 1998. *Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortin C in silages*. *J. Sci. Food Agr.* 76,565-572.
5. Scudamore, K.A., and C.T. Livesey 1998. *Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage, a review*. *J. Sci. Food Agr.* 77, 1-
6. Cato, E.P., W.L. George, and S.M. Finegold 1986. *Genus Clostridium*. p.1141-1200. In: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt(ed.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA.
7. Chalupa W. *Requerimientos de forrajes de vacas lecheras*. Primer ciclo internacional de conferencias sobre nutrición y manejo. Gomez Palacio, Dgo. 1995; 19-28.
8. Chaverra Gil, H., & Bernal Eusse, J. (2001). *El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno*. (1st ed., pp. 1, 4 y 12). Colombia: Tercer Mundo Editores.
9. Claus, D, and R.C.W. Berkeley 1986. *Genus Bacillus*. p.1105-1139. In: P.H.A.Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (ed.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA.

9. Contreras-Gevea, F., & Muck, R. (2009). *Inoculantes Microbiales para ensilaje*. Su Uso En Condiciones De Clima Cálido. Servicio De Extension Cooperativa. Facultad De Ciencias Agrícolas, Ambientales Y Del Consumidor. Circular, 642, 1--8.
10. Crops and Soils (Penn State Extension), (2014). *Corn Silage Production and Management* — Crops and Soils (Penn State Extension). [online] Available at: <http://extension.psu.edu/plants/crops/grains/corn/silage/corn-silage-production-and-management> [Accessed 19 May. 2014].
11. Cuadrado latino:
http://bellman.ciencias.uniovi.es/d_experimentos/d_experimentos_archivos/Tema4.pdf
12. Driehuis, F., & van Wijkelaar, P.G. 1996. *Effects of addition of formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability*. p. 256-257, in: Jones *et al.*, 1996, q.v.
13. Faz Contreras, R., Hernández, G., Tovar Gómez, M., Zavala Gómez, A., & o., (2001). *Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México*. Técnica Pecuaria En México, 39.
14. Frevel, H.-J., G. Engel, and M. Teuber 1985. Schimmelpilze in Silage und Rohmilch. *Milchwissenschaft* **40**,129-132.
15. Garcia, A., Thiex, N., Kalscheur, K., & Tjardes, K. (2005). *Interpretación del análisis del ensilaje de maíz*. College Of Agriculture & Biological Sciences De SDSU, 1, 2 y 3. Recuperado de <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4027S.pdf>
16. Gibson, J. 1965. Clostridia in silage. *J. Appl. Bacteriol.* 28,56-62. Klijn, N., F.F.J. Nieuwenhof, J.D. Hoolwerf, C.B. van der Waals, and A.H. Weerkamp

1995. *Identification of Clostridium tyrobutyricum as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification.* Appl. Environ. Microbiol. 61,2919-2924.
17. Gibson, T., A.C. Stirling, R.M. Keddie, and R.F. Rosenberger 1958. *Bacteriological changes in silage made at controlled temperatures.* J. Gen. Microbiol. **19**,112-129.
18. Giffel, M.C. te 1997. *Isolation, identification and characterization of Bacillus cereus from the dairy environment.* Ph.D. diss. Wageningen Agricultural University, The Netherlands.
19. Giffel, te M.C., R.R. Beumer, B.A. Slaghuis, and F.R. Rombouts 1995. *Occurrence and characterization of (psychrotrophic) Bacillus cereus on farms in the Netherlands.* Neth. Milk Dairy J. **49**,125-138
20. Goodrich, R.D and J.C. Meiske. 1985. *Corn and sorghum silages.* In: Forages. The science of Grassland Agriculture. M.E. Heath, R.F. Barnes, D.S. Metcalfe (ed.). Fourth Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, U.S.A. pp 527-536.
21. Heinrichs, J., & Kononoff, P. (2002). *Evaluando el tamaño de partícula de forrajes y RTMs usando el Nuevo Separador de Partículas de Forraje de Penn State.* Departamento De Ciencias Animales Y Lecheras De La Universidad Estatal De Pennsylvania, Extensión Cooperativa. DAS, 02--42.
22. Honig H., *Mechanical and respiration losses during pre-wilting of grass,* en: C. Thomas (ed.), Forage Consumption en los 1980s. Occasional Symposium No. 11. British Grassland Society, Hurley, Berkshire, UK, 1980, pp. 201-204.

23. Honig, H., and M K. Woolford 1980. *Changes in silage on exposure to air*. p.76-87. In: C. Thomas (ed.) Forage Conservation en los 80s. Occasional Symposium No. 11. British Grassland Society, Hurley, Berkshire, UK.
24. Huchet, V., D. Thuault, and C.M. Bourgeois 1995. *Modélisation des effets du pH, de l'acide lactique, du glycérol et du NaCl sur la croissance des cellules végétatives de Clostridium tyrobutyricum en milieu de culture*. Lait 75,585-593.
25. Jonsson, A., H. Lindberg, S. Sundås, P. Lingvall, and S. Lindgren 1990. *Effect of additives on quality of big-bale silage*. Anim. Feed Sci. Technol. **31**,139-155.
26. Kehler, W., and H. Scholz 1996. Botulismus des Rindes. Übersichten zur Tierernährung 24, 83-91. Vos, N. 1966. Über die Amin- und Ammoniakbildung im Gärfutter. D. Wirtschafteig. Futter 12, 161-171.
27. Keith K. Bolsen, G. Lance Huck, Mary Kay Siefers, Tobina E. Schmidt, Pope, R., & Uriarte, M. (1992). *Silage Management: Five Key Factors*. Methods, 10(1).
28. Kleinschmit, D.H., Schmidt, R.J., Kung Jr., L., 2005. *The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage*. J. Dairy Sci. **88**, 2130–2139.
<http://dairysilage.net/forms/newbrochures/sdarticle.pdf>
29. Kleter, G., W.L. Lammers, and A.E. Vos 1982. *The influence of pH and concentration of lactic acid and NaCl on the growth of Clostridium tyrobutyricum in whey and cheese 1. Experiments in whey*. Neth. MilkDairy J. **36**, 79-87.
30. Kung Jr., L. (2005). *Aerobic Stability of Silages*. In Conference on Silage for Dairy Farms (p. Introduction). Newark, DE: University of Delaware.

31. Kung, Jr., L., & Muck, R. E. (1997). *Animal response to silage additives*. In *Silage: Field to Feedbunk* [NRAES-99] (pp. 200–210). Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service
32. Kung, L., Shaver, R., & y., (2001). *Interpretation and use of silage fermentation analysis reports*. Focus On Forage, 3(13), 1--5.
33. Labots, H., G. Hup, and Th. E. Galesloot 1965. *Bacillus cereus* in raw and pasteurized milk. III. The contamination of raw milk with *B. cereus* spores during its production. *Neth. Milk Dairy J.* **19**,191-221.
34. Lacey, J. 1989. *Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products*. *J. Appl. Bacteriol.* **67**(Suppl.),11S-25S.
35. Lindgren S., K. Petterson, A. Kaspersson, A. Jonsson, and P. Lingvall 1985. *Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages*. *J. Sci. Food Agr.* **36**, 765-774.
36. López E.M; Ortega Meneses J.A; (2006). *Mejora del proceso de ensilaje por adición de lactosuero*. (Tesis licenciatura inédita). Instituto de ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.
37. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.
38. May, J.J. 1993. *Respiratory problems associated with work in silos*. p. 283-290. In: Proc. NRAES National Silage Production Conference. Syracuse, USA. 23-28 Feb. 1993. Syracuse, USA.
39. McDonald P., A.R. Henderson, and S.J.E. Heron 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd edition. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK.
40. McPherson, H.T., and P. Violante 1966. *Ornithine, putrescine and cadaverine in farm silages*. *J. Sci. Food Agr.* **17**,124-127.

41. Merry, R.J., K.F. Lowes, and A. Winters 1997. *Current and future approaches to biocontrol in silage*. p. 17-27. In: V. Jambor, L. Klupil, P.Chromec, and P. Prochazka. (ed.) Proc. 8th Int. Symposium Forage Conservation, Brno, Czech Republic. 29 Sept.-1 Oct. 1997. Research Institute of Animal Nutrition, Pohorelice, Czech Republic.
42. Moran, J.P., D. Pullar, and T.R. Owen 1993. *The development of a novel bacterial inoculant to reduce mould spoilage and improve the silage fermentation in big bale silage*. p. 85-86. In: P. O'Kiely, M. O'Connell, and J. Murphy (ed.) Silage Research 1993, Proc. 10th Int. Conf. Silage Res., Dublin, Ireland. 6-8 Sept 1993. Dublin City University, Dublin, Ireland.
43. Muck, R. (2004). Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. TRANSACTIONS-AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, 47(4), pp.1011--1016.
44. Muck, R. E. (2008). *Improving alfalfa silage quality with inoculants and silo management*. In Proceedings of the 70th Annual Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers (pp. 137–146). Syracuse, NY: Cornell University.
45. Nout, M.J.R., H.M. Bouwmeester, J. Haaksma, and H. van Dijk 1993. *Fungal growth in silages of sugarbeet press pulp and maize*. *J. Agr. Sci.* **121**, 323-326.
46. Nsereko, V. L., Smiley, B. K., Rutherford, W. M., Spielbauer, A., Forrester, K. J., Hettinger, G. H., et al. (2008). *Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber*. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 122–135.
47. Pelhate, J. 1977. *Maize silage, Incidence of moulds during conservation*. *Folia Veterinaria Latina* **7**,1-16

48. Phillip, L.E., and V. Fellner 1992. *Effects of bacterial inoculation of highmoisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. J. Anim. Sci.* **70**, 3178-3187.
49. Rammer, C., C. Östling, P. Lingvall, and S. Lindgren 1994. Ensiling of manured crops - *Effects on fermentation. Grass Forage Sci.* **49**, 343-351.
50. Randby, A.T., Selmer-Olsen, I., & Baevre, L. 1999. *Effect of ethanol in feed on milk flavour and chemical composition. J. Dairy. Sci.*, **82**: 420-428.
51. Rankin, M., & FORAGE TEAM. (2014). *Silage Harvesting and Storage - Wisconsin Corn Agronomy. Corn.agronomy.wisc.edu*. Recuperado el 19 May 2014, de <http://corn.agronomy.wisc.edu/Silage/S004.aspx>
52. Rota, C., Pirondini, M., Malagutti, L. and Rapetti, L. (2012). Evaluation of fermentative parameters, aerobic stability and in vitro gas production of whole crop maize silage treated with a microbial inoculant containing *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus plantarum*. pp.212--213.
53. Sanaa, M., Poutrel, B., Menard, J.L., & Serieys, F. 1993. *Risk factors associated with contamination of raw milk by Listeria monocytogenes in dairy farms. J. Dairy Sci.*, **76**: 2891-2898.
54. Sánchez, D., Mascorro, A., & Amaya, J. (2000). *Respuesta del maíz para ensilaje a métodos de siembra y densidades de población. Revista Fitotecnia Mexicana*, 23.
55. Schleifer, K.H., and W. Ludwig 1995. *Phyogenetic relationships of lactic acidbacteria*. p. 7-18. In: Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. (ed.) *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Blackie Academic & Professional, London, UK.

56. Seglar, B. (2003). *Fermentation analysis and silage quality testing*. From the Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference ;College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, May 2003.
57. Seglar, WJ. *Principles and Goals of Silage Fermentation*. American Assn. of Bovine Practitioners Convention Advanced Nutrition Seminar. Nashville, TN Sept. 26, 1999.
58. Spoelstra, S.F, M.G. Courtin, and J.A.C. van Beers 1988. *Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage*. J. Agr. Sci. Camb. 111, 127-132.
59. Spoelstra, S.F. 1983. *Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation*. J. Sci. Food Agr. 34, 145-152.
60. Spoelstra, S.F. 1985. *Nitrate in silage*. A review. Grass Forage Sci. 40, 1-11.
61. Stefanie J.W.H., Elferink, S., Driehuis, F., Gottschal, J., & Spoelstra, S. (2000). *Silage fermentation processes and their manipulation*. Fao Plant Production And Protection Papers, 17--30.
62. Teuber, M., A.Geis, and H. Neve 1992. *The Genus Lactococcus*. p. 1482-1501. In: Balows, A., H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H.Schleifer (ed.) *The Prokaryotes*. 2nd ed. Springer Verlag, New York,USA.
63. Tremblay, M. (2014). *Silage Storage Techniques - Agriculture - . Agriculture.gov.sk.ca*. Recuperado el 19 May 2014, de <http://www.agriculture.gov.sk.ca/Default.aspx?DN=0f4ad0a5-6733-4472-9e11-95cf79108918>
64. Van Os, M., van Vuuren, A.M., & Spoelstra, S.F. 1997. *Mechanisms of adaptation in sheep to overcome silage intake depression induced by biogenic amines*. Brit. J. Nutr., **77**: 399-415.

65. Vreman, K., S.F. Spoelstra, and S.J.W.H. Oude Elferink. *Aerobic spores occur in vast quantities insilages from laboratory and farm silos.* *D. Wirtschaftseig. Futter* (in press).
66. Waes, G. 1987. Boterzuurbacteriën in melk en in kuilvoer. *Landbouwtijdschrift* **40**, 925-932.
67. Weinberg, Z., & Ashbell, G. (2003). *Engineering aspects of ensiling.* *Biochemical Engineering Journal*,13(2), 181--188.
68. Weinberg, Z.G., and R.E. Muck 1996. *New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage.* *FEMS Microbiol. Rev.* 19, 53-68.
69. Wieringa, G.W. 1958. *The effect of wilting on butyric acid fermentation in silage.* *Neth. J. Agr. Sci.* 6, 204-210.
70. Woolford, M.K. 1984. *The Silage Fermentation.* Microbiological Series, 14, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.