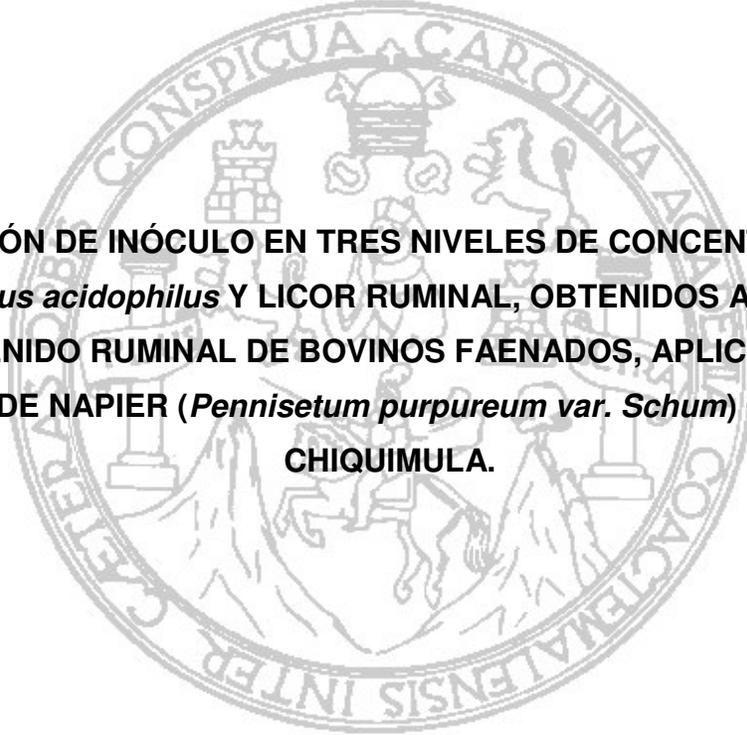


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE  
ZOOTECNIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a crown on top, flanked by two figures. The shield is surrounded by a circular border containing the Latin motto "CONSPICUA CAROLINA ACQUA" at the top and "SACERDOTALIS INTER" at the bottom. The seal is rendered in a light gray, semi-transparent style.

**EVALUACIÓN DE INÓCULO EN TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE  
*Lactobacillus acidophilus* Y LICOR RUMINAL, OBTENIDOS A PARTIR DEL  
CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS FAENADOS, APLICADOS AL  
ENSILADO DE NAPIER (*Pennisetum purpureum* var. *Schum*) CHIQUIMULA,  
CHIQUIMULA.**

**ANA SILVIA MENÉNDEZ LEIVA**

**CHIQUIMULA, GUATEMALA, OCTUBRE DE 2014.**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE  
ZOOTECNIA**

**EVALUACIÓN DE INÓCULO EN TRES NIVELES DE  
CONCENTRACIÓN DE *Lactobacillus acidophilus* Y LICOR  
RUMINAL, OBTENIDOS A PARTIR DEL CONTENIDO RUMINAL DE  
BOVINOS FAENADOS, APLICADOS AL ENSILADO DE NAPIER  
(*Pennisetum purpureum var. Schum*) CHIQUIMULA, CHIQUIMULA.**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**Sometido a consideración del Honorable Consejo Directivo**

**Por**

**ANA SILVIA MENÉNDEZ LEIVA**

**Al conferírsele el título de**

**ZOOTECNISTA**

**En el grado académico de**

**LICENCIADA**

**CHIQUIMULA, GUATEMALA, OCTUBRE DE 2014**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE  
ZOOTECNIA**



**RECTOR  
Dr. CARLOS GUILLERMO ALVARADO CEREZO**

**CONSEJO DIRECTIVO**

Presidente:	M.Sc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera
Representante de Profesores:	M.Sc. Edgar Arnoldo Casasola Chinchilla
Representante de Profesores:	Ph.D. Felipe Nery Agustín Hernández
Representante de Graduados:	Lic. Zoot. Alberto Genesio Orellana Roldán
Representante de Estudiantes:	Br. Heidy Jeaneth Martínez Cuestas
Representante de Estudiantes:	Br. Otoniel Sagastume Escobar
Secretaria:	Licda. Marjorie Azucena González Cardona

**AUTORIDADES ACADÉMICAS**

Coordinador Académico:	Ing. Agr. Edwin Filiberto Coy Cordón
Coordinador de Carrera:	Lic. Zoot. Merlin Wilfrido Osorio López

**ORGANISMO COORDINADOR DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN**

Presidente: M.Sc. Raúl Jáuregui Jiménez  
Secretario: M.Sc. Baudilio Cordero Monroy  
Vocal: M.A. Alejandro José Linares Díaz

**TERNA EVALUADORA**

M.A. Alejandro José Linares Díaz  
Lic. Zoot. Héctor Armando Flores Morales  
Lic. Zoot. Oscar Antonio Duarte Recinos

Chiquimula, octubre de 2014.

**Señores:**

Miembros del Consejo Directivo  
Centro Universitario de Oriente  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Chiquimula, Ciudad.

Señores Representantes:

En cumplimiento de las normas establecidas por la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el Centro Universitario de Oriente, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

**“EVALUACIÓN DE INÓCULO EN TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE *Lactobacillus acidophilus* Y LICOR RUMINAL, OBTENIDOS A PARTIR DEL CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS FAENADOS, APLICADOS AL ENSILADO DE NAPIER (*Pennisetum purpureum var. Schum*) CHIQUIMULA, CHIQUIMULA. AÑO 2014”**

Como requisito previo a optar al título profesional de Zootecnista en el Grado Académico de Licenciado.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo

Atentamente,



---

ANA SILVIA MENÉNDEZ LEIVA

Chiquimula, agosto de 2014

Señor Director  
M.Sc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera  
Centro Universitario de Oriente  
Universidad de San Carlos de Guatemala

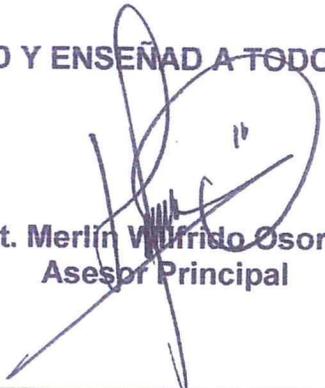
Señor Director.

En atención a la designación efectuada por la Comisión de Trabajos de Graduación, para asesorar a la estudiante **Ana Silvia Menéndez López**, en el trabajo de graduación denominado: **"EVALUACION DE INOCULO EN TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE *Lactobacillus acidophilus* Y LICOR RUMINAL, OBTENIDOS A PARTIR DEL CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS FAENADOS, APLICADOS AL ENSILADO DE NAPIER (*Pennisetum purpureum* var. *Schum*), CHIQUIMULA, CHIQUIMULA,** tengo el agrado de dirigirme a usted, para informarle que he procedido a revisar y orientar al sustentante sobre el contenido de dicho trabajo.

En ese sentido el tema desarrollado reviste vital importancia para la especialización y tecnificación de los sistemas de producción en lo que a mejora de los forrajes, se refiere.

Por las razones anteriormente expuestas, en mi opinión la presente investigación reúne los requisitos exigidos por las normas pertinentes; razón por la cual recomiendo su aprobación para su discusión en el Examen General Público, previo a optar al título de Zootecnista en el grado académico de Licenciada.

**"ID Y ENSEÑAD A TODOS"**



Lic. Zoot. **Merlin Wilfrido Osorio López**  
Asesor Principal



**D-TG-Z-076/2014**

EL INFRASCRITO DIRECTOR DEL CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, POR ESTE MEDIO HACE CONSTAR QUE: Conoció el documento de la investigación que efectuó la estudiante ANA SILVIA MENÉNDEZ LEIVA titulado “EVALUACIÓN DE INÓCULO EN TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE *Lactobacillus acidophilus* Y LICOR RUMINAL, OBTENIDOS A PARTIR DEL CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS FAENADOS, APLICADOS AL ENSILADO DE NAPIER (*Pennisetum purpureum* var. Schum) CHIQUIMULA, CHIQUIMULA”, trabajo que cuenta con Comisión de Trabajos de graduación de la carrera de Zootecnia. Por tanto, la Dirección del CUNORI con base a las facultades que le otorga las Normas y Reglamentos de Legislación Universitaria **AUTORIZA** que el documento sea publicado como Trabajo de Graduación, a Nivel de Licenciatura, previo a obtener el título de Zootecnista.

Se extiende la presente en la ciudad de Chiquimula, a treinta de septiembre de dos mil catorce.

**“ID Y ENSEÑAD A TODOS”**



MSc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera  
**DIRECTOR**  
**CUNORI - USAC**



c.c. Archivo

NWGC/ars

## **ACTO QUE DEDICO**

### **A DIOS**

Por permitirme alcanzar este triunfo y por darme la Fe para creer en lo que parecía imposible terminar.

### **A MI PADRE**

Rodolfo Menéndez por el apoyo brindado en todo momento y por ser un ejemplo de vida.

### **A MI MADRE**

Lourdes Leiva por su apoyo y motivación a seguir adelante.

### **A MIS HERMANOS**

Cristina, Carmen, Georgina, Rodolfo, José y Juan Menéndez Leiva por ser parte importante de mi vida, por su apoyo y amor incondicional.

### **A MIS ABUELAS**

María Leiva (+) y Gloria Leiva por su gran amor, apoyo y ejemplo de superación.

### **A MI PROMETIDO**

Alexis Fernández, por creer en mí, por su gran amor, paciencia y apoyo.

### **A LAS FAMILIAS**

Fernández Mejía y Barahona Paíz por su convivencia familiar, cariño y apoyo incondicional brindado en todo este tiempo.

### **A MIS PRIMOS Y PRIMAS**

Por su apoyo, cariño y consejos que me han brindado.

### **A MIS AMIGAS**

Claudia Portillo, Andrea Ruiz, Gisela Espinoza, Cindy Barahona, Jazmín Linares, Adela Cerna, Lily Argueta, Berta Menéndez por todos los triunfos, fracasos, buenos y malos momentos compartidos, pero sobre todo por el apoyo, consejos y alegrías que han sumado a mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS	Le agradezco por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.
A MI ASESOR	Lic. Zoot. Melin Wilfrido Osorio por su valioso tiempo invertido en la realización de esta investigación, apoyo, dedicación y sobre todo por su paciencia.
AL CENTRO UNIVERITARIO DE ORIENTE	Por ser el centro de estudios que me brindó la oportunidad de estudiar ésta carrera.
A LA CARRERA DE ZOOTECNIA	Por mi formación académica, y ayudarme a adquirir los conocimientos que me han permitido desarrollarme profesionalmente.
A MIS CATEDRATICOS	Por el apoyo brindado a lo largo de la carrera, tiempo, amistad y por la dedicación para transmitirme todos los conocimientos técnicos y profesionales para el buen desenvolvimiento en el ámbito profesional.
AL LABORATORIO DE BROMATOLOGIA DE LA USAC	Al personal del laboratorio por su colaboración en la realización de los análisis bromatológicos realizados en la investigación.
A CONCYT	Por el cofinanciamiento brindado a este estudio en la línea FODECYT.

Y a todos los que de una u otra forma contribuyeron a la finalización del estudio.

# INDICE GENERAL

<b>TÍTULO</b>	<b>PÁG</b>
Índice general	i
Índice de cuadros	iv
Índice de graficas	viii
Índice de figuras	ix
Índice de anexo	x
Resumen	xi
I. Introducción	1
II. Planteamiento del problema	2
III. Justificación	3
IV. Objetivos	4
1. Objetivo general	4
2. Objetivo específico	4
V. Hipótesis	5
VI. Marco teórico	6
6.1 Marco conceptual	6
6.1.1 Inoculantes	6
6.1.2 Bacterias ácido lácticas	6
6.1.3 Metabolismo de los carbohidratos	8
6.1.4 Estimulantes del crecimiento y de la eficiencia nutritiva	9
6.1.5 Rumen y contenido ruminal	10
6.1.6 Estomago de los rumiantes	10
6.1.7 Microorganismos del rumen	11
6.1.8 Ensilaje	13
6.1.9 Proceso fermentativo	14
Fase I. Aeróbica	14
Fase II. Fermentativa	15
Fase II. Estable	15

Fase IV. Deterioro aeróbico	16
6.1.10 Acción de los microorganismos en el ensilaje	17
6.1.11 Bioquímica del ensilaje	19
6.1.12 Evaluación de la calidad de los ensilajes	20
6.1.13 Características organolépticas del ensilaje	22
6.1.14 Microorganismos del ensilaje	23
6.1.15 Tipos de silos	24
6.1.15.1 Silos temporales	24
Silo en bolsa plástica o barril	25
El silo tipo cincho	25
El silo de montón	26
Microsilos	27
6.1.15.2 Silos permanentes	27
Silo tipo bunker	28
Silo tipo trinchera	29
6.1.16 Ventajas y desventajas del ensilaje	30
6.1.17 Características del pasto Napier ( <i>Pennisetum purpureum</i> var. <i>Schum</i> )	31
6.1.18 Utilización de la melaza como aditivo en el ensilaje	32
VII. Marco metodológico	33
7.1 Ubicación	33
7.2 Clima y zona de vida	33
7.3 Población y muestra	33
7.4 Manejo del experimento	34
7.4.1 Fase de laboratorio o fase pre-experimental	34
Recolección de muestras del rumen	34
Determinación de bacterias	34
Tinción de Gram	35
Aislamiento de colonias de bacterias	36
Pruebas de diferenciación bioquímica	36
Preparación de pre-inóculo	37

	Elaboración de la emulsión con diferentes concentraciones de inóculo de Lactobacillus	37
7.4.2	Fase de campo	38
	Corte y picado del forraje	38
	Elaboración de microsilos	38
7.4.3	Identificación de los microsilos	40
7.5	Técnicas de observación	41
7.5.1	Variables medidas	41
7.5.2	Variables evaluadas	41
7.5.3	Tratamientos	41
7.6	Diseño estadístico	42
7.7	Técnicas de recolección y análisis de datos	42
7.7.1	Análisis químico proximal	42
7.7.2	Análisis estadístico	43
7.7.3	Recolección de datos	43
VIII.	Discusión de resultados	44
8.1	Variables medidas en el ensilaje	44
8.1.1	Peso inicial de los microsilos y porcentaje de pérdidas por tratamientos	44
8.1.2	Valores de pH	46
8.2	Variables evaluadas en el ensilaje	46
8.2.1	Materia seca	47
8.2.2	Proteína cruda	48
8.2.3	Energía digestible	49
8.2.4	Fibra cruda	50
8.2.5	Fibra neutro detergente	51
8.2.6	Fibra ácido detergente	53
8.2.7	Extracto etéreo	55
8.2.8	Extracto libre de nitrógeno	56
8.2.9	Cenizas	56
8.2.10	Total de nutrientes digestibles	58

8.2.11	Evaluación organoléptica	61
IX.	Conclusiones	62
X.	Recomendaciones	64
XI.	Bibliografía	65
XII.	Apéndice	71
XIII.	Anexo	85

# ÍNDICE DE CUADROS

<b>En el texto</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1. Características asociadas con el ensilaje de buena y mala calidad	21
Cuadro 2. Caracterización organoléptica del ensilaje: color, olor y consistencia	23
Cuadro 3. Guía para la evaluación organoléptica en ensilados: Color	40
Cuadro 4. Guía para la evaluación organoléptica en ensilados: Olor	40
Cuadro 5. Registro de datos del estudio realizado en el ensilaje	45
Cuadro 6. Total de variables evaluadas en el estudio.	60

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>En el apéndice</b>	<b>Página</b>
7A. Peso en fresco y materia seca de los tratamientos	72
8A. Análisis de varianza para la variable materia seca de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	73
9A. Análisis de varianza para la variable proteína cruda de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	73
10A. Análisis de varianza para la variable energía digestible de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	73
11A. Análisis de varianza para la variable fibra cruda de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier	74
12A. Análisis de varianza para la variable fibra neutro detergente de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	74
13A. Análisis de varianza para la variable fibra ácido detergente de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	74
14A. Análisis de varianza para la variable extracto etéreo de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	75
15A. Análisis de varianza para la variable extracto libre de nitrógeno de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.	75

- 16A. Análisis de varianza para la variable cenizas de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier. 75
- 17A. Análisis de varianza para la variable total de nutrientes digestibles de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier. 76

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

En el texto	Pagina
1. Materia seca en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	47
2. Proteína cruda en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	49
3. Energía digestible en ensilaje de napier con tres niveles de inoculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	50
4. Fibra cruda en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	51
5. Fibra neutro detergente en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	52
6. Fibra acido detergente en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	54
7. Extracto etéreo en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	55
8. Extracto libre de nitrógeno en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	56
9. Cenizas en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	57
10. Total de nutrientes digestibles en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de <i>Lactobacillus</i> y licor ruminal.	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>En el apéndice</b>	<b>Página</b>
1A. Llenado, semi-entierro y distribución de los microsilos aleatoriamente	33
2A. Llenado y compactado de los microsilos.	39
3A. Tres diferentes concentraciones de inóculo de <i>Lactobacillus</i> a evaluar.	39
4A. Adición de inóculo y melaza en cada unidad experimental	39
5A. Sellado, identificación y semientierro de los microsilos.	39
6A. Peso inicial de los microsilos y porcentaje de pérdidas por tratamientos.	44
7A. Valores de pH.	46
8A. Determinación de Materia Seca Parcial y Total	47
9A. Determinación de proteína cruda o nitrógeno total (macro kjendahl).	48
10A. Determinación de fibra cruda	50
11A. Determinación de la fibra neutro detergente por el método Van Soest.	51
12A. Determinación de la fibra ácido detergente por el método Van Soest	53
13A. Determinación de extracto etéreo o grasas totales	55
14A. Determinación de enizas o minerales totales.	56
15A. Evaluación organoléptica	61

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Contenido</b>	<b>Pagina</b>
18A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T0	86
19A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T1	87
20A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T2	88
21A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T3	89
22A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T4	90

**Menéndez Leiva, AS. 2014. Evaluación de inóculo en tres niveles de concentración de *Lactobacillus acidophilus* y licor ruminal, obtenidos a partir del contenido ruminal de bovinos faenados, aplicados al ensilado de napier (*Pennisetum purpureum var. schum*) Chiquimula, Chiquimula 2014. Tesis Lic. Zoot. Chiquimula, GT, USAC 90 p.**

**Palabras claves: contenido ruminal, inóculo de *Lactobacillus acidophilus*, ensilaje, napier, características organolépticas, evaluación bromatológica.**

## **RESUMEN**

En la presente investigación se se aisló el *Lactobacillus acidophilus* del contenido ruminal y se elaboró un inóculo a partir del microorganismo aislado agregado al ensilaje; con el objetivo de asegurar que el desarrollo de bacterias lácticas predomine durante el proceso de fermentación, produciendo ácido láctico en cantidades suficientes para asegurar un buen ensilaje. El estudio se realizó en el Centro Universitario de Oriente, Chiquimula, Guatemala.

La investigación se realizó mediante la elaboración de 20 microsilos, para lo cual se utilizaron cubetas plásticas de un peso aproximado de 11 Kg. de forraje picado y ensilado. Los microsilos permanecieron en reposo y sellados por un período de 45 días, para luego obtener una muestra de cada uno de los tratamientos que fueron analizados químicamente.

Para la preparación del inóculo se agregó 65% de agua desmineralizada, 30% de aceite y para estabilizar el inóculo, se añadió 5% de Tween20. Se extrajo la biomasa de los tubos de ensayo centrifugados, y se agregó a 130 ml de agua desmineralizada en un recipiente, posteriormente al agua desmineralizada se le agregaron 60 ml de aceite y 10 ml de tween 20. Se elaboraron tres niveles de concentración de inóculo de *Lactobacillus acidophilus* y por cada tratamiento se utilizaron 200 ml.

Las concentraciones de los tres niveles evaluados, fueron las siguientes: para el nivel I se obtuvo una concentración del  $3.75 \times 10^{10}$  UFC, (25% menor a la estándar), para el nivel II se obtuvo una concentración estándar de  $5 \times 10^{10}$  UFC (Unidades Formadoras de Colonias) y para el nivel III se obtuvo una concentración de  $6.25 \times 10^{10}$  UFC (25% mayor a la estándar).

El análisis bromatológico se efectuó en el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para determinar: materia seca, proteína cruda, energía digestible, fibra cruda, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno, cenizas.

Los valores obtenidos en el análisis químico proximal muestran que los tratamientos con inóculo presentaron una leve mejora nutricional del ensilado de napier en las variables: materia seca, proteína cruda, fibra cruda, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente.

## I. INTRODUCCION

El manejo económico de las producciones pecuarias depende de un alto porcentaje de los costos de alimentación, los cuales están determinados por el uso de alimentos balanceados y de los forrajes disponibles en el medio. La expresión productiva de estos recursos forrajeros requiere del establecimiento de un ecosistema ruminal que maximice la digestibilidad de la fibra complementando los elementos que limitan la capacidad fermentativa microbiana.

El contenido ruminal es un subproducto obtenido de la matanza del ganado y representa el alimento ingerido por los animales poligástricos que es desechado al momento del sacrificio. Es una mezcla de material no digerido que tiene la consistencia de una papilla, con un color amarillo verdoso y un olor característico muy intenso cuando está fresco.

La conservación de los forrajes, mediante la técnica del ensilaje, surge como una opción viable por su utilidad y fácil implementación por parte de los productores. Esta alternativa asegura la disponibilidad del recurso forrajero durante todo el año en sistemas de producción de rumiantes, debido a que es aplicable a diversos materiales vegetativos que se obtienen en el área. Se debe considerar que el material ensilado no es de mejor calidad nutricional que el material del cual se origina, debido a que se utiliza como una técnica para conservar y no para mejorar el material vegetativo empleado, por lo cual el uso de aditivos se convierte en una alternativa para optimizar el proceso, para asegurar la conservación del material y en algunos casos, incrementar el valor nutricional.

El ensilaje inoculado con un aditivo biológico elaborado a partir del aislamiento de bacterias del contenido ruminal se pretende analizar como una nueva opción para el aprovechamiento de la ruminaza en el rastro municipal de Chiquimula, evaluándolo como posible fuente de alimentación para bovinos en crecimiento.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el área nororiental del país durante la época seca, los ensilajes son generalmente deficientes debido a la poca disponibilidad de forraje y la baja calidad nutricional de los mismos, ya que estos tienden a ser muy lignificados. El uso de estos alimentos influye en la productividad de los animales, afectando su condición corporal, producción láctea, reproducción, etc., dando como resultado grandes pérdidas económicas a los productores.

En el proceso de ensilaje, el forraje más utilizado es el forraje napier (*Pennisetum purpureum*), pero el contenido nutricional del pasto, no es suficiente para obtener una buena producción, razón por la cual se hace necesaria la incorporación de un aditivo biológico que mejore la eficiencia en el proceso de ensilaje y la calidad nutricional del producto ensilado.

### III. JUSTIFICACIÓN

El proceso de ensilaje es una técnica sujeta a muchas variables, las cuales inevitablemente conllevan a un producto de calidad fluctuante; además en la zona, se emplean forrajes de baja calidad nutricional en ensilajes utilizados en la alimentación de los bovinos, dando como resultado que en la mayoría de las pequeñas fincas, los animales presenten una baja productividad y una disminución en la respuesta zootécnica de los animales sometidos a esta fuente de alimentación.

Como una alternativa de mejora en la calidad nutricional del alimento animal, se plantea el desarrollo de aditivos biológicos, a partir del cultivo de bacterias ácido-lácticas, provenientes del contenido ruminal de bovinos llevados a rastro, para luego ser aplicadas en el ensilaje. Los aditivos biológicos están recibiendo gran atención por el efecto que brindan sobre la mejora en la digestión y la absorción de los nutrientes, la mayor eficacia en la conversión alimenticia y los mejores rendimientos productivos en los animales.

El presente estudio tiene como propósito evaluar tres niveles de concentración de inóculo de *Lactobacillus* como aditivo biológico en el ensilaje de napier, con la finalidad de mejorar la el valor nutricional del mismo.

## IV. OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar tres concentraciones de un aditivo biológico, elaborado a partir del contenido ruminal de animales faenados, aplicado al ensilaje de napier (*Pennisetum purpureum var. Schum*) mediante el uso de microsilos, en Chiquimula, Chiquimula.

### Objetivos específicos

- Evaluar la calidad nutricional de ensilaje de napier (*Pennisetum purpureum var. Schum*) inoculado con tres concentraciones de aditivos biológicos generados; en función del porcentaje de materia seca, proteína cruda, energía digestible, fibra cruda, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno y cenizas.
- Evaluar las características organolépticas del ensilaje obtenido en función de olor y color.

## V. HIPÓTESIS

Al menos una de las concentraciones del inóculo de *Lactobacillus acidophilus* elaborado, tiene efecto positivo sobre la calidad nutricional del ensilaje de forraje napier (*Pennisetum purpureum* var. *Schum*), incrementando su valor nutricional por kilogramo de materia seca.

## VI. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Marco conceptual

#### 6.1.1 Inoculantes

El objetivo de aplicar el inóculo en el ensilaje, es asegurar que el desarrollo de bacterias lácticas predomine durante el proceso de fermentación, produciendo ácido láctico en cantidades suficientes para asegurar un buen ensilaje (Oliveira 1995).

El ácido láctico que se produce durante la fermentación inhibe el crecimiento de bacterias indeseables, si este ácido no se produce inmediatamente, el nivel de acidez del forraje no desciende y comienzan a actuar estas bacterias indeseables (coliformes), las cuales poseen una mala capacidad preservadora del forraje, degradando los compuestos nitrogenados y al ácido láctico, en aminos, ácido propiónico, amoníaco, butírico, acético, carbónico y agua. A su vez, las bacterias aeróbicas utilizan el oxígeno y producen calor, provocando la degradación de nutrientes y la pérdida de calidad del ensilaje (Oliveira 1995).

Lo más importante de los inoculantes es la cantidad de bacterias vivas productoras de ácido láctico por unidad de cultivo (dosis de inoculación). Un producto debe asegurar al menos  $9 \times 10^{10}$  bacterias productoras de ácido láctico vivas/tonelada de cultivo o bien 10,000/gr de cultivo (Acevedo y Buitrago 2008).

#### 6.1.2 Bacterias ácido lácticas

Bajo el nombre genérico de “bacterias lácticas” se agrupan un número de microorganismos cuya principal característica es la producción de ácido láctico a partir de hidratos de carbono fermentables (Aranda 1997).

Las bacterias lácticas tienen un papel insustituible en el proceso tecnológico fermentativo, en el control de la función intestinal y en la prevención y terapia de diversas enfermedades del hombre y animales (Aranda 1997).

Los *Lactobacillus* son bacilos microaerófilos, Gram positivos y catalasa negativos, estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Los *Lactobacillus* homofermentativos dan lugar a ácido láctico como producto principal de la fermentación. Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* (Aranda 1997).

La producción de ácido láctico hace que el ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias dañinas. Estas bacterias productoras de ácido láctico previenen la colonización intestinal por agentes patógenos, incrementan la flora beneficiosa, mejoran la absorción del calcio, reducen el pH intestinal e influyen positivamente sobre el aprovechamiento de los nutrientes. Su efectividad está condicionada a la resistencia a enzimas salivales y digestivas, al pH estomacal y a las sales biliares, así como a su capacidad para adherirse a las células de las vellosidades y mucosa (Aranda 1997).

Las bacterias deben de cumplir con ciertos criterios al momento de ser seleccionadas como inoculantes de ensilaje (Acevedo y Buitrago 2008):

- ✓ Poseer una tasa rápida de crecimiento y ser capaz de competir y dominar organismos presentes en el ensilaje.
- ✓ Ser homofermentativas.
- ✓ Ser resistentes a los ácidos y producir rápidamente un pH final de 4.
- ✓ Ser capaces de fermentar glucosa, fructosa, sacarosa y de preferencia fructosanos y pentosanos.
- ✓ No deben tener ninguna acción sobre ácidos orgánicos.

### 6.1.3 Metabolismo de los carbohidratos

Una diferencia destacada entre los subgrupos de las bacterias ácido lácticas (BAL), es la naturaleza de sus productos finales, formados durante la fermentación de los azúcares (Mora y García 2007).

El género *Lactobacillus*, comprende alrededor de 80 especies reconocidas y organizadas en tres grupos, basados principalmente en las características fermentativas. El grupo uno incluye especies homofermentativas estrictas (producen primordialmente ácido láctico). El grupo dos está formado por especies heterofermentativas facultativas (las que además de ácido láctico producen ácido acético, etanol, glicerol, bióxido de carbono y otras sustancias). El grupo tres está formado por especies heterofermentativas estrictas (Mora y García 2007).

Las homofermentativas estrictas solo pueden fermentar hexosas por la glucólisis, mientras que las heterofermentativas estrictas usan solamente la vía 6-PG/PK y las heterofermentativas facultativas tienen la capacidad de utilizar ambas vías, siendo homofermentativo su metabolismo principal (Mora y García 2007).

La diferencia de una vía a otra viene marcada por la presencia o ausencia de la enzima aldolasa, enzima clave en la glucólisis. Las heterofermentativas, carecen de esta aldolasa y no pueden romper la fructosa 1,6-difosfato. En su lugar, oxidan la glucosa 6-fosfato hasta 6-fosfogluconato y después lo descarboxilan hasta xilulosa 5-fosfato que se desciende hasta gliceraldehído 3-fosfato y acetil-fostato por medio de la fosfocetolasa, el gliceraldehído 3-fostato se convierte en ácido láctico con la producción de una molécula de ATP (adenosina trifosfato), mientras que el acetil-fostato acepta electrones del NADH (nicotinamida adenina dinucleótido, forma reducida), que se ha generado durante la formación de xilulosa 5-fosfato, dando lugar directamente a etanol sin producir ATP.

Por ello las heterofermentativas producen solamente 1 mol de ATP de la glucosa en lugar de 2 como hacen las homofermentativas. Como las heterofermentativas descarboxilan el 6-fosfogluconato, producen CO<sub>2</sub> como producto de la fermentación (Mora y García 2007).

#### **6.1.4 Estimulantes del crecimiento y de la eficiencia nutritiva**

Mollgaard en 1946, demostró que la suplementación de la ración con cultivos de *Lactobacillus* daba lugar a mayores concentraciones de ácido láctico en su intestino, favoreciendo así la absorción del calcio y una mayor ganancia de peso. De este modo, las BAL se han empleado en producción animal como promotores del crecimiento, sustituyendo a los antibióticos y suplementos químico-sintéticos, debido a los inconvenientes que acompañan a estos productos.

Las enzimas celulolíticas actúan quebrando las ligaduras de las cadenas de celulosa y hemicelulosa del forraje, liberando azúcares que aceleran la fermentación láctica por parte de las bacterias del inóculo, aumentando la digestibilidad de la fibra y el aprovechamiento por parte del animal (Oliveira 1995).

Los *Lactobacillus* vivos y las enzimas celulolíticas producen (Oliveira 1995):

- ✓ Aumento de la disponibilidad de azúcares solubles, acelerando la fermentación láctica.
- ✓ Mejoras en la digestibilidad con mayor ingestión por el animal, elevando la producción.
- ✓ Mantienen el valor nutritivo del forraje en su mejor punto de cosecha.
- ✓ Inhibe el crecimiento de las bacterias y hongos indeseables que deterioran el ensilaje.
- ✓ Mejora la palatabilidad, aroma, color y pH del ensilaje.

- ✓ Permite la apertura del ensilaje en menor tiempo de conservación y estabilización.
- ✓ Aumenta la calidad de conservación del material ensilado.

### **6.1.5 Rumen y contenido ruminal**

El contenido ruminal también conocido como “ruminaza” es un subproducto originado del sacrificio de animales, se encuentra en el primer estomago del bovino, el cual contiene todo el material que no alcanzo a ser digerido al momento del sacrificio. Posee una gran cantidad de flora y fauna microbiana y productos de la fermentación ruminal; por esto se puede decir que es una alternativa de alimentación de rumiantes, por sus características químicas, biológicas, bromatológicas y su amplia disponibilidad (Acevedo y Buitrago 2008).

### **6.1.6 Estómago de los rumiantes**

Entre las características del sistema digestivo de los bovinos está el tener un estómago dividido en cuatro compartimientos, dos anteriores y dos posteriores: los primeros son el retículo y el rumen, los segundos incluyen el omaso y abomaso. El sector anterior (rumen y retículo) es el que realiza los procesos de acumulación, estratificación y transformación del material alimenticio que los poligástricos ingieren para producir sustancias útiles y de desecho para el rumiante (Acevedo y Buitrago 2008).

El contenido del retículo se mezcla con el del rumen casi constantemente (una vez por minuto). Los dos estómagos comparten una población densa de microorganismos (bacterias, levaduras, protozoos y hongos).

El rumen es un vaso de fermentación grande que puede contener hasta 100 – 120 kg de materia en digestión.

Las partículas de fibra se quedan en el rumen de 20 – 48 horas, debido a que la fermentación bacteriana es un proceso lento (Acevedo y Buitrago 2008).

El retículo es una intersección de caminos donde las partículas que entran o salen del rumen se separan. Solo las partículas de un tamaño pequeño (<1-2 mm) o que son densas (>1.2 g/ml) pueden seguir al tercer estómago (Acevedo y Buitrago 2008).

El omaso es un órgano pequeño que tiene una alta capacidad de absorción. Permite el reciclaje de agua y minerales tales como sodio y fosforo, que pueden volver al rumen por la saliva (Acevedo y Buitrago 2008).

El abomaso secreta ácidos fuertes y muchas enzimas digestivas. En los animales no rumiantes, los primeros alimentos se digieren en el abomaso. Sin embargo en los rumiantes, los alimentos que entran al abomaso se componen principalmente de partículas de alimentos no fermentados, algunos productos finales de la fermentación microbiana y los microbios que crecieron en el rumen (Acevedo y Buitrago 2008).

### **6.1.7 Microorganismos del rumen**

En el rumen se citan aproximadamente 29 géneros y 63 especies de bacterias, siendo la mayor parte de estas bacterias anaerobias no esporulantes. El contenido ruminal está constituido fundamentalmente por bacterias pequeñas como los bacilos Gram positivos y Gram negativos, cocobacilos, cocos, vibrios, bacterias en cadena (*streptococos* y *estafilococos*) y formas semilunares, etc.

Los microorganismos del rumen pueden ser divididos en tres principales grupos: hongos, protozoos y bacterias (Acevedo y Buitrago 2008).

Los hongos ruminales producen todas las enzimas necesarias para la despolimerización, tanto de celulosa como de hemicelulosa, y para la hidrólisis de oligosacáridos libres. Estas enzimas son principalmente extracelulares y son producidas durante el estado vegetativo y por las zoosporas del hongo. La población de hongos en el rumen es aproximadamente de 10,000 hongos/ml de contenido ruminal y son capaces de digerir las paredes celulares para permitir la acción degradadora de las bacterias (Acevedo y Buitrago 2008).

Los protozoos representan aproximadamente el 50% de la biomasa microbial del rumen y son una importante población para el rumiante. Los protozoos ciliados, principalmente organismos del rumen, dependen de las proteínas de la dieta y de su degradación parcial en compuestos de bajo peso molecular para su crecimiento, reduciendo de esta manera la cantidad de proteína disponible para el animal huésped (Acevedo y Buitrago 2008).

La población de bacterias ocupa  $10^{10}$  a  $10^{11}$  células/gr de contenido ruminal, siendo estos los microorganismos más abundantes. La mayoría son anaerobias estrictas, no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno (Acevedo y Buitrago 2008).

Las bacterias del rumen desempeñan funciones vitales para el animal hospedero, tales como (Acevedo y Buitrago 2008):

- ✓ Las fibras y otros materiales contenidos en las plantas no podrían ser degradadas por el animal hospedero si no fuese por las enzimas que producen las bacterias; estos materiales se transforman y son degradados en ácidos grasos volátiles (AGV), dióxido de carbono y metano. Los AGV pasan luego al sistema circulatorio para ser la principal fuente de energía del animal hospedero.
- ✓ Sintetizan algunas vitaminas necesarias para el animal hospedero.
- ✓ Degradan compuestos tóxicos de las dietas.

Los microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza; unos son patógenos para los animales mientras que otros benefician la producción animal. Durante un largo proceso de evolución, los microorganismos han logrado una relación simbiótica con el animal hospedero, formando la flora microbiana gastrointestinal y así otorgando beneficios en la producción animal (Aranda 1997).

Entre tales beneficios se mencionan los siguientes (Aranda 1997):

- ✓ Algunos microorganismos producen vitaminas y compuestos químicos, esenciales para otros microorganismos benéficos.
- ✓ Producen aminoácidos esenciales como lisina y metionina, importantes para el crecimiento animal.
- ✓ La mayoría de los alimentos para animales están compuestos de materiales crudos que necesitan enzimas para que los componentes complejos se descompongan, produciendo azúcares simples, ácidos orgánicos, aminoácidos, etc., los cuales pueden ser usados por el animal y los microorganismos que habitan en él. Los microorganismos producen varias enzimas, como la xilanasa, lipasa, proteasa, betaglucanasa y amilasa que ayudan a la digestión del alimento.
- ✓ Los microorganismos pueden producir sabor y aroma específicos que pueden realzar la palatabilidad del alimento.

### **6.1.8 Ensilaje**

El proceso de ensilaje no mejora la calidad del forraje, su objetivo es preservar los nutrientes originales de los forrajes, especialmente los componentes energéticos y proteicos, sin que se formen productos tóxicos que puedan perjudicar las funciones productivas y la salud de los animales, mediante la aplicación de un método de conservación. Se basa en la fermentación en estado sólido a ácido láctico bajo condiciones anaerobias, por las que las bacterias ácido lácticas convierten los azúcares solubles en agua y en ácidos orgánicos.

En este proceso de fermentación el material ensilado experimenta una serie de cambios bioquímicos que lo mantienen estable por largos períodos (Bernal y Chaverra 2000).

Un buen ensilaje depende de la interacción de cuatro factores:

- ✓ Composición del material que se ensila.
- ✓ Cantidad de aire atrapado dentro de la masa del silo o que se deje penetrar a ella.
- ✓ Las bacterias existentes en el material vegetal.
- ✓ Madurez y humedad del forraje al momento del corte.

La producción de ácido láctico requiere grandes cantidades de carbohidratos fermentables en el material ensilado. Si el contenido es insuficiente, se deben adicionar carbohidratos de una forma apropiada. Se recomienda la adición de azúcar en forma de melaza para mejorar la calidad del ensilaje (Bernal y Chaverra 2000).

### 6.1.9 Proceso fermentativo

El ensilaje como proceso puede dividirse en cuatro etapas, una vez que el material fresco ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluir el aire:

**Fase I. Aeróbica:** Normalmente dura pocas horas, en esta fase el oxígeno atmosférico presente entre las partículas del forraje cortado es reducido, debido a la respiración del material procesado. Las proteasas y carboxilasas de las plantas permanecen activas durante esta fase, el pH se mantiene entre los rangos normales del jugo de los forrajes frescos (6.0 - 6.5). Es fundamental, que las condiciones anaeróbicas del ensilaje sean logradas rápidamente para que la actividad de los procesos que requieran de oxígeno no continúe.

Durante el llenado del silo la respiración de las plantas es la forma dominante de remover el oxígeno. Esta respiración consume los azúcares de la planta, que constituyen el principal sustrato para las bacterias lácticas, si el llenado se prolonga se tendrán inconvenientes en lograr un rápido descenso del pH.

Los forrajes se cortan antes del ensilaje para minimizar el espacio de aire entre las partículas del forraje e incrementar la oportunidad de que las bacterias ácido lácticas entren en contacto directo con los azúcares de las plantas (Tobía y Vargas 2000).

**Fase II. Fermentativa:** Comienza cuando el ambiente del ensilaje llega a ser anaeróbico y continúa por algunos días o hasta semanas. La duración de esta fase depende de las propiedades del tipo forraje ensilado y de las condiciones del mismo. Si el proceso de fermentación se desarrolla exitosamente, las bacterias ácido lácticas predominan en esta fase.

Un inóculo de bacterias productoras de ácido láctico puede tener efectos beneficiosos en la velocidad y el tipo de fermentación en los cultivos ensilados.

Una caída rápida en el pH a través de la fermentación ayudará a restringir la actividad de las enzimas de las plantas. El pH decrece entre 5.0 y 3.8 debido a la producción de ácido láctico, AGV y de otros ácidos (Tobía y Vargas 2000).

**Fase III. Estable:** Pocos cambios ocurren en esta fase, si se evita la entrada de aire al silo. La mayoría de los microorganismos presentes en la fase II decrecen ligeramente.

Algunos microorganismos ácido-tolerantes sobreviven en este período a niveles de baja actividad y otros como *Clostridium* y *Bacillus* sobreviven como esporas (Tobia y Vargas 2000).

**Fase IV. Deterioro aeróbico:** Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire libre. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y proporcionar el material ensilado, pero puede ocurrir antes de iniciar el uso por daño de la cobertura del silo.

El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos.

El proceso de descomposición aeróbica ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, la tasa de deterioro depende de la concentración y de la actividad de los organismos que causan la fermentación en el ensilaje.

Las pérdidas por deterioro, que oscilan entre 1,5 y 4,5% de materia seca diarias, pueden ser observadas en áreas afectadas. Estas pérdidas son similares a las que pueden ocurrir en silos herméticamente cerrados y durante períodos de almacenamiento de varios meses. Para evitar fracasos, es importante controlar y optimizar el proceso de ensilaje en cada fase.

En la fase I, las buenas prácticas para llenar el silo permitirán minimizar la cantidad de oxígeno presente en la masa ensilada. Las buenas técnicas de cosecha y de puesta en silo permiten reducir las pérdidas de nutrientes carbohidratos hidrosolubles inducidas por respiración aeróbica, dejando así mayor cantidad de nutrientes para la fermentación láctica en la fase II. Durante las fases II y III, el ganadero no tiene medio alguno para controlar el proceso de ensilaje.

En la fase IV, el deterioro durante la apertura del silo puede minimizarse manteniendo abierto el silo el menor tiempo posible. También se pueden agregar aditivos en el momento del ensilado, que permiten reducir las pérdidas por deterioro durante la explotación o uso del silo (Tobia y Vargas 2000).

#### **6.1.10 Acción de los microorganismos en el ensilaje**

Mier (2009) indica que hay gran diversidad de microorganismos que se desarrollan más o menos intensamente en función de las circunstancias predominantes en el ensilaje.

Algunos de estos microorganismos son beneficiosos, al acidificar la masa del forraje (disminuye el pH) y desarrollarse en ausencia de aire (anaerobiosis). Otros son perjudiciales, creciendo y multiplicándose en presencia de aire con lo que compiten con la microbiología láctica por los azúcares y otros, más propios de condiciones anaerobias, pueden destruir parte de la proteína, incluso ácidos formados previamente, originando olor desagradable (Mier 2009)

En una primera fase se registra el desarrollo de bacterias aerobias (*Klebsiella* y *Acetobacter*) que son por tanto, más activas cuanto mayor sea la cantidad de aire aprisionado en el forraje. Estas bacterias emplean como sustrato o alimento los hidratos de carbono que pueden transformar en anhídrido carbónico o ácido acético, ácido cuya eficacia conservadora no es muy notable debido a su escasa capacidad acidificante (Mier 2009).

Tras un período de tiempo que varía entre las 24 y 48 horas aparecen bacterias (*Leuconostoc* y *Streptococcus*) que transforman los azúcares en ácido láctico que ayuda a bajar el pH más rápidamente. A medida que las concentraciones de este ácido son más abundantes, estas bacterias van disminuyendo al tiempo que aparecen otras (*Lactobacillus* y *Pediococcus*) que forman ácido láctico en grandes cantidades; esto sucede entre el tercer y quinto día (Mier 2009).

Seguidamente del día 17 a 21 de la conservación, el ácido se va acumulando en cantidades crecientes al tiempo que el forraje se hace cada vez más inhabitable para otras bacterias. De modo que si durante este período se ha producido suficiente cantidad de ácidos como para llevar el pH a valores de 4,2 o inferiores, existe la garantía de que el forraje se conservará perfectamente por un período indefinido de tiempo, con un valor nutritivo semejante al que poseía al ser puesto en el silo (Mier 2009).

Por el contrario, si el forraje era pobre en azúcares (leguminosas, plantas jóvenes) o por el contrario se ha empobrecido antes de ensilarlo (respiración celular, fertilización nitrogenada, etc.) o simplemente las bacterias aerobias de la primera fase los han agotado, entonces las bacterias lácticas, formadoras del ácido láctico conservador, no tendrán suficiente cantidad de azúcares a su disposición como para conseguir bajar el pH a 4,2 y ello permitirá el desarrollo de otros microbios que van a destruir el forraje poco a poco (Mier 2009).

En este caso, en primer lugar actúan bacterias (*Clostridium*) que atacan a los hidratos de carbono formando un ácido (butírico) de olor desagradable y escaso poder acidificante, dificultando así la actividad de las bacterias lácticas; también destruyen el ácido láctico ya formado, con lo que la acidez de la masa disminuye y permite la proliferación de otros grupos bacterianos (*Clostridium* proteolíticos) que van a continuar el proceso de putrefacción que afecta ahora a la proteínas, originando amoníaco como producto final, el cual termina por neutralizar la acidez residual (Mier 2009).

La masa, ya de por sí sin mucho valor alimenticio y posiblemente con sustancias de carácter tóxico, queda reducida a un producto podrido que ha perdido su aspecto original, con un desagradable y característico olor. A todo ello debe sumarse el efecto destructor de los hongos que se reproducen intensamente, en especial donde por defecto de compresión han quedado bolsas de aire, completando la destrucción del producto (Mier 2009).

### 6.1.11 Bioquímica del ensilaje

Acevedo y Buitrago (2008) indican que las bacterias productoras de ácido láctico son Gram positivas, microaerófilas, esperógenas, usualmente sin motilidad y fermentan los azúcares. Existen divisiones basadas en la morfología de las células y tipo de fermentación; pueden ser homofermentativas, si transforman los azúcares completamente en ácido láctico, y heterofermentativas, cuando se forman otros productos además de ácido láctico, principalmente dióxido de carbono.

La presencia de los diferentes géneros de bacterias productoras de ácido láctico y su población total dependen de la “maduración” del ensilaje. *Lactobacillus* tiende a ser el género dominante cuando el ensilaje madura.

Las bacterias de tipo anaerobio, entre las cuales se tienen: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* y *L. casei.*, actúan sobre los carbohidratos disponibles en el forraje para producir ácido láctico y pequeñas cantidades de ácido acético, propiónico, fórmico y succínico.

Cuando la humedad del material y el pH son muy altos se desarrollan bacterias indeseables del género *Clostridium* las cuales producen ácido butírico, amoníaco y aminas, característica de materia orgánica en descomposición e indicativo de un ensilaje de mala calidad.

El contenido de ácido butírico en un ensilaje es un indicador importante en la degradación de la proteína del forraje. El desarrollo de estas bacterias se evita bajando la humedad a menos del 70% o aumentando la acidez.

El rango de temperatura óptima para el desarrollo de las bacterias que producen ácidos se encuentran entre: 26°C y 39°C y su crecimiento cesa a los 50°C.

En el proceso de fermentación del material ensilado, los azúcares son atacados por las enzimas, produciendo alcohol etílico y otros. Los alcoholes en combinación con los ácidos orgánicos dan un aroma agradable al ensilaje. El contenido de alcohol puede ser superior al 1%.

La concentración de ácido láctico en el ensilaje puede llegar a constituir del 8 – 9% de la materia seca en condiciones favorables. Cuando el material no tiene suficientes carbohidratos solubles para producir el ácido láctico necesario, como ocurre con las leguminosas, es necesario adicionar materiales ricos en estos elementos como la melaza, grano molido, entre otros al momento de ensilar.

El ácido producido reduce el pH del silo a 4.2 o menos. La compactación inadecuada, característica del material con una gran proporción de tallos, produce un exceso de respiración y sobrecalentamiento, con grandes pérdidas de materia seca, reducción de la digestibilidad de las proteínas y pérdidas de carotenos.

El exceso de compactación, sucede con las herbáceas suculentas, reduce su calentamiento, dando como resultado un producto de mal olor y carente de apetitocidad. El proceso se completa en un periodo de 2 o 3 semanas, y se puede conservar por años si no se permite la entrada de aire.

El éxito del ensilaje consiste en una buena distribución del material, una buen corte del material a ensilar (partículas entre 2 – 3 mm) una buena compactación y sellado, para desalojar la mayor cantidad de aire posible al comienzo del proceso.

#### **6.1.12 Evaluación de la calidad de los ensilajes**

La calidad del ensilaje y su valor nutricional se ven afectados por varios factores biológicos y tecnológicos, los cuales incluyen: valor nutritivo del forraje al momento de ensilar, etapa de madurez, humedad, longitud de corte, índice de llenado del

silo, densidad del empacado, método de sellado, uso de un inóculo, proceso fermentativo del ensilaje, índice de vaciado, condiciones climáticas a la cosecha y el vaciado (Acevedo y Buitrago 2008).

Una alta población inicial de *Lactobacillus* debe conducir a la obtención de un ensilaje de buena calidad. En los estados avanzados en el proceso de ensilaje la microflora es dominada por *Lactobacillus* en los ensilajes de buena calidad, y por *Clostridium* spp. en los de baja calidad. La calidad del ensilaje se evalúa de acuerdo a su valor nutritivo, apariencia, características físico-químicas y producción de los animales que lo consumen. Generalmente esto se asocia con alguna característica como: olor, color, textura, palatabilidad y naturaleza de la cosecha ensilada. La calidad también se puede determinar según pérdidas de materia seca, pH, productos finales de la fermentación (ácido láctico y ácidos grasos volátiles), interrupción de la proteína y evaluación microbiológica (Acevedo y Buitrago 2008).

**Cuadro 1. Características asociadas con el ensilaje de buena y mala calidad.**

<b>CARACTERISTICAS</b>	<b>BUENA CALIDAD</b>	<b>MALA CALIDAD</b>
<b>pH</b>	4.0	5.5
<b>Ácido Láctico (% en MS)</b>	8.5	1.1
<b>Ácido Acético (% en MS)</b>	1.5	3.0
<b>Ácido Butírico (% en MS)</b>	0.5	3.5
<b>Nitrógeno Amoniacal</b>	1.0	4.0
<b>Color</b>	Verde amarillento	Negro
<b>Olor</b>	Agradable	Pútrido
<b>Apariencia</b>	Sin hongos	Con hongos
<b>Humedad</b>	68%	>71 y <68%
<b>Palatabilidad</b>	Avidez	Rechazo

Fuente: Acevedo y Buitrago (2008)

### 6.1.13 Características organolépticas del ensilaje

Los ensilajes pueden evaluarse cualitativamente mediante indicadores como el olor, color y textura, o cuantitativamente por valores de pH, la presencia de ácidos fermentables, los componentes nutritivos, el nivel probable de consumo y la digestibilidad de materia seca (Acevedo y Buitrago 2008).

Las siguientes características organolépticas se asocian con ensilajes de alta y baja calidad (Acevedo y Buitrago 2008):

- ✓ El olor aromático, dulzón, agradable, que caracteriza al ácido láctico.
- ✓ La presencia de olores a húmedo (indicativo de la presencia de moho), a vinagre (ácido acético), a orines (amoníaco), a mantequilla rancia (ácido butírico) no es aceptable en un ensilaje de buena calidad.
- ✓ El color final debe ser entre verduzco y café claro. En un ensilaje, los colores café oscuro o negro son indicativos que se elevó mucho la temperatura en el silo y se perdieron muchos nutrientes.
- ✓ Es frecuente encontrar algunas manchas blancas o rosadas, indicativas de la presencia de mohos, pero las mismas no serán mayor problema mientras no sean dominantes, sin embargo, por lo general, los animales van a rechazar esas porciones de ensilaje afectadas por el moho.
- ✓ La textura del ensilaje debe ser firme, es decir no debe deshacerse al presionar con los dedos.

**Cuadro 2. Caracterización organoléptica del ensilaje: color, olor y consistencia.**

FACTOR	INDICADOR	PATRON DE FERMENTACION	CALIDAD
COLOR	Verde aceituna o amarillo oscuro	Fermentación láctica	
OLOR	A miel o azucarado de fruta madura	Temperatura entre 25 y 30°C	Excelente
TEXTURA	El forraje conserva sus contornos continuos bien definidos. Las hojas permanecen unidas a los tallos.		
COLOR	Verde amarillento		
OLOR	Agradable, con ligero olor a vinagre	Fermentación láctica	Buena
TEXTURA	El forraje conserva sus contornos continuos bien definidos. Las hojas permanecen unidas a los tallos.		
COLOR	Verde oscuro		
OLOR	Fuerte, ácido, semejante al vinagre	Acética	Regular
TEXTURA	Las hojas se separan fácilmente de los tallos. Las hojas tienden a ser transparentes y los vasos venosos muy amarillos.		
COLOR	Marrón oscuro, casi negro o negro		
OLOR	Desagradable, con olor putrefacto	Butírica	Mala
TEXTURA	No se aprecia diferencia entre hojas y tallos, masa amorfa, jabonosa al tacto, húmeda y brillante.	Temperaturas altas	

**Fuente: CIAT (2003)**

#### 6.1.14 Microorganismos del ensilaje

Al morir las células del material vegetal ensilado, su contenido de carbohidratos, grasas y proteínas pueden propagarse fuera de la masa y convertirse en alimento para los numerosos microbios presentes.

Las condiciones óptimas para el desarrollo de estos organismos varían entre límites amplios: algunos crecen mejor en presencia de oxígeno y otros no pueden crecer en su presencia. Esto da como resultado que el desarrollo de los diferentes grupos quede predeterminado por la forma en que el cultivo se ensila (Acevedo y Buitrago 2008).

Los microorganismos más importantes del ensilaje son las bacterias y los hongos. Entre estos últimos se encuentran las levaduras y los mohos, de poca significación, excepto en las capas superficiales de la masa ensilada; pero si el aire llega a tener libre acceso al interior, entonces los mohos penetrarán a la masa y descompondrán el producto (Acevedo y Buitrago 2008).

#### **6.1.15 Tipos de silos**

Existe una gran diversidad de silos que pueden usarse para el almacenamiento de forrajes. Se diferencia entre los silos de tipo temporal y permanente (Reyes *et al* 2009).

##### **6.1.15.1 Silos temporales**

Estos dos tipos de silos son útiles sobre todo cuando se ensilan pequeñas cantidades de forraje, como es el caso de fincas muy pequeñas, donde se requiere de relativamente poco forraje conservado, o en el caso que el silo se utilice durante un período corto (Reyes *et al* 2009).

Entre los tipos de silo temporal se encuentran:

- Silo en bolsa plástica o barril
- Silo cincho o silo de molde

- Silo de montón
- Microsilos

### **Silo en bolsa plástica o barril**

Los silos en bolsas plásticas de calibre 6 a 8, normalmente sirven para conservar entre 30 y 50 kg de forraje (Reyes *et al* 2009).

La compactación generalmente se realiza por pisoteo, durante el cual se debe tener bastante cuidado, pues las bolsas se dañan con facilidad. Una alternativa para disminuir el riesgo de dañar la bolsa, es usar dentro de la bolsa, un saco de fibra de polipropileno, como los utilizados para fertilizantes o concentrados. Al terminar el llenado de la bolsa, esta se debe cerrar herméticamente.

Durante su almacenamiento, se debe proteger las bolsas plásticas contra los animales domésticos y depredadores, amontonándolas en un lugar protegido y con algo de peso encima (Reyes *et al* 2009).

Los silos en barriles pueden conservar hasta 150 kg. de forraje. Se recomienda usar barriles plásticos, porque los ácidos producidos en el proceso corroen rápidamente los barriles de metal. La compactación se realiza por pisoteo, luego se tapa la parte superior con una bolsa plástica que se sella con una cinta. Es importante llenar el barril por completo para evitar burbujas de aire al momento del sellado (Reyes *et al* 2009).

### **Silo tipo cincho**

El cincho consiste en un molde desarmable de metal, de una altura aproximada de 1 a 1.5 m y un diámetro de 2 a 3 m. Para llenar el silo, primero se debe armar el molde en el lugar seleccionado, luego se coloca el plástico asegurando un buen

traslape en sus puntos de cierre y hacia la parte interior del molde en su base, se llena el silo y se retira el molde, finalmente se envuelve el silo con el plástico y se colocan objetos pesados encima para ayudar a la compactación (Reyes *et al* 2009).

### **Silo de montón**

El silo de montón no posee paredes, el forraje se amontona en forma de un “cerro”. Otra posibilidad es que se use una instalación ya existente, que debe poseer paredes en algunos de sus costados, en ese caso el forraje se ensila en una superficie de forma rectangular o cuadrada, pero los lados donde no hay paredes se hacen cada vez más estrechos, dejando una inclinación, que facilitará la compactación usando tractores, vehículos de carga o un barril con agua. Una vez finalizado el ensilaje, se cubre con plástico y se colocan materiales pesados encima para ayudar a la compactación. Es un silo muy económico pero es propenso a sufrir más pérdidas que los anteriores (Reyes *et al* 2009).

Cuando el silo tipo cincho y el silo de montón están hechos por encima de la superficie del suelo, se debe buscar un lugar que no se encharque, para evitar pérdidas del ensilaje. En todo caso, lo mejor sería hacer el silo sobre piso de concreto (Reyes *et al* 2009).

Por otra parte, como ambos tipos de silo son sellados por plástico en los costados, es importante ubicarlos en un sitio donde el ganado, animales silvestres o las acciones de las personas no los puedan dañar (Reyes *et al* 2009).

## **Microsilos**

Es una técnica de conservación en un medio exento de oxígeno. Se mantienen todos los nutrientes estables por un período muy prolongado de tiempo (de 24 meses en adelante). Con esta técnica se multiplica por tres la digestibilidad en relación a los forrajes secos, consiguiendo un aprovechamiento máximo de todos los nutrientes (Reyes *et al* 2009).

El proceso de microensilado consiste en preparar, cortar, prensar y sellar correctamente el forraje, cuando este se encuentra en sus óptimas condiciones nutritivas. Es esencial realizar estas operaciones en ausencia de oxígeno para permitir que los componentes del futuro ensilaje conserven todas sus propiedades. El resultado de estas operaciones mecánicas es un microsilo en forma de bola con una gran resistencia mecánica, elaborado de forma sostenible y ecológica, que tras 21 días de elaboración está listo para consumirse (Reyes *et al* 2009).

Para la elaboración de los microsilos, se puede utilizar un molde metálico (un silo cincho en pequeño) o plástico de una capacidad de 5 a 20 litros. El forraje debe de picarse entre 2 y 3 cm, lo que proporciona una estructura apropiada para la correcta ingesta por parte del animal y además poder realizar el proceso de ensilaje correctamente. Es importante adicionar melaza como aditivo, para mejorar la calidad del ensilaje (Reyes *et al* 2009).

### **6.1.15.2 Silos permanentes**

Una vez que el productor esté convencido que va alimentar a su ganado con forrajes ensilados todos los años en los períodos críticos, podrá considerar la construcción de un silo permanente en un lugar que esté cerca de las instalaciones donde se suministra el forraje que no dificulte alguna otra labor en la finca y que preferiblemente no esté muy lejos de las parcelas donde se produce el

forraje a ensilar. Es recomendable construir el piso del silo con un pequeño desnivel que permita drenar los efluentes que puedan ocurrir dentro del silo (Reyes *et al* 2009).

### **Silo tipo bunker**

El silo bunker es generalmente rectangular, construido sobre el nivel del suelo y tiene dos paredes laterales de concreto y/o piedras. La altura de las paredes generalmente varía entre 1.2 y 2.0 metros, aunque se pueden hacer más altas. Este tipo de silo es especialmente apto para fincas medianas y grandes donde se usa algún tipo de vehículo para el llenado y/o compactación. La anchura mínima debe ser de 4 metros para poder compactar bien con un vehículo pick up y de 5 metros cuando se utiliza tractor (Reyes *et al* 2009).

Además, en este caso, las paredes no deben ser verticales, sino más bien tener una inclinación de 30 a 40° para lograr una buena compactación cerca de las paredes. Puede o no tener techo, pero si lo tiene, este debe ser suficientemente alto en caso que la compactación se haga con tractor, pick up o camión. El piso preferiblemente debe ser de concreto y tener una pendiente de 2 a 4 % hacia el eje central, cuando los silos tienen una longitud mayor a 10 metros (Reyes *et al* 2009).

El eje o canal central, a su vez, también debe tener una pendiente de 2 a 4 % hacia uno o los dos extremos del silo. Cuando los silos tienen menos de 10 metros de longitud, el piso de concreto puede tener una sola pendiente de 2 a 4 % hacia uno de los lados (Reyes *et al* 2009).

En todos los casos, es aconsejable disponer de un piso de concreto o de piedra compactada del mismo ancho del silo y de 5 a 10 metros de longitud, al menos en el extremo del silo que más se usa como camino de acceso, con el fin de facilitar

la descarga del alimento, así como también para evitar la formación de lodo, que pueda contaminar el forraje ensilado (Reyes *et al* 2009).

### **Silo tipo trinchera**

El silo de trinchera o “zanja” se construye bajo el nivel del suelo, utilizando como paredes la tierra o roca. Se hace una excavación (usualmente rectangular) en el suelo, casi siempre en un terreno de pendiente, con un plano inclinado en la entrada del silo para facilitar el acceso durante el ensilaje y su posterior utilización. Las paredes deben ser excavadas ligeramente inclinadas y lisas para poder compactar bien (Reyes *et al* 2009).

La desventaja más importante del silo de trinchera, en caso de llenarlo en la época lluviosa, es el riesgo que penetre agua dentro del silo. Para evitar estos problemas, se pueden revestir las paredes y el suelo con un plástico o bien con materiales como concreto armado (con varillas de hierro), lo cual evita el deslizamiento de las paredes y las infiltraciones de humedad o tierra. En todo caso, siempre es recomendable recubrir sus paredes con plástico para evitar la contaminación del forraje ensilado con la tierra. Casi siempre tienen un piso de concreto. En otros casos sencillamente es adaptar como silo una estructura ya existente (Reyes *et al* 2009).

No se recomienda construirlo en terrenos planos, pues aumentan los riesgos de infiltraciones, podrían presentarse dificultades para drenar el efluente del silo, además que no se dispone de la ventaja de la pendiente del terreno que permite llenar y vaciar el silo a nivel (Reyes *et al* 2009).

### 6.1.16 Ventajas y desventajas del ensilaje

El ensilaje como cualquier otro proceso, tiene ventajas y desventajas las cuales guardan relación con la situación particular de cada productor, sin que permita esto generalizar al respecto (Acevedo y Buitrago 2008).

Dentro de las ventajas se puede mencionar (Acevedo y Buitrago 2008):

- ✓ Preserva al máximo los nutrientes cuando un cultivo se cosecha para ensilar.
- ✓ Permite conservar los excedentes de forraje que se producen en la época lluviosa, conservándolos con buena calidad, para luego ser utilizados en los períodos de escasez de alimentos.
- ✓ Suministrar forraje succulento de calidad uniforme durante todo el año, principalmente en verano.
- ✓ Se reducen las pérdidas por mal tiempo o estado de desarrollo del cultivo.
- ✓ Presenta menos necesidades de suplementación.
- ✓ Se reducen las pérdidas en la cosecha y manipulación cuando se usa el equipo apropiado.
- ✓ Se reducen los costos de alimentación al disminuir la utilización de alimentos concentrados.
- ✓ El forraje se puede conservar durante mucho tiempo con pequeñas pérdidas.
- ✓ Aumenta la capacidad de carga por hectárea.
- ✓ Se reduce la presión sobre las pasturas, permitiendo el descanso y recuperación de potreros en los períodos de menor precipitación, o cuando inicia el período de lluvias, ayudando de esta manera a evitar el sobrepastoreo y la eventual degradación de las pasturas.

Entre las desventajas (Acevedo y Buitrago 2008):

- ✓ Es voluminoso para manejar y almacenar.
- ✓ Se requiere equipo para ensilar grandes volúmenes y la mecanización es costosa.
- ✓ Requiere el uso de aditivos.

- ✓ Se debe de suministrar rápidamente una vez retirado del silo para evitar pudriciones.
- ✓ Las pérdidas pueden ser muy grandes cuando no se hace adecuadamente.
- ✓ Los ensilajes hechos sólo con forrajes (gramíneas) normalmente presentan un contenido de proteína bajo.

#### **6.1.17 Características del forraje Napier (*Pennisetum purpureum* var. *Schum*)**

El forraje napier es de origen africano, posee originalmente en su componente genético un gen recesivo que le da una coloración púrpura de donde obtiene su segundo nombre en la clasificación de la respectiva especie. Además, se caracteriza por tener un crecimiento erecto desde la base alcanzando una altura promedio de 1,8 a 2 m. en su madurez fisiológica (EMF = edad a la que se registra su mayor tasa de crecimiento), desarrollando tallos y hojas delgados, más largas las hojas que los tallos. Su madurez de cosecha (EMC = edad a la que alcanza su floración, fructificación o semilla) se da dependiendo la región y época del año entre el día 50 y 70 después de la cosecha anterior, momento en el que produce su inflorescencia la cual es en forma de espiga con abundante grano que no es viable (Franco 2008).

Su punto verde óptimo (PVO = edad en la que debe ser cosechado el forraje) se da dependiendo de la región y época del año entre el día 45 y 60) después de la cosecha anterior. Su producción por unidad de área de cultivo o rendimiento de cosecha se encuentran en un rango que varía según la región y época del año entre 60 y 90 toneladas de forraje fresco por hectárea, por año. Debido a su gen recesivo que le transmite coloración púrpura, y a su gen dominante que le transmite una coloración verde, puede presentar colores que van desde un verde amarilloso, pasando por un verde intenso, un verde oscuro sólido, con vetas moradas, o predominantemente púrpura (Franco 2008).

### 6.1.18 Utilización de la melaza como aditivo en el ensilaje

La melaza es la fuente de carbohidratos más frecuentemente usada como aditivo. Es útil para suplementar forrajes con bajo contenido en carbohidratos solubles, como leguminosas y gramíneas tropicales. Se aplica en niveles del 2.5 - 5% del forraje, diluida en agua, y 0.5% de urea, rociando la mezcla en cada capa del forraje al ensilar (Franco *et al* 2007).

El nivel de melaza puede duplicarse cuando el forraje a ensilar es pobre en azúcares solubles (que son los que fermentan al ensilar), en caso que la edad óptima para ensilar de los forrajes haya terminado. Sin embargo, si el material ensilado tiene un contenido muy bajo de materia seca y se emplean silos de fosa o trinchera, la mayor parte de la melaza se pierde con el escurrimiento en los primeros días del ensilaje (Franco *et al* 2007).

El uso de la melaza no sólo mejora el contenido de energía del ensilaje sino que además asegura valores bajos de pH y previene una defectuosa fermentación. El contenido en nitrógeno (N) de ensilajes de cereales y de forrajes, que es generalmente bajo, puede ser mejorado considerablemente sin afectar la fermentación al utilizar un ensilaje mixto en el momento de ensilar (gallinaza) (Franco *et al* 2007).

La suplementación de melaza ha sido enfocada en dos aspectos: la necesidad de suplir energía y otros nutrientes al ganado en la época seca del año en que los forrajes son deficientes, y en segundo lugar la suplementación a vacas reproductoras en su periodo pre y post parto, por la deficiencia en los forrajes de proteínas y minerales (Franco *et al* 2007).

## VII. MARCO METODOLOGICO

### 7.1 Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en la granja pecuaria El Zapotillo, del Centro Universitario de Oriente -CUNORI, ubicada en el municipio y departamento de Chiquimula, situada en el kilómetro 169 carretera CA-10; localizada geográficamente en latitud Norte, de 14°48'09" y longitud Oeste, de 89°31'57". (Sistema de Información Geográfica, SIG –CUNORI 2012).

### 7.2 Clima y zona de vida

Según De la Cruz (1982), la granja está ubicada en la zona de vida Bosque Seco Subtropical (BSs), a una altura de 300 msnm. Según los datos de la Estación Climatológica tipo "B" del Centro Universitario de Oriente, la presentación pluvial media anual es de 700 mm; con temperatura media anual de 27.5°C (con una máxima promedio de 37.5°C y una mínima promedio de 21°C) y una humedad relativa de 60% en época seca (noviembre a abril) y de 85 – 94% en época lluviosa (mayo a octubre) (CUNORI 2012).

### 7.3 Población y muestra

La investigación se realizó mediante la elaboración de 20 microsilos, para lo cual se utilizaron cubetas plásticas de 18.9 litros de capacidad y de un peso aproximado de 11 Kg. de forraje picado y ensilado. Estas fueron perforadas en el fondo para facilitar el drenaje de los efluentes del forraje; posteriormente estas fueron enterradas a 20 cm. de profundidad, con la finalidad de evitar la entrada de aire. Cada cubeta, constituyo una unidad experimental, distribuidas completamente al azar, en un área de 30 m<sup>2</sup> (Figura 1A).

## 7.4 Manejo del experimento

### 7.4.1 Fase de laboratorio o fase pre-experimental

#### **Recolección de muestras del rumen**

- Desinfectar con algodón y etanol, el cuchillo o bisturí y el área del rumen donde se realizará una incisión para la toma de la muestra.
- Se introduce el termómetro, previamente desinfectado, para la lectura de la temperatura a la cual se encuentra cada rumen.
- Introducir el recipiente estéril o la jeringa, para recolectar el licor ruminal 1000 ml y un poco de contenido sólido.
- Almacenar la muestra envuelta en papel de aluminio para evitar que la muestra tenga algún contacto con la luz solar y en bolsa de nylon para evitar derrames.
- Para el traslado de la muestra hacia el laboratorio, son introducidas en un contenedor térmico previamente calibrado con la temperatura de la bolsa térmica y el agua caliente. La temperatura debe mantenerse entre los 38° a 40°C, similar a la temperatura ruminal.
- Al momento de llegar las muestras al laboratorio, son colocadas en la cámara de flujo laminar para realizar su respectiva siembra.
- Durante todo el proceso que se realizará para la recolección de las muestras, serán manipuladas con guantes quirúrgicos, para mantener la asepsia necesaria como medida de bioseguridad (Cerna 2013).

#### **Determinación de bacterias**

- La muestra se tomará con el asa previamente flameada y fría. Se inoculará la muestra haciendo 4-5 estrías simples muy juntas de lado a lado sobre el primer cuadrante de la caja con agar Caso y luego se cerrará la caja. Se flameará de nuevo el asa y se hará girarla caja un cuarto de vuelta, se flameará de nuevo el asa. Se abrirá nuevamente la caja y se enfriará el asa de siembra se tocará la superficie del medio lejos de la zona de las estrías antes

hechas. El asa se rozará una vez sobre la superficie del conjunto original de estrías y se hará un segundo grupo de estrías en el segundo cuadrante como en el caso anterior. Se realizará la siembra en el último cuadrante de la caja, exceptuando que no se debe flamear de nuevo el asa y la estría deberá ser más abierta (simple) que las anteriores. La incubación deberá hacerse con las cajas invertidas a 42° C durante 24 horas. De las cajas que están inoculadas se transferirá una pequeña muestra de la colonia a otras cajas con agar MRS. Se incubará en a 42° C durante 24 horas. Para determinar el número de organismos se utilizará la misma fórmula descrita en el numeral anteriormente (Cerna 2013).

### **Tinción de Gram**

- Se seleccionarán las colonias que crecerán en las placas.
- Antes de realizar la prueba se enumerarán los portaobjetos según el número de las colonias seleccionadas.
- Posteriormente se colocará una gota de solución salina en los portaobjetos.
- Con un asa de punta se tomará una mínima parte de la colonia seleccionada y se diluirá en solución salina. Los portaobjetos permanecerán en la cámara de flujo laminar hasta que la solución salina se seque.
- Luego cada portaobjetos se flameo en un mechero para sellar la muestra.
- Se agregará dos gotas de Cristal Violeta al portaobjeto con la muestra, durante 1 minuto. Posteriormente se lavará la preparación con una piceta que contiene agua destilada.
- Luego se agregará dos gotas de Lugol a la muestra, y se dejará actuar durante 1 minuto, después se lavará el portaobjetos.
- Se agregará alcohol-acetona gota a gota dejando que escurra hasta que no fluya más la tintura se lavará la preparación inmediatamente.
- Finalmente se agregará dos gotas de Fushina, durante 1 minuto y luego se lavará la muestra. Se dejarán secar los portaobjetos.

- Posteriormente se colocará una gota de aceite de inmersión sobre cada portaobjeto para poder observar en el microscopio y se realizará la lectura (Cerna 2013).

### **Aislamiento de colonias de bacterias**

- Se tomará una placa de agar, dividirá en cuatro cuadrantes en la placa. Colocar la muestra a sembrar en el número 1.
- Se realizará las estrías hasta la mitad de la caja. Esterilizar el asa y girar la caja hasta el cuadrante número 2, se tomarán las dos últimas estrías y se seguirá estriando hasta el cuadrante número 3.
- Al efectuar la siembra en el último cuadrante, no se deberá flamear el asa de siembra y se hará una estría más abierta (simple).
- Se tendrá el cuidado de no tocar las estrías ya hechas.
- Se le realizará tinción Gram al crecimiento obtenido en el último cuadrante para determinar cuáles son colonias de lactobacilos.
- A partir de los resultados positivos de la tinción se realizará una resiembra por agotamiento en agar MRS y el proceso de incubación antes descrito.
- Al finalizar se realizará de nuevo otra tinción y una nueva resiembra por agotamiento de nuevo en medio MRS, con el mismo procedimiento de incubación.
- Luego de esta incubación se realizará una última tinción y una resiembra de forma masiva para obtener la mayor cantidad de biomasa.
- Esta última resiembra será la que se utilizará para realizar la fermentación en el caldo de MRS y poder preparar el preinóculo (Cerna 2013).

### **Pruebas de diferenciación bioquímica**

- En la batería que contengan los tubos con glucosa, sacarosa, arabinosa, lactosa y xilosa, las primeras cuatro son positivas y la última negativa para lactobacilos; con campana de Durham y rojo de fenol como indicador se inocularán mezclando una asada de cada uno de los microorganismos.
- Se incubarán los tubos a 42°C durante 24 horas.

- Todas las pruebas en tubo serán comparadas con tubos control, que contienen mismos medios, pero sin inocular (Cerna 2013).

### **Preparación de preinóculo**

- De una caja Petri de cultivo fresco se retirará toda la biomasa con una espátula de Drigalski y se aplicará de 2 a 3 ml de medio líquido con una pipeta serológica, para el lavado y se disolverá en 20 ml de medio MRS en un erlenmeyer de 100 ml y se incubará a 37°C a 150 rpm por 32 horas.
- Posteriormente, los 20ml de preinóculo se transferirá a 180 ml de medio MRS en un erlenmeyers de 500 ml y se cultivará bajo las mismas condiciones por 32 horas.
- El tiempo de fermentación estimado será de 32 horas, tiempo durante el cual se tomaran muestras de 10 ml. Cada muestra será centrifugada a una velocidad de 14000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4°C, luego se retirará el sobrenadante
- Cuantificación de colonias por dilución: se colocará 9 ml de agua estéril en los tubos de ensayo se tomará 1 ml de la muestra y se verterá en el primer tubo, luego del primero se tomará la misma cantidad de muestra y se adicionará al segundo; así sucesivamente hasta completar los 10 tubos. Se colocará en cajas de petri con agar MRS por duplicado 0.1 ml de las últimas cuatro diluciones. El cual se distribuirá con ayuda de una espátula de Drigalski. Se dejará absorber el líquido durante 10 minutos. se incubarán las cajas de forma invertida a 42°C durante 24 horas. Como la inoculación se hará por duplicado se realizará un promedio entre las colonias por cada placa.

### **Elaboración de la emulsión con diferentes concentraciones de inóculo de *Lactobacillus***

- Para la preparación del inóculo se agregó 65% de agua desmineralizada, previamente fue esterilizada a 121°C durante 15 minutos a 15 psi, 30% de aceite y para estabilizar el inóculo, se añadió 5% de Tween20, el cual actuó como un agente estabilizador.

- Utilizando agua desmineralizada se extrajo la biomasa de los tubos de ensayo centrifugados, y se agrego a 130 ml de agua desmineralizada. Posteriormente al agua desmineralizada se le agregaron 60 ml de aceite y 10 ml de tween 20 (surfactante).
- Por cada tratamiento se utilizaron 200 ml de emulsión aceite en agua, con diferentes concentraciones de inóculo.
- Finalmente se refrigeró hasta su utilización en los microsilos, el inóculo fue almacenado en frascos color ámbar para proteger a las bacterias de la luz directa.

#### **7.4.2 Fase de campo**

##### **Corte y picado del forraje**

El forraje utilizado en el experimento, fue cosechado a 10 cm del suelo y extraído del área de la vega del CUNORI, este fue picado en partículas de 2- 3 cm de largo, aproximadamente, el mismo material poseía más de 90 días de edad a partir del último corte y no se realizó ninguna fertilización al material, para simular el manejo que le otorga el productor ganadero.

##### **Elaboración de microsilos**

- Una vez picado el forraje napier se agregaron 11 kg aproximadamente en un recipiente (tipo cubeta) con capacidad de cinco galones, el cual fue bien compactado con un mazo apropiado y se añadió 4% de melaza en dilución (440 ml) (Duarte 2010).
- Se realizaron compactaciones cada 3 kg de forraje napier y al momento del llenado total, se realizo una compactación final. Las compactaciones del forraje picado se realizaron para reducir el espacio entre las partículas.

- El proceso descrito anteriormente fue el mismo que se utilizó para el tratamiento control o testigo (Figura 2A).
- Para el caso de los tratamientos con inóculo, se añadió 50 ml de emulsión (aceite en agua) con 3 diferentes concentraciones de inóculo de *Lactobacillus* y 4% de melaza (440 ml) en cada unidad experimental. Variando las concentraciones de los tres niveles a evaluar, en donde, para el nivel I se obtuvo una concentración del  $3.75 \times 10^{10}$  UFC, (25% menor a la estándar), para el nivel II se obtuvo una concentración estándar de  $5 \times 10^{10}$  UFC (Unidades Formadoras de Colonias) y para el nivel III se obtuvo una concentración de  $6.25 \times 10^{10}$  UFC (25% mayor a la estándar) (Figura 3A).
- La cantidad de inóculo y melaza correspondiente a cada tratamiento se dividió en dos partes, una agregada a la mitad del contenido del recipiente y la otra al final, antes de cerrar el microsilo.
- Para el tratamiento con licor ruminal, se agregó al microsilo, 50 ml de licor ruminal en fresco, (recién extraído del rumen de la vaca), y 4% de melaza (Figura 4A).
- Finalmente los microsilos fueron sellados herméticamente con su respectiva tapa identificada, utilizando un sellante a base de silicón. Cada cubeta fue enterrada a 20 cm. de profundidad con el objetivo de evitar el ingreso de oxígeno al microsilo y distribuidas completamente al azar. (Duarte, 2010)
- Los microsilos permanecieron en reposo y sellados por un período de 45 días, para luego obtener una muestra de cada uno de los tratamientos que fueron analizados químicamente (Figura 5A).
- Al momento de la apertura de los microsilos se evaluaron las características organolépticas del material ensilado, las cuales fueron color y olor, para lo cual se utilizaron de base las siguientes guías.
- En las guías 1 y 2 se resumen los niveles que comúnmente se aceptan y que sirven de indicadores de la calidad del ensilaje.

**Cuadro 3. Guía para la evaluación organoléptica en ensilajes: Color**

<b>EXCELENTE (4 puntos)</b>	<b>BUENO (3 puntos)</b>	<b>REGULAR (2 puntos)</b>	<b>MALO (1 punto)</b>
Verde aceituna.	Verde amarillento.	Verde oscuro.	Casi negro.
Tallos y hojas igual tonalidad.	Tonalidad más pálida en tallos que hojas.	Tallos y hojas igual tonalidad.	

**Fuente: Betancourt, González y Martínez (2006).**

**Cuadro 4. Guía para la evaluación organoléptica en ensilajes: Olor**

<b>EXCELENTE (4 puntos)</b>	<b>BUENO (3 puntos)</b>	<b>REGULAR (2 puntos)</b>	<b>MALO (1 punto)</b>
Agradable a fruta Madura.	Agradable, ligero olor a vinagre.	Acido: olor fuerte a vinagre.	Desagradable o Putrefacto.
			Olor a humedad.

**Fuente: Betancourt, González y Martínez (2006).**

- El análisis bromatológico se efectuó en el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para determinar: Materia seca (MS)%, Proteína Cruda (PC)%, Energía digestible (ED), Fibra cruda (FC)%, Fibra neutro detergente (FND)%, Fibra acido detergente (FAD)%, Extracto etéreo (EE)%, Extracto libre de nitrógeno (ELN)%, Cenizas (C)%.

#### **7.4.3 Identificación de los microsilos**

Previo al llenado se identificaron los respectivos microsilos según la unidad y el tratamiento correspondiente.

## 7.5 Técnicas de observación

### 7.5.1 Variables medidas

- Peso de los microsilos
- % de pérdidas por tratamiento.
- Valores de pH.

### 7.5.2 Variables evaluadas

- Materia Seca (MS)
- Proteína Cruda (PC)
- Energía Digestible (ED)
- Fibra Cruda (FC)
- Fibra Neutro Detergente (FND)
- Fibra Acido Detergente (FAD)
- Extracto Etéreo (EE)
- Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)
- Cenizas (CZ)
- Color
- Olor

### 7.5.3 Tratamientos

El experimento consta de cinco tratamientos cada uno de los cuales estuvo conformado por cuatro repeticiones, utilizando microsilos, los cuales constituyeron las unidades experimentales.

T0= Ensilaje de napier más 4% de melaza (testigo).

T1= Ensilaje de napier mas inculo con concentración  $3.75 \times 10^{10}$  UFC (25% menor a la estándar) más 4% de melaza.

T2= Ensilaje de napier mas inculo con concentración  $5 \times 10^{10}$  UFC (Estándar) más 4% de melaza.

T3= Ensilaje de napier mas inoculo con concentración  $6.25 \times 10^{10}$  UFC (25% mayor a la estándar) más 4% de melaza.

T4= Ensilaje de napier con licor ruminal en fresco (0.05 L) más 4% de melaza.

## 7.6 Diseño estadístico

El diseño que se utilizo fue completamente al azar, realizando cinco tratamientos y cuatro repeticiones.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$ : Variable respuesta de la ij-ésimo unidad experimental

$\mu$ : Efecto de la media general

$T_i$ : Efecto del inóculo de *Lactobacillus* en diferentes concentraciones y licor ruminal, en el ensilaje de Napier.

$\epsilon_{ij}$ : Efecto del error experimental asociado a la ij – ésima unidad experimental.

## 7.7 Técnicas de recolección y análisis de datos

### 7.7.1 Análisis químico proximal

Para evaluar las variables consideradas, se procedió a realizar un análisis químico proximal a cada una de las unidades experimentales, después de 45 días de reposo, cuando los microsilos fueron abiertos.

La cantidad de forraje que se utilizó como muestra para realizar los diferentes análisis fue de 500 gr.

Dichos análisis se realizaron en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; en cuanto a la variable materia seca, esta se realizó en el Laboratorio de Bromatología de la carrera de Zootecnia del CUNORI.

El contenido de materia seca se determinó por secado en horno de aire forzado a 60°C durante 48 horas, hasta que alcanzó un peso constante; la proteína cruda se determinó a través del método de micro-Kjeldahl y la fibra cruda, fibra neutro detergente y fibra ácido detergente se estimaron en el estudio, por medio del método de Van Soest.

### **7.7.2 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos para las diferentes variables cualitativas se analizaron por medio de un ANDEVA (análisis de varianza); usando para las evaluaciones el programa estadístico SAS (sistema de análisis estadístico) con un nivel de confianza del 95%, de encontrarse diferencias significativas entre tratamientos se procedió a realizar la prueba de medias LSD de Fisher (Diferencia mínima significativa).

### **7.7.3 Recolección de datos**

La recolección de la información se inició a partir de los 45 días de conservación del ensilaje, se tomo una muestra de cada tratamiento y se realizó las pruebas del análisis químico proximal.

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se utilizó un inoculo con diferentes concentraciones de *Lactobacillus acidophilus* que es una bacteria con afinidad por los ácidos. Esta bacteria crece, fácilmente, en medios mucho más ácidos que los ideales para otros microorganismos (pH 4-5 o menores) y crece en condiciones óptimas a unos 45°C. *Lactobacillus acidophilus* tiene reacciones de fermentación que son variables, pero la mayor parte de cepas producen ácido pero no gas, a partir de glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa, las cuales metaboliza formando ácido láctico (Sorgensen 1959).

### 8.1 Variables medidas en el ensilaje

#### 8.1.1 Peso inicial de los microsilos y % de pérdidas por tratamientos

El peso inicial de los microsilos con los diferentes tratamientos fue de 10.45 Kg. Al determinar el peso inicial y peso final del ensilaje, se encontraron variaciones en los cinco tratamientos.

En el caso del Tratamiento 0 (T0) la diferencia de peso fue de 1.25 kg; en el Tratamiento 1 (T1) fue de 1.77 kg; en el Tratamiento 2 (T2) fue de 1.14 kg; en el Tratamiento 3 (T3) la diferencia fue de 0.97 kg y en el Tratamiento 4 (T4) fue de 1.54 kg (Figura 6A).

Gutiérrez (1996), indica que la pérdida de peso es normal en cualquier proceso de ensilaje y que la misma va a depender del medio ambiente, del drenado, del porcentaje de pérdidas por pudrición de las partes que entran en contacto con el aire según el tipo de silo y el grado de humedad y madurez de los materiales forrajeros. Las pérdidas que se producen normalmente pueden ser de 0 hasta el 14%.

Al observar los resultados obtenidos, se infiere que las pérdidas en los tratamientos inoculados disminuyen en la misma proporción que se incrementa el inóculo siendo el T3, el de menores pérdidas 9.33%; estos resultados sugieren que al incrementarse la concentración de inóculo en el ensilaje se disminuye la proporción de pérdidas.

**Cuadro 5. Registro de datos del estudio realizado en el ensilaje**

Tratamiento	Repetición	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Perdida del ensilado a la apertura (kg)	Promedio (kg)	% de pérdida	pH	Promedio
T0	1	10.45	9.55	0.91	<b>1.25</b>	11.83	4.5	<b>4.8</b>
T0	2	10.45	9.55	0.91			4.5	
T0	3	10.45	9.09	1.36			5	
T0	4	10.91	9.09	1.81			5	
T1	1	9.31	7.27	2.05	<b>1.76</b>	17.60	4.7	<b>4.5</b>
T1	2	10.45	8.86	1.59			4.6	
T1	3	9.77	7.73	2.05			4.5	
T1	4	10.45	9.09	1.36			4	
T2	1	9.54	8.18	1.36	<b>1.14</b>	11.28	4	<b>4.3</b>
T2	2	10.23	9.09	1.14			4.7	
T2	3	10	8.86	1.14			4.5	
T2	4	10.68	9.77	0.91			4	
T3	1	10.23	9.32	0.91	<b>0.97</b>	9.33	5	<b>4.7</b>
T3	2	10.45	9.09	1.36			4.7	
T3	3	10.45	9.77	0.68			4.5	
T3	4	10.45	9.54	0.91			4.5	
T4	1	10.68	8.86	1.82	<b>1.54</b>	14.65	4.5	<b>4.6</b>
T4	2	10.68	9.54	1.14			5	
T4	3	10.45	8.63	1.82			4.5	
T4	4	10.23	8.86	1.37			4.5	

Fuente: elaboración propia 2013.

### 8.1.2 Valores de pH

El análisis de pH realizado al momento de abrir los microsilos presentó los valores promedio siguientes, para el T0 o testigo el valor fue de 4.8, para el T1 o tratamiento inoculo con concentración 25% menor a la estándar el valor fue de 4.5, el T2 o tratamiento inóculo con concentración estándar presentó un pH de 4.3, para el T3 o tratamiento inoculo con concentración 25% mayor a la estándar el valor fue de 4.6 y para el T4 o tratamiento con licor ruminal el pH fue de 4.6; estos sugieren un pH muy cercano al adecuado en ambos casos, sin embargo, en valores absolutos, se muestra mayor el pH del tratamiento testigo (Figura 7A).

Según Acevedo y Buitrago (2008), el ensilaje inoculado debe presentar un pH final de 4.2 - 4.4. A medida que disminuye el pH se hace más eficiente el proceso de ensilaje, ya que la acidez contribuye a la conservación del ensilaje evitando la descomposición del mismo. Vélez (2002), a su vez indica que el pH de 3.5 a 4.5 es lo suficientemente apropiado para inhibir el crecimiento de microorganismos indeseables.

Con los valores obtenidos se observa que los tratamientos inoculados con bacterias productoras de ácido láctico recibieron un efecto beneficioso de los *Lactobacillus*, produciendo una caída rápida en el pH por medio de la fermentación, mejorando la calidad organoléptica del ensilaje.

### 8.2 Variables evaluadas en el ensilaje

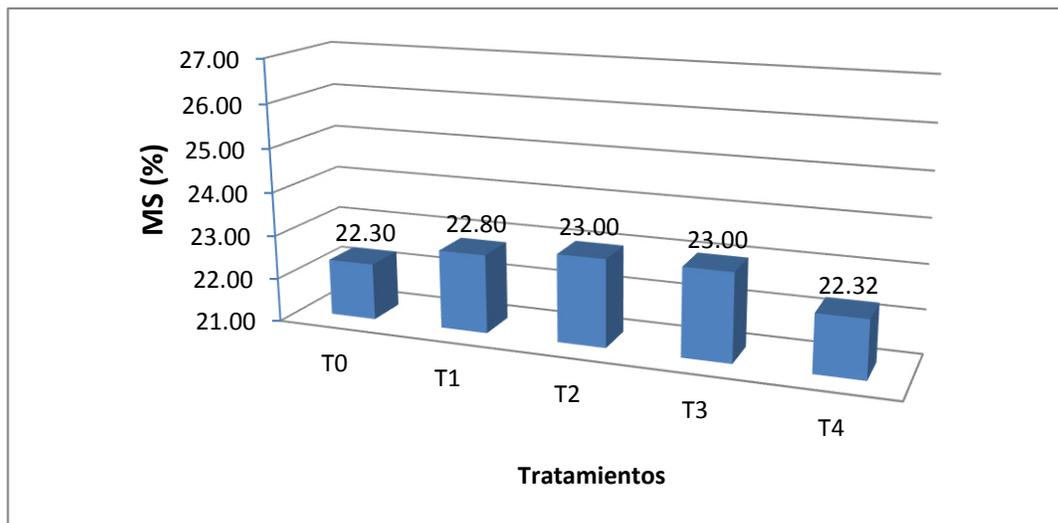
Las variables analizadas estadísticamente fueron las variables materia seca, proteína bruta, energía digestible, fibra cruda, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno y cenizas.

### 8.2.1 Materia seca

Para la variable materia seca se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) en el cual se determinó que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre tratamientos. Los resultados obtenidos fueron, para el T0 22.30%, para el T1 22.80%, el T2 presentó 23.0%, el T3 presentó 23.0% y para el T4 se obtuvo 22.32%; esto evidencia una alta homogeneidad del material ensilado (Figura 8A).

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) reporta en las tablas de valor nutricional de alimentos para animales, valores de 15.33% de materia seca en el forraje napier.

La siguiente gráfica muestra el comportamiento de la materia seca en los diferentes tratamientos evaluados.



**Gráfica 1. Materia seca en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

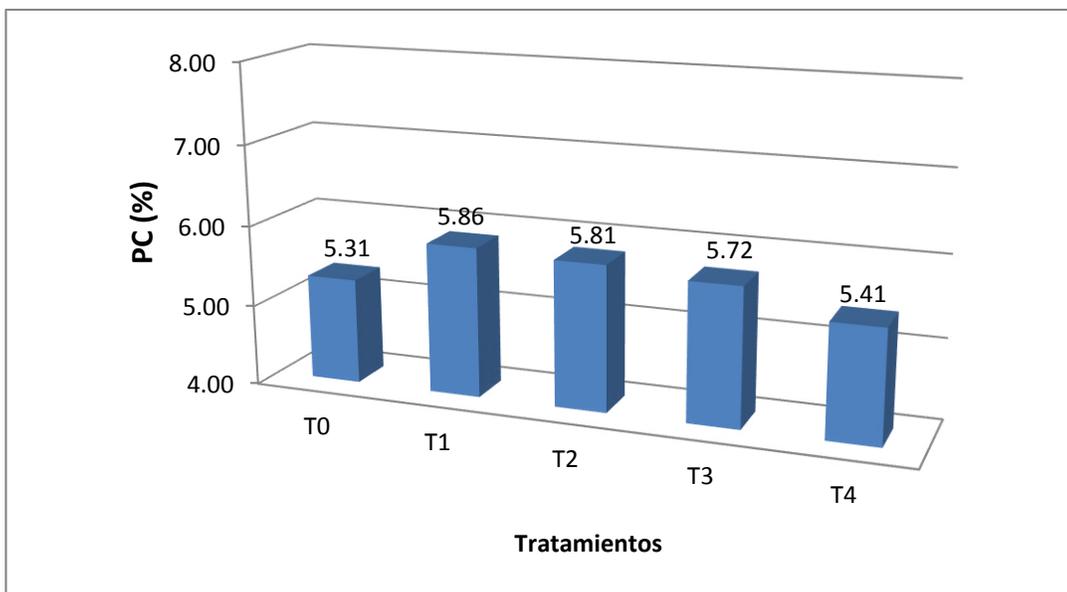
### 8.2.2 Proteína cruda

El análisis estadístico efectuado a los valores de proteína cruda en los diferentes tratamientos, muestran que no existió diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), sin embargo, es evidente que en los tratamientos inoculados, existe una leve tendencia a incrementarse el contenido de proteína, probablemente, debido a la incorporación del inóculo a base de lactobacilos en el ensilaje (Figura 9A). Para el caso del tratamiento uno (T1) el resultado fue de 5.86 %, el cual posee una concentración de inóculo  $3.75 \times 10^{10}$  UFC (25% menor a la estándar).

También es importante mencionar que en los tratamientos en los cuales se utilizó inóculo al nivel estándar o superior al mismo presentaron un contenido de proteína cruda menor que el T1, pero superior al testigo y al tratamiento de licor ruminal, lo que induce a pensar que el valor adecuado se encuentra por debajo del valor estándar que tiene una concentración de  $5 \times 10^{10}$  UFC. Esto probablemente se derive de la necesidad de incorporar valores superiores de azúcares solubles en el ensilaje

Castillo, Rojas y Wing (2009) indica que la respuesta de los inóculos bacterianos sobre el contenido de PC, varía según la variedad de forraje empleado, tipo de inóculo aplicado, edad de cosecha del material y las condiciones que prevalecen durante la elaboración del ensilaje.

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) reporta que el forraje napier presenta valores que oscilan entre 5.30% - 21.43% de proteína cruda en el forraje napier.

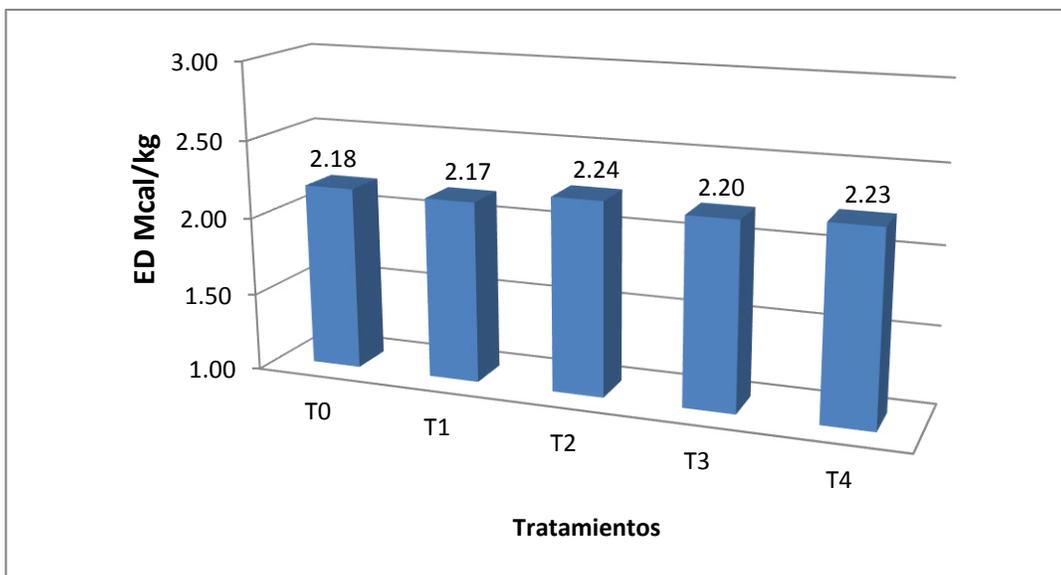


**Gráfica 2. Proteína cruda en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.3 Energía digestible

El análisis estadístico efectuado para la variable energía digestible en base seca, demostró que no existió diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre tratamientos, sin embargo, todos los tratamientos fueron superiores a los reportados por la literatura.

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) reporta que para el caso de energía digestible, el intervalo de valores es de 1.24 - 1.91 Mcal/kg en base seca, en el forraje napier.



**Gráfica 3. Energía digestible en ensilaje de napier con tres niveles de inoculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

#### 8.2.4 Fibra cruda

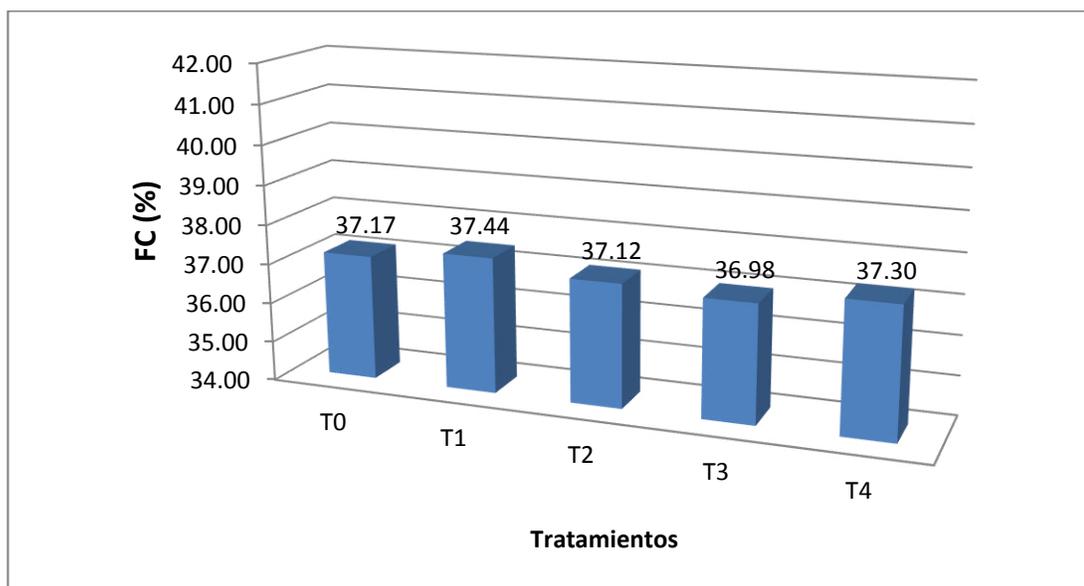
En relación con la variable fibra cruda el análisis de varianza indicó que no hubo diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos.

Los valores obtenidos para el T0 fue de 37.17%, para el T1 37.44%, en el caso del T2 fue de 37.12% en el T3 el valor fue de 36.98% y para el T4 37.30% (Figura 10A), observándose en la gráfica que los valores obtenidos son similares a los reportados por la literatura.

González (2013) reporta valores de fibra cruda en pasto King Grass con madurez de 60 días más 25% de contenido ruminal de 33.60%

Al respecto Rúa (2008), afirma que en relación a la composición química del forraje napier, a la edad de rebrote de ocho semanas, posee en promedio 34.3%;

de fibra cruda; y a las doce semanas 38.4% de fibra cruda, mostrando tendencia a incrementarse a medida que el forraje madura.



**Gráfica 4. Fibra cruda en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.5 Fibra neutro detergente

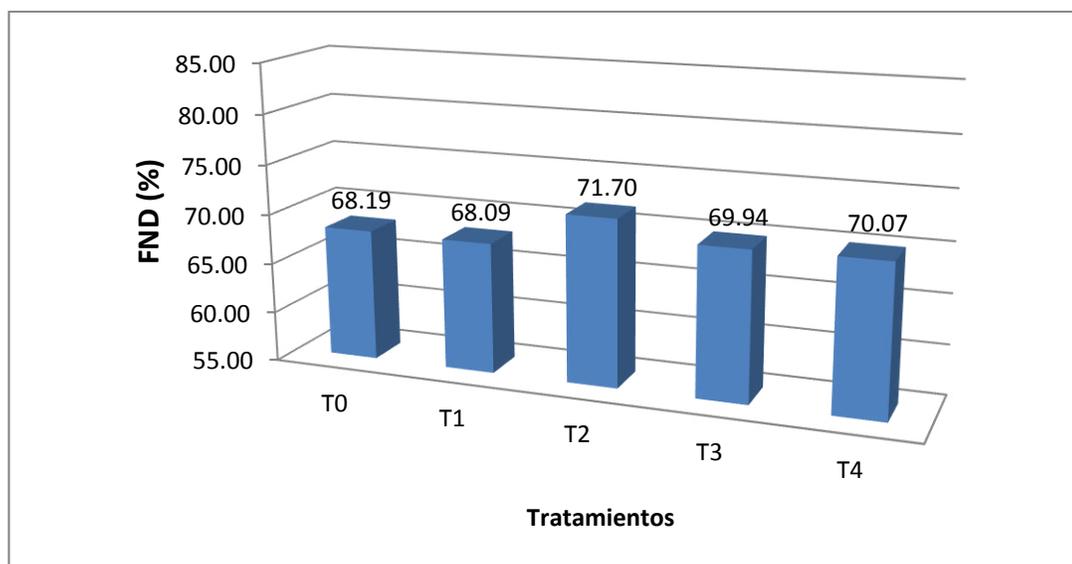
El análisis estadístico indica que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos, sin embargo, los altos valores encontrados son un indicativo del alto grado de madurez del forraje (Figura 11A).

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) menciona valores de FND de 67.85% en el forraje napier.

Cubero, Rojas y Wing (2010) reporta valores de FND en ensilaje de maíz con inóculo microbioal de 66.48%

Según el Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales (2), la fibra neutra hace aportes importantes de energía en los hatos de baja y mediana producción, mientras que en los de producción alta, la fibra es requerida para mantener un rumen sano, mantener la calidad de la leche, reducir la incidencia de desórdenes metabólicos como el desplazamiento del abomaso, así como de problemas reproductivos.

El Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales (1) realizó un estudio llevado a cabo por la Universidad Nacional de Costa Rica, sobre el valor nutricional de los forrajes del trópico húmedo y zona alta de Costa Rica, evaluando el contenido de Fibra Detergente Neutro (% de la MS), presentó valores de 72.8% de FND en promedio de las dos temporadas evaluadas (invierno y verano) valor que resulta significativamente superior al encontrado en la presente investigación para el forraje napier.



**Gráfica 5. Fibra neutro detergente en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.6 Fibra ácido detergente

El análisis estadístico realizado, indica que existe una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos, el menor contenido de FAD lo reporta el tratamiento T1 con 39.12% mientras que el tratamiento testigo reporta valores de T0 42.67% (Figura 12A).

Según el Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales esta fracción de forraje se correlaciona negativamente con la digestibilidad de los alimentos y por consiguiente, con su aporte de energía.

El análisis evidencia que la proporción de FAD en el ensilaje, disminuye en la misma proporción en la que disminuye la concentración de bacterias ( $3.75 \times 10^{10}$  UFC). La gráfica 6, muestra que la menor concentración de FAD la presenta el T1 y posteriormente, el tratamiento con licor ruminal, lo que hace suponer que la concentración adecuada de bacterias se encuentra por debajo de esta concentración.

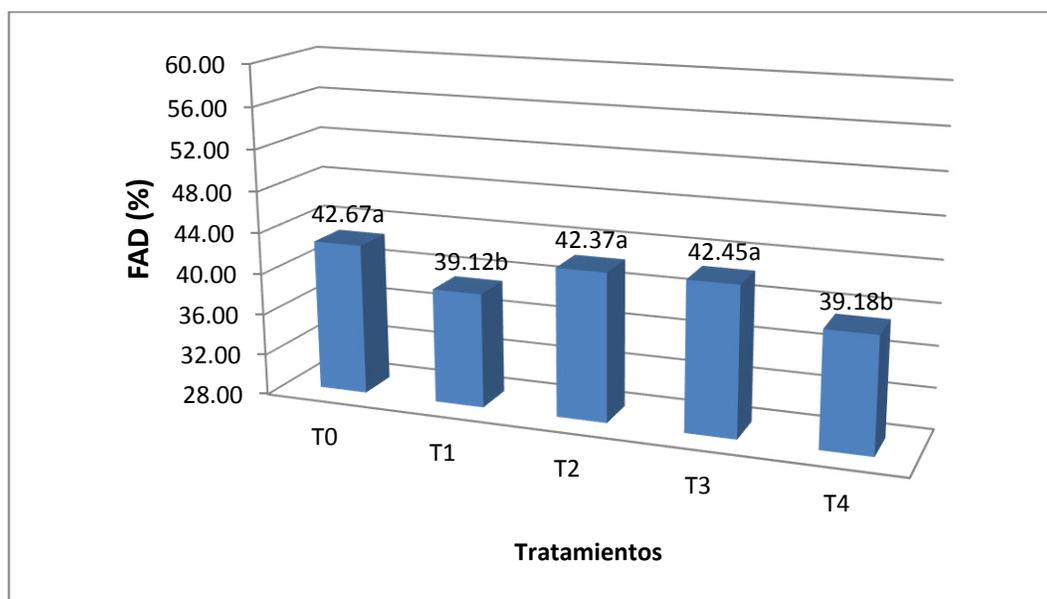
Cabe mencionar, que a pesar que existe diferencia estadística importante, el valor mínimo de FAD, encontrado sigue siendo alto, es de suponer que la edad del forraje, tuvo un efecto significativo en la calidad del ensilaje.

Por su parte Cubero, Rojas y Wing (2010) reporta valores de FAD en ensilaje de maíz con inóculo microbial de 40.30%. Atribuyen que un aumento en el contenido de FAD en el material ensilado, se debe a un efecto en la estabilidad del material fermentado, que disminuye la descomposición de esta fracción de la pared celular, lo que provoca que otra fracción disminuya, por la utilización eficiente de componentes más disponibles (no fibrosos) presentes en el material durante el proceso fermentativo

Villeda (2011) citó valores para la fibra ácido detergente, que van de 36.1% y 45.9% en dos años diferentes de muestras.

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) menciona para la FAD, valores de 43.71% en promedio.

El Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales (2) realizó un estudio llevado a cabo por la Universidad Nacional de Costa Rica, sobre el valor nutricional de los forrajes del trópico húmedo y zona alta de Costa Rica, evaluando el contenido de Fibra Ácido Detergente (% de la MS), encontró valores de 50.9% de FAD en promedio de las dos temporadas evaluadas (invierno y verano) valor que resulta significativamente superior al encontrado en la presente investigación para el forraje napier.

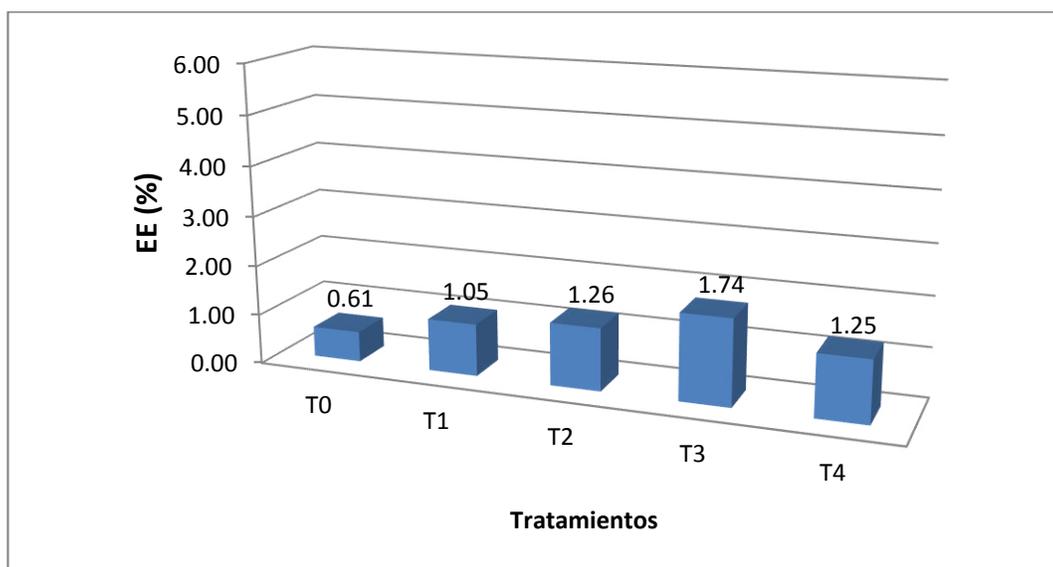


**Gráfica 6. Fibra ácido detergente en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.7 Extracto etéreo

El análisis estadístico indica que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos, siendo el tratamiento T3 (1.74%) el que presenta el mayor contenido de EE y el tratamiento con menor contenido lo reporta T0 o testigo 0.61%. Estos valores están influenciados por la utilización de aceite en la elaboración del inóculo bacteriano (Figura 13A).

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) reportan en las tablas de valor nutricional de alimentos para animales, valores de 0.87% - 2.04%, en el forraje napier. Por su parte Cubero, Rojas y Wing (2010) reporta valores de EE en ensilaje de maíz con inóculo microbiano de 1.72%

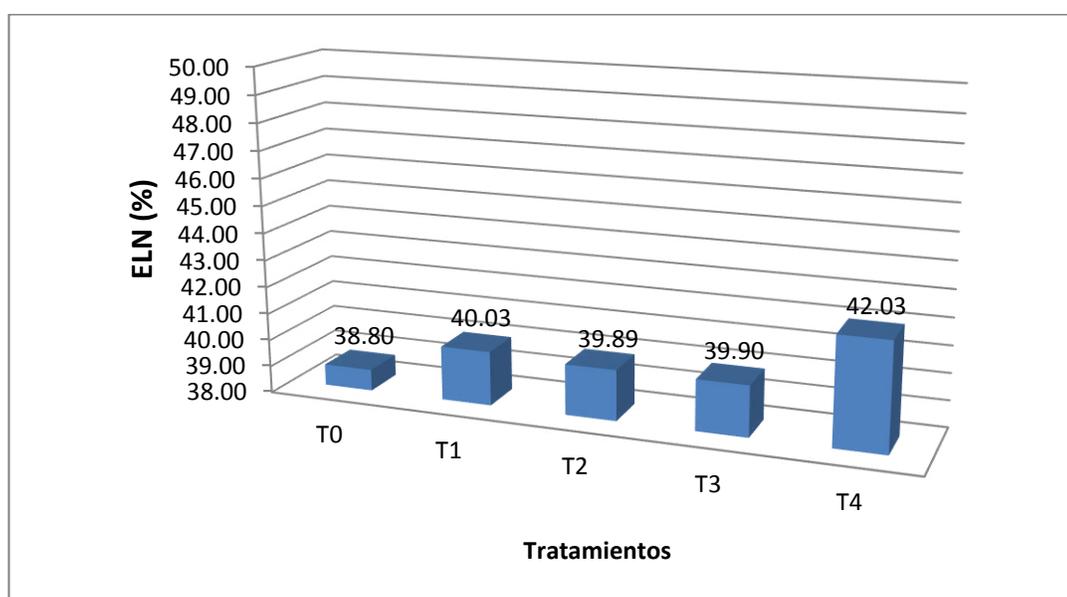


**Gráfica 7. Extracto etéreo en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.8 Extracto libre de nitrógeno

Para la variable extracto libre de nitrógeno se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) en el cual se determinó que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados; sin embargo, todos ellos presentan valores similares a los observados por González (2013).

González (2013) reporta valores de fibra cruda en pasto King grass con madurez de 60 días más 25% de contenido ruminal de 35.25%



**Gráfica 8. Extracto libre de nitrógeno en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.9 Cenizas

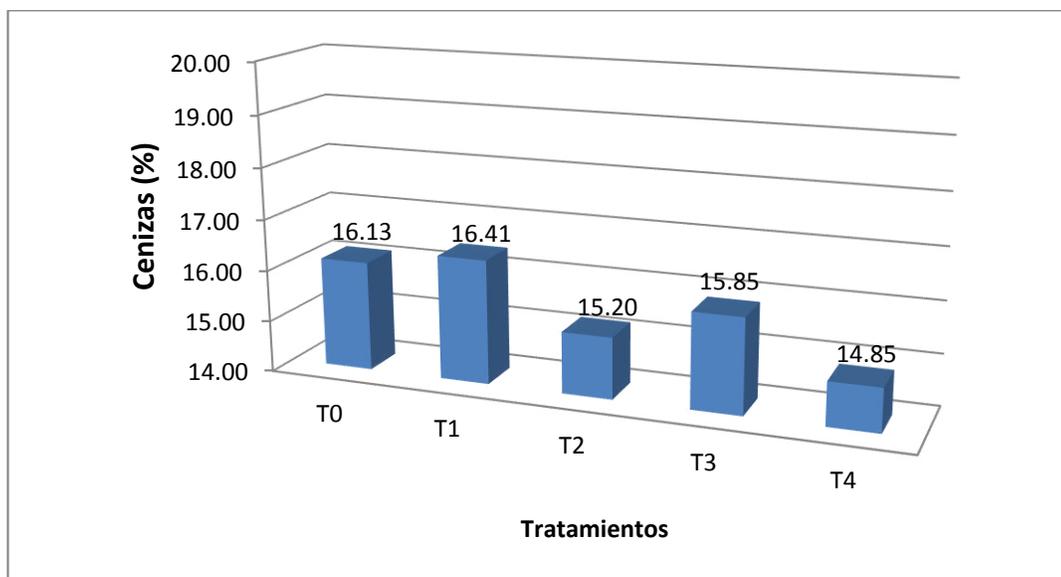
Para la variable cenizas se realizó un análisis de varianza en el cual se determinó que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre tratamientos. Los valores encontrados en la investigación son similares a los reportados por la literatura (Figura 14A).

Se sabe que el contenido de minerales en las plantas está determinado, entre otros factores, por la cantidad, forma y disponibilidad de minerales en el suelo, así como por la solubilidad de ellos en el agua disponible en el suelo.

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) presenta para esta variable, valores que oscilan desde un 7.88% – 14.82%, para el porcentaje de cenizas, en referencia al forraje napier. Por su parte González (2013) reporta valores de cenizas en pasto King Grass con madurez de 60 días más 25% de contenido ruminal de 15.19%

Castillo, Rojas y Wing (2009) indica que en el caso de la melaza, ésta presenta una concentración de minerales que va desde 9% hasta 13.3%.

Una investigación realizada por Nava *et al* (2013) en Nuevo León México, evaluando el forraje *Pennisetum purpureum* cv CT-115 en dos fechas de siembra; encontró valores de cenizas en hojas y tallos de 15.5% y 14.7%, respectivamente, para la fecha tardía.



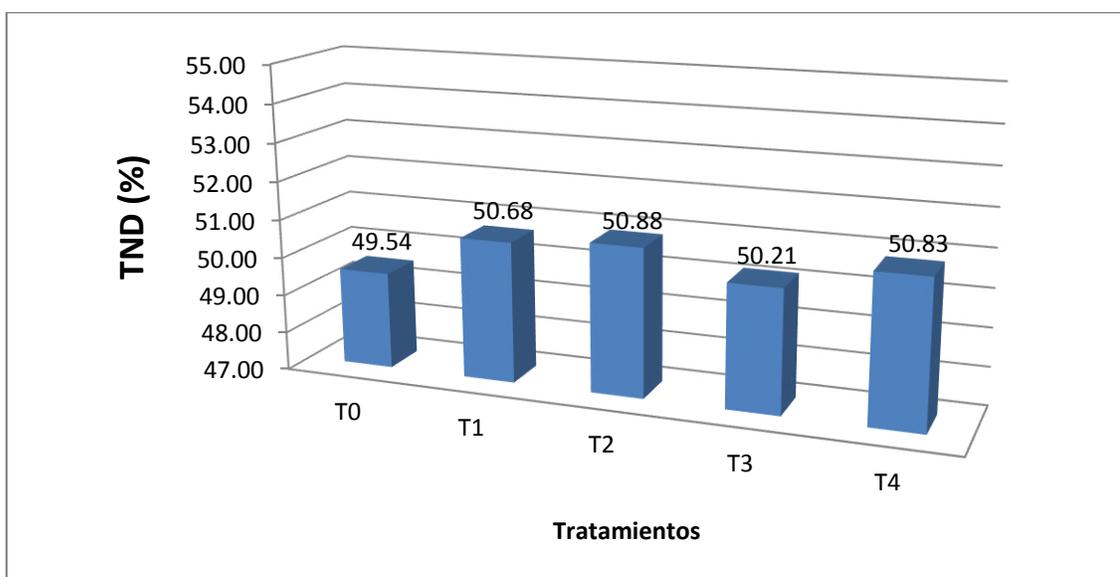
**Gráfica 9. Cenizas en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.**

### 8.2.10 Total de nutrientes digestibles

Para la variable, total de nutrientes digestibles, se realizó un análisis de varianza en el cual se determinó que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre tratamientos, pero se observa que en valores absolutos, existe una leve tendencia de incremento del TND en los tratamientos inoculados y en todos los casos fue superior a los valores reportados por la literatura.

Rodenas, Corado, Gutiérrez y Pérez (1999) encontró para el forraje napier, valores que oscilan entre 28.28% – 46.66%.

Si se toma en cuenta que el valor del TND está directamente relacionado con el valor de la digestibilidad del alimento, se puede inferir entonces que a pesar de no existir diferencia estadística importante entre tratamientos, se puede apreciar en la gráfica siguiente, una leve mejora del TND en el tratamiento que fue inoculado con la concentración estándar ( $5 \times 10^{10}$  UFC), lo cual podría traducirse en una mejora de la digestibilidad del alimento tratado.



Gráfica 10. Total de nutrientes digestibles en ensilaje de napier con tres niveles de inóculo de *Lactobacillus* y licor ruminal.

Al efectuar un análisis a la totalidad de las variables evaluadas, es posible observar que de manera general se mejoró el valor nutricional de las mismas en variables como el caso de la proteína cruda, fibra cruda, fibra neutro detergente; aunque esto sólo sea estadísticamente significativo para el caso de la fibra ácido detergente, en la cual, la diferencia es más sensible.

Acevedo y Buitrago (2008) encontraron que "en todos los procesos de ensilaje realizados, los valores de FDA y FDN obtenidos estuvieron por debajo del 13%, garantizando una buena calidad del ensilaje, ya que al obtenerse bajos valores de FDA y FDN se aumenta la disponibilidad de energía y la digestibilidad respectivamente".

Por tanto, a la vista de los resultados encontrados en la presente investigación, los mismos coinciden con los encontrados por Acevedo y Buitrago (2008), inclusive en las mismas variables, mas no así en los valores, sin embargo, tanto en el caso citado como en el presente estudio, el uso de los *Lactobacillus*, significó la mejora de la calidad nutricional de los forrajes.

**Cuadro 6. Total de variables evaluadas en el estudio.**

<b>Variables</b>	<b>Tratamientos</b>				
	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
<b>Materia Seca (%)</b>	22.30	22.80	23.00	23.00	22.32
	5.31	5.86	5.81	5.72	5.41
<b>Proteína Cruda (%)</b>	2.18	2.17	2.24	2.20	2.23
<b>Energía Digestible (Mcal/kg)</b>	37.17	37.44	37.12	36.98	37.30
<b>Fibra Cruda (%)</b>	68.19	68.09	71.70	69.94	70.07
<b>Fibra Neutro Detergente (%)</b>	42.67a	39.12 b	42.37 a	42.45 a	39.18 b
<b>Fibra Acido Detergente (%)</b>	0.61	1.05	1.26	1.74	1.25
<b>Extracto Etéreo (%)</b>	38.80	40.03	39.89	39.90	42.03
<b>Extracto Libre de Nitrógeno (%)</b>	16.13	16.41	15.20	15.85	14.85
<b>Cenizas (%)</b>	49.54	50.68	50.88	50.21	50.83
<b>Total de Nutrientes Digestibles (%)</b>					
<b>Color</b>	4	4	4	4	3
<b>Olor</b>	4	4	4	4	4

Fuente: elaboración propia 2013.

Escala para variables color y olor:

4= Excelente

3= Bueno

2= Regular

1= Malo

### 8.2.11 Evaluación organoléptica

Tradicionalmente se han utilizado una serie de indicadores para medir la calidad de los alimentos ensilados. Dentro de estos indicadores se encuentran el olor y color del material ensilado, así como también valorar las pérdidas de material por putrefacción. Los indicadores organolépticos son una herramienta para realizar una evaluación cualitativa del ensilaje (utilizando los órganos de los sentidos) y su exactitud dependerá de la experiencia del evaluador. Por no requerirse de mediciones para su ejecución, se ha convertido en la alternativa de evaluación más utilizada, económica y práctica.

Al efectuar el análisis de varianza para las variables olor y color, no se encontró diferencia estadística entre los tratamientos, con lo cual se establece que el color es verde amarillento y con un aroma agradable a la percepción de cada uno de los evaluadores (Figura 15A).

En los resultados de la evaluación organoléptica en cuanto a las variables olor y color, se obtuvo que el material ensilado fue de buena calidad, tal como lo indican Betancourt, *et. al.* (2006); quienes determinaron que un ensilaje de buena calidad en cuanto al olor, es agradable, con ligero olor a vinagre, y en cuanto al color, este debe ser verde amarillento, los tallos con tonalidad más pálida que las hojas, resultados que son similares a los obtenidos en la presente investigación.

## IX. CONCLUSIONES

- Los valores obtenidos mediante el análisis químico proximal de los tratamientos inoculados con bacterias productoras de ácido láctico, a pesar de no mostrar un efecto significativo entre los tratamientos, presentan una leve mejora nutricional del ensilaje de napier en valores absolutos, tal es el caso de las variables materia seca, proteína cruda, fibra cruda, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno, lo cual valida la hipótesis alterna planteada.
- Los valores obtenidos mediante el análisis Van Soest, efectuados a los tratamientos inoculados con bacterias productoras de ácido láctico, indican que para el caso de la fibra neutro detergente, los valores obtenidos fueron similares para todos los tratamientos, pero resultan elevados probablemente por el grado de madurez del forraje utilizado. Este aumento en el contenido de FDN podría reducir el consumo de materia seca, por un llenado físico de la cavidad ruminal, por consiguiente, una reducción en el aporte de nutrimentos al sistema. En el caso de la fibra ácido detergente, el comportamiento fue inferior al testigo lo que se hace evidente en la diferencia estadística encontrada, lo cual sugiere una mejora nutricional del ensilaje por efecto del inóculo.
- Las pérdidas en el proceso de ensilaje de los tratamientos inoculados disminuyeron en la misma proporción en que se incrementó el inóculo, siendo el T3, el de menores pérdidas 9.33%; estos resultados sugieren que al incrementarse la concentración de inóculo en el ensilaje, disminuyó la proporción de pérdidas en la presente investigación.

- Por lo observado en la investigación para las variables color y olor, se puede afirmar que la incorporación de inóculo de *Lactobacillus* al ensilaje, en diferentes concentraciones, no modifica las características organolépticas del mismo; obteniéndose un ensilaje de buena calidad para los diferentes tratamientos, el cual presentó un color verde amarillento con olor agradable.
- La incorporación del inóculo en diferentes concentraciones de *Lactobacillus*, presenta una caída rápida en el pH, lo cual mejora la calidad organoléptica del ensilaje alcanzando en la presente investigación valores inferiores a los sugeridos por la literatura, tal es el caso del tratamiento con concentración estándar que alcanzó un pH de 4.3.
- El efecto de la incorporación del inóculo en el ensilaje proporciono un proceso fermentativo más eficiente mejorando su conservación, el proceso de fermentación láctica, las características organolépticas y disminuyendo las pérdidas por descomposición anaeróbica, el pH y el crecimiento de poblaciones de bacterias no deseadas. En cuanto al valor nutricional, el inóculo no mostro un efecto sustancial sobre las características nutritivas en el ensilaje.

## X. RECOMENDACIONES

- Evaluar otros usos del contenido ruminal, ya que puede ser una buena práctica para minimizar el efecto contaminante que este produce al ser desechado al ambiente.
- Evaluar diferentes dosis de melaza en el proceso de ensilaje, para obtener una fermentación más eficiente del inóculo, en dicho proceso ya que esta es la fuente más disponible de energía de los cultivos de *Lactobacillus*.
- En futuras investigaciones en donde se utilice el forraje napier para ensilaje, se sugiere realizar una o varias fertilizaciones nitrogenadas al mismo para elevar el contenido proteico, ya que el incremento de proteína mejorará el desarrollo de las bacterias ácido lácticas.
- Es importante evaluar diferentes edades o grados de madurez del napier para ser inoculado como ensilaje ya que se conoce que a mayor contenido de materia seca, menor efecto de los *Lactobacillus*.
- Dado el proceso de investigación en la presente evaluación resulta valioso que en futuras investigaciones se determine la eficiencia de los inóculos de *Lactobacillus* en ensilajes como alternativa en el consumo de novillos de engorde para conocer el efecto a nivel de respuesta animal.
- Evaluar el efecto de los *Lactobacillus* como aditivos en alimentos balanceados para el consumo de aves de postura, ya que estas bacterias se encuentran en el intestino delgado y realizan procesos de fermentación produciendo ácido láctico, el cual disminuyen el pH del bolo alimenticio, además favorecen el establecimiento y mantenimiento de la flora microbiana.

## XI. BIBLIOGRAFIA

1. Acevedo, D; Buitrago, LF. 2008. Evaluación del contenido ruminal como suplemento alimenticio para el consumo de ganado bovino ensilándolo con *Lactobacillus casei* (en línea). Medellín, CO, Universidad EAFIT, Escuela de Ingeniería. p. 8-27. Consultado 7 sep. 2012. Disponible en: <http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/PROYECTO/P660.6CDA174/marcoTeorico.pdf>
2. Aranda, J. 1997. Bacterias ácido lácticas como promotoras de la digestibilidad in vitro e in vivo (en línea). México, Universidad Autónoma de Nuevo León. Consultado 11 dic. 2012. Disponible en: [cdigital.dgb.vanl.mx/te/108007/709](http://cdigital.dgb.vanl.mx/te/108007/709)
3. Bernal, E; Chaverra, G. 2000. El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno. Bogotá, CO, IICA-Tercer Mundo. p. 64-69.
4. Betancourt, M; González, I; Martínez, M. 2006. Evaluación de la calidad de los forrajes (en línea). Maracaibo, VE, INIA. Consultado 3 abr. 2013. Disponible en: [http://www.engormix.com/evaluacion calidad forrajes s articulos 1110 AGR.shtml](http://www.engormix.com/evaluacion%20calidad%20forrajes%20s%20articulos%201110%20AGR.shtml)
5. Cerna, A. 2013. Caracterización, aislamiento e identificación de los lactobacilos de la ruminaza de bovinos faenados; en el municipio de Chiquimula, Chiquimula 2013. Tesis Lic. Zoot. Chiquimula, GT, USAC-CUNORI. 89 p.

6. Castillo, M; Rojas, A; Wing Ching, R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*) (en línea). Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 14 p. Consultado 20 abr. 2014. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43612054012>
7. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, CO). 2003. Forrajes: informes anuales. Cali, CO. 13 p.
8. Cruz, JR De La. 1982. Clasificación de zonas de vida en Guatemala a nivel de reconocimiento; basada en el sistema Holdridge. Guatemala, DIGESA. p. 42
9. Cubero, J; Rojas A; Wing Ching, R. 2010. Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (*Zea mays*), valor nutricional y fermentativo (en línea). Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. p. 237-247. Consultado 10 ago. 2014. Disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/3634-5655-1-PB.pdf>
10. CUNORI (Centro Universitario de Oriente, GT). 2012. Datos climatológicos de 2012. Chiquimula, GT, USAC, CUNORI, Estación climatológica tipo "B.
11. Duarte, O. 2010. Evaluación de ensilado de napier (*Pennisetum purpureum* var. *Schum*), con tres niveles de sustitución de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) municipio de Chiquimula, departamento de Chiquimula 2010. Tesis Lic. Zoot. Chiquimula, GT, USAC-CUNORI. 74 p.

12. Franco, L; Calero, D; Ávila, P. 2007. Alternativas para la conservación de forrajes (en línea). Colombia, Universidad Nacional de Colombia. p. 16-17. Consultado 20 oct. 2012. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/5028/1/9789584411747.pdf>
13. Franco, MR. 2008. Pastos del trópico para corte (en línea). Colombia, Cultura Empresarial Ganadera. Consultado 28 oct. 2012. Disponible en [http://www.engormix.com/pastos\\_corte\\_tropico\\_s\\_articulos\\_2047\\_GDC.htm](http://www.engormix.com/pastos_corte_tropico_s_articulos_2047_GDC.htm)
14. González, L. 2013. Evaluación de la composición nutricional de microsilos de King grass "*Pennisetum purpureum*" y pasto Saboya "*Panicum maximum jacq*" en dos estados de madurez con 25% de contenido ruminal de bovinos faenados en el camal municipal del Canton Quevedo (en línea). Ecuador, Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 86 p. Consultado 17 ago. 2014. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/1633/1/T-UTC-1507.pdf>
15. González, S; Jiménez, J; Rodríguez, M; Fernández, A; Huete, R. 2013. Relación de la calidad de las pasturas y la importancia de la suplementación mineral y vitamínica en vacas lecheras (en línea). Costa Rica, Universidad Nacional, Facultad de Tierra y Mar. 26 p. Consultado 15 ago. 2014. Disponible en: <http://www.agrarias.una.ac.cr/index.php/descargas-electronicas/category/41-documentos?download=159:relacion-de-la-calidad-de-las-pasturas-y-la-importancia-de-la-suplementacion-mineral-y-vitaminica-en-vacas-lecheras>
16. Gutiérrez, M. 1996. Pastos y forrajes en Guatemala, su manejo y utilización, base de la producción animal. Guatemala, Editorial E y G. 318 p.

17. Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero (en línea). Argentina, Universidad de Córdoba. 66 p. Consultado 4 feb. 2014. Disponible en: [http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/22\\_11\\_37\\_maritza.pdf](http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/22_11_37_maritza.pdf)
18. Mora, N; García, A. 2007. Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos (en línea). México, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Químicas. p. 15-19. Consultado 14 nov. 2012. Disponible en: <http://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icbi/licenciatura/documentos/Susceptibilidad%20de%20bacterias%20acido%20lacticas.pdf>
19. Nava, J; Gutiérrez, E; Herrera, R; Zavala, F; Olivares, E; Treviño, J; Bernal, H; Valdés, C. 2013. Rendimiento y composición química del forraje CT-115 (*Pennisetum purpureum*) establecido a dos densidades y en dos fechas de siembra en Marín, Nuevo León, México (en línea). México, UANL, Facultad de Agronomía. 7 p. Consultado 7 jun. 2014. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193029815016.pdf>
20. Oliveira, AS De. 1995. Inoculación en ensilajes y su importancia para una correcta conservación evitando el desarrollo de micotoxinas (en línea). Brasil, Universidad de Londrina. 5 p. Consultado 18 nov. 2012. Disponible en: [http://es.beckerunderwood.com/media/cms/Hongos\\_y\\_Micotoxinas\\_Antonio\\_Sergio\\_6D3FE81E93749.pdf](http://es.beckerunderwood.com/media/cms/Hongos_y_Micotoxinas_Antonio_Sergio_6D3FE81E93749.pdf)

21. Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales (1), CR. s.f. Formas de expresar el contenido de fibra de los forrajes y alimentos (en línea). Costa Rica, Convenio MAG-UCR. Consultado 12 abr. 2014. Disponible en: <http://www.feednet.ucr.ac.cr/bromatologia/fef.htm>
22. Programa de Registro y Control de Calidad de Alimentos para Animales (2), CR. s.f. Pared celular y carbohidratos no fibrosos en los pastos tropicales (en línea). Costa Rica, Convenio MAG-UCR. Consultado 10 abr. 2014. Disponible en: <http://www.feednet.ucr.ac.cr/bromatologia/pccnfpt.htm>
23. Reyes, N; Mendieta, B; Fariñas, T; Mena, M; Cardona, J; Pezo, D. 2009. Elaboración y utilización de ensilajes en la alimentación del ganado bovino (en línea). Nicaragua, CATIE. p. 18-24. Consultado 11 ene. 2013. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2742e.pdf>
24. Rodenas, M; Corado, L; Gutiérrez, M; Pérez, C. 1999. Tablas de valor nutricional de alimentos para animales en Guatemala. Guatemala, USAC, DIGI. p. 23
25. Rúa, M. 2008. Pastos del trópico para corte (en línea). Colombia, Cultura Empresarial Ganadera. Consultado 27 sep. 2012. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/pasturas/articulos/pastos-corte-tropico-t2047/p0.htm>
26. SIG (Sistema de Información Geográfica, GT). 2012. Datos climáticos de la cabecera departamental de Chiquimula. Chiquimula, GT, CUNORI, SIG. 1 p.

27. Sorgensen, A. 1959. Microbiología de la fermentación industrial (en línea). 7 ed. Zaragoza, ES, Editorial Acribia. Consultado 03 jul. 2014. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos15/lactobacilos/lactobacilos.shtml>
28. Tobía, C; Vargas, E. 2000. Inóculos bacterianos: una alternativa para mejorar el proceso fermentativo en los ensilajes tropicales (en línea). Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 16 p. Consultado 25 oct. 2012. Disponible en: [http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/publicaciones/cap6\\_vol6.pdf](http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/publicaciones/cap6_vol6.pdf)
29. Villeda, L. 2011. Efecto de la inclusión de 3 niveles de contenido ruminal de bovinos en el ensilaje de maíz (*Zea mays*), Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, GT, USAC. 56 p.

## **XII. APÉNDICE**

**Cuadro 7A. Peso en fresco y materia seca de los tratamientos.**

<b>Muestra</b>	<b>Peso en fresco de los tratamientos (kg)</b>	<b>Materia seca parcial (%)</b>	<b>Materia seca total (%)</b>
T0R1	9.55	24.94	22.52
T0R2	9.55	24.94	22.25
T0R3	9.09	24.64	22.02
T0R4	9.09	24.96	22.41
T1R1	7.27	29.18	26.49
T1R2	8.86	23.90	21.58
T1R3	7.73	25.28	22.74
T1R4	9.09	25.00	22.94
T2R1	8.18	26.02	23.43
T2R2	9.09	24.72	22.56
T2R3	8.86	25.98	23.59
T2R4	9.77	25.64	23.47
T3R1	9.32	27.58	25.08
T3R2	9.09	28.02	25.54
T3R3	9.77	24.80	22.83
T3R4	9.54	25.18	23.02
T4R1	8.86	25.62	22.30
T4R2	9.54	24.50	21.96
T4R3	8.63	24.44	22.43
T4R4	8.86	24.76	22.57

Fuente: elaboración propia 2013.

Cuadro 8A. Análisis de varianza para la variable materia seca de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. ≥ F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	9.72	2.43	1.79	0.1827
<b>Error</b>	15	20.33	1.35		
<b>Total</b>	19	30.05			

Fuente: elaboración propia 2013.

C.V = 5.04

Cuadro 9A. Análisis de varianza para la variable proteína cruda de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. ≥ F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	0.93	0.23	2.03	0.1447
<b>Error</b>	14	1.61	0.11		
<b>Total</b>	18	2.54			

Fuente: elaboración propia 2013.

C.V = 6.02

Cuadro 10A. Análisis de varianza para la variable energía digestible de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. ≥ F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	0.02	0.005	1.57	0.2344
<b>Error</b>	15	0.05	0.003		
<b>Total</b>	19	0.07			

Fuente: elaboración propia 2013.

C.V = 2.66

Cuadro 11A. Análisis de varianza para la variable fibra cruda de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	10.72	2.68	0.30	0.8710
<b>Error</b>	15	132.49	8.83		
<b>Total</b>	19	143.21			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 7.94**

Cuadro 12A. Análisis de varianza para la variable fibra neutro detergente de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	29.31	7.32	2.39	0.1047
<b>Error</b>	13	39.91	3.07		
<b>Total</b>	17	69.22			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 2.51**

Cuadro 13A. Análisis de varianza para la variable fibra ácido detergente de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Mmedios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	93.35	23.33	8.83	0.0007
<b>Error</b>	15	39.66	2.64		
<b>Total</b>	19	133.01			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 3.91**

Cuadro 14A. Análisis de varianza para la variable extracto etéreo de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	2.31	0.57	1.95	0.1580
<b>Error</b>	14	4.15	0.29		
<b>Total</b>	18	6.47			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 47.24**

Cuadro 15A. Análisis de varianza para la variable extracto libre de nitrógeno de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	91.85	22.96	2.22	0.1161
<b>Error</b>	15	155.31	10.35		
<b>Total</b>	19	247.17			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 8.08**

Cuadro 16A. Análisis de varianza para la variable cenizas de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	57.58	14.39	2.68	0.0722
<b>Error</b>	15	80.55	5.37		
<b>Total</b>	19	138.14			

Fuente: elaboración propia 2013.

**C.V = 14.85**

Cuadro17A. Análisis de varianza para la variable total de nutrientes digestibles de aditivos biológicos obtenidos a partir de la ruminaza de bovinos llevados a rastro, aplicados al ensilado de napier.

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F. calculada</b>	<b>Pr. <math>\geq</math> F</b>
<b>Tratamiento</b>	4	10.37	2.59	1.43	0.2728
<b>Error</b>	15	27.24	1.81		
<b>Total</b>	19	37.62			

Fuente: elaboración propia 2013.

C.V = 2.69

## FIGURAS



**Figura 1A. Llenado, semi-entierro y distribución de los microsilos aleatoriamente.**



**Figura 2A. Llenado y compactado de los microsilos.**



**Figura 3A. Tres diferentes concentraciones de inóculo de *Lactobacillus* a evaluar.**



**Figura 4A. Adición de inóculo y melaza en cada unidad experimental.**



**Figura 5A. Sellado, identificación y semientierro de los microsilos.**



**Figura 6A. Peso inicial de los microsilos y porcentaje de pérdidas por tratamientos.**



**Figura 7A. Valores de pH.**



**Figura 8A. Determinación de Materia Seca Parcial y Total**



**Figura 9A. Determinación de Proteína Cruda o nitrógeno total (macro kjendahl).**



**Figura 10A. Determinación de Fibra Cruda**



**Figura 11A. Determinación de la FND por el método Van Soest.**



**Figura 12A. Determinación de la FAD por el método Van Soest.**



**Figura 13A. Determinación de Extracto Etéreo o Grasas Totales.**



**Figura 14A. Determinación de Cenizas o Minerales Totales**



**Figura 15A. Evaluación organoléptica**

### **XIII. ANEXOS**

Cuadro 18A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T0

Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria Escuela de Zootecnia.					1 de 1
<b>INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS</b>					Formula
Descripción de la Muestra : Ensilado de Napier con melaza (T0 MH) Lugar de Origen : Chiquimula Solicitado por: <u>Silvia Menendez</u> Dirección :					5
<b>Materia seca parcial</b>					Recibo de Pago : Docencia Fecha de Recepción : 23-07-13 Recibida por : José A. Tel. Fax.
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	Resultado		
132.4	500	254.5	24.42		
<b>Materia seca total</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
0.8220	2.0397	2.7336	93.7197		
0.8232	2.0409	2.7353	93.6891	93.70	
Materia seca			Humedad		
22.88			77.12		
<b>Cenizas O minerales Totales</b>					
TARA	P.I. muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
35.7083	2.5402	36.0713	14.29	15.25	14.29
35.7104	2.5426	36.0739	14.30	B. SECA	B. FRESCA 3.49
<b>Extracto Etéreo</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.I. BEAKER	P.F. Beacker	%	Resultado
	1.0668	76.2989	76.3046	0.53	0.55
	1.0677	76.2998	76.3052	0.51	B. SECA
					0.52
					B. FRESCA 0.13
<b>FIBRA CRUDA</b>					
P. Bolsa	P. B.+Muestra	P. Digestión	Tara Crisol	P. Fin. Crisol	Resultado
0.5466	1.5053	0.8684	18.8462	18.8641	31.70
0.5477	1.5064	0.8695	18.8470	18.8652	31.68
Blanco	Dif. Bolsa	Dig. Bolsa	Dif. Crisoles		31.67
0.0036	0.9587	0.3218	0.0179	0.3039	33.81
0.0036	0.9587	0.3218	0.0182	0.3036	B. SECA
					Promedio
					B. FRESCA 7.74
<b>Proteína Cruda</b>					
<b>Extracto libre de nitrógeno</b>					B. FRESCA
	Resultado			0.00	0.00
4.53	4.84	4.54	45.54		B. Seca
4.55	B. SECA	1.11	B. FRESCA		K oH
E.D.	2.27		T.N.D.	51.50	
E.M.	1.86		Lignina		
F.A.D.	43.74	B. Seca	F.N.D.	68.83	
K O H			DIG. PEPSINA		
Realizados Por: <u>José Morales</u>					Fecha de Realización : 23/07/2013 31/07/2013



## Cuadro 19A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T1

1 de 1

Universidad de San Carlos de Guatemala.  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela de Zootecnia.

Elaborado por Lic. Jorge Sinay  
Modificado por Dr. Hugo R. Pérez N.

**INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS**

Formula

Descripción de la Muestra : **Ensilado de Napier con inóculo 25% menor al estándar (T1 MH)**

Lugar de Origen : **Chiquimula**

Solicitado por : **Silvia Menendez**

Dirección :

**Materia seca parcial**

Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	Resultado
162.2	500	286.3	24.82

**Materia seca total**

Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	%	Resultado
0.8373	2.3831	3.1357 *	96.4458	96.43
0.8385	2.3843	3.1374	96.4182	
Materia seca			Humedad	
23.93			76.07	

**Cenizas O minerales Totales**

TARA	P.I muestra	P.F. Y tara	%	Resultado
16.0800	2.5057	16.4707	15.59	16.17
16.0821	2.5081	16.4733	15.60	B. SECA

**Extracto Etéreo**

Tara	P.I. Muestra	P.I BEAKER	P.F. Beacker	%	Resultado
	1.0010	75.0044	75.0200	1.56	1.60
	1.0019	75.0053	75.0206	1.53	B. SECA

**FIBRA CRUDA**

P. Bolsa	P. B.+Muestra	P. Digestión	Tara Crisol	P. Fin. Crisol	Resultado
0.5331	1.5875	0.8582	19.3715	19.3746	30.54
0.5342	1.5886	0.8593	19.3723	19.3757	30.52
Blanco	Dif. Bolsa	Dig. Bolsa	Dif. Crisoles		30.51
0.0036	1.0544	0.3251	0.0031	0.3220	31.65
0.0036	1.0544	0.3251	0.0034	0.3217	B. SECA

**Proteína Cruda**

Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado
5.42	5.63	5.43	44.95	0.00
5.44	B. SECA	1.35	B. FRESCA	0.00
E.D.	2.32		T.N.D.	52.63
E.M.	1.90		Lignina	
F.A.D.	36.81	B.Seca	F.N.D.	71.36
K O H			DIG. PEPSINA	

Realizados Por: **José Morales** Fecha de Realización : **23/07/2013 31/07/2013**

10 \*

Recibo de Pago : **Docencia**  
Fecha de Recepción : **23-07-13**  
Recibida por : **José A.**

Tel. \_\_\_\_\_ Fax. \_\_\_\_\_

## Cuadro 20A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T2

Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria Escuela de Zootecnia.		Elaborado por Lic. Jorge Sinay Modificado por Dr. Hugo R. Pérez N.		1 de 1	
<b>INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS</b>				Formula	
Descripción de la Muestra : <u>Ensilado de Napier con inóculo estándar (T2 MH)</u>					
Lugar de Origen : <u>Chiquimula</u>					
Solicitado por: <u>Silvia Menendez</u>					
Dirección :					
<b>Materia seca parcial</b>				<b>15</b>	
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	Resultado		
187.1	500	327.5	28.08		
<b>Materia seca total</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
0.8303	2.0217	2.6680	90.8987	90.88	
0.8315	2.0229	2.6697	90.8695		
Materia seca			Humedad		
25.52			74.48		
<b>Cenizas O minerales Totales</b>					
TARA	P.I muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
18.8653	2.5176	19.2291	14.45	15.90	
18.8674	2.5200	19.2317	14.46	B. SECA	
				14.45	<b>B. FRESCA</b> <b>4.06</b>
<b>Extracto Etéreo</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.I BEAKER	P.F. Beacker	%	Resultado
	1.0271	70.5797	70.5946	1.45	1.58
	1.0280	70.5806	70.5952	1.42	B. SECA
				1.44	<b>B. FRESCA</b> <b>0.40</b>
<b>FIBRA CRUDA</b>					
P. Bolsa	P. B.+Muestra	P. Digestión	Tara Crisol	P. Fin. Crisol	Resultado
0.5489	1.5173	0.8786	18.1195	18.1220	33.79
0.5500	1.5184	0.8797	18.1203	18.1231	33.77
Blanco	Dif. Bolsa	Dig. Bolsa	Dif. Crisoles		33.76
0.0036	0.9684	0.3297	0.0025	0.3272	<b>37.16</b>
0.0036	0.9684	0.3297	0.0028	0.3269	B. SECA
					<b>Promedio</b> <b>9.48</b>
<b>Proteína Cruda</b>					
			Extracto libre de nitrógeno		<b>B. FRESCA</b>
	Resultado			0.00	<b>0.00</b>
5.27	5.81	5.28	39.55		<b>B. Seca</b>
5.29	B. SECA	1.48	B. FRESCA		<b>K oH</b> <b>0.00</b>
E.D.	2.23		T.N.D.	50.50	
E.M.	1.83		Lignina		
F.A.D.	43.34	B. Seca	F.N.D.	71.26	
K O H			DIG. PEPSINA		
Realizados Por:		<b>José Morales</b>		Fecha de Realización : <b>23/07/2013 31/07/2013</b>	



## Cuadro 21A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T3

Universidad de San Carlos de Guatemala.						1 de 1	
Facultad de Medicina Veterinaria						Elaborado por Lic. Jorge Sinay	
Escuela de Zootecnia.						Modificado por Dr. Hugo R. Pérez N.	
<b>INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS</b>							
Descripción de la Muestra : <b>Ensilado de Napier con inóculo 25% mayor al estándar (T3 MH)</b>						Formula	
Lugar de Origen : <b>Chiquimula</b>						<b>20</b>	
Solicitado por: <b>Silvia Menendez</b>							
Dirección :						Recibo de Pago : <b>Docencia</b>	
<b>Materia seca parcial</b>						Fecha de Recepción : <b>23-07-13</b>	
						Recibida por : <b>José A.</b>	
Tara						Tel.	
P.I. Muestra						Fax.	
P.F. Y tara							
Resultado							
113							
500							
241.1							
25.62							
<b>Materia seca total</b>							
Tara							
P.I. Muestra							
P.F. Y tara							
%							
Resultado							
0.8245							
2.1000							
2.7228							
90.3952							
0.8257							
2.1012							
2.7245							
90.3674						<b>90.38</b>	
Materia seca						Humedad	
23.16						76.84	
<b>Cenizas O minerales Totales</b>							
TARA							
P.I muestra							
P.F. Y tara							
%							
Resultado							
16.5745						14.71	
2.6158							
16.9592							
14.71						<b>3.77</b>	
16.5766							
2.6182							
16.9618							
14.71						<b>B. SECA</b>	
<b>Extracto Etéreo</b>							
Tara							
P.I. Muestra							
P.I BEAKER							
P.F. Beacker							
%							
Resultado							
1.0023						1.87	
77.1887							
77.2076							
1.89						<b>0.48</b>	
1.0032							
77.1896							
77.2082							
1.85						<b>B. SECA</b>	
<b>FIBRA CRUDA</b>							
P. Bolsa							
P. B.+Muestra							
P. Digestión							
Tara Crisol							
P. Fin. Crisol							
Resultado							
0.5393							
1.5595							
0.8791							
33.7144							
33.7128							
33.46						<b>8.57</b>	
0.5404							
1.5606							
0.8802							
33.7152							
33.7139							
33.45						<b>Promedio</b>	
Blanco							
Dif. Bolsa							
Dig. Bolsa							
Dif. Crisoles							
33.43							
0.0036							
1.0202							
0.3398							
-0.0016							
0.3414							
<b>37.01</b>							
0.0036							
1.0202							
0.3398							
-0.0013							
0.3411							
<b>B. SECA</b>							
<b>Proteína Cruda</b>							
Resultado						Extracto libre de nitrógeno	
4.95						0.00	
<b>5.49</b>						<b>0.00</b>	
4.96							
39.16							
4.97						<b>B. Seca</b>	
<b>B. SECA</b>						<b>K oH</b>	
1.27						<b>0.00</b>	
B. FRESCA							
E.D.							
2.22							
T.N.D.							
50.26							
E.M.							
1.82							
Lignina							
F.A.D.							
43.30							
B. Seca							
F.N.D.							
70.36							
K O H							
DIG. PEPSINA							
Realizados Por: <b>José Morales</b> Fecha de Realización : <b>23/07/2013 31/07/2013</b>							

## Cuadro 22A. Informe de resultados de análisis bromatológicos del T4

Universidad de San Carlos de Guatemala.						1 de 1	
Facultad de Medicina Veterinaria						Elaborado por Lic. Jorge Sinay	
Escuela de Zootecnia.						Modificado por Dr. Hugo R. Pérez N.	
<b>INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS</b>						Formula	
Descripción de la Muestra : Ensilado de Napier con licor ruminal (T4 MH)						<b>25</b>	
Lugar de Origen : Chiquimula							
Solicitado por: Silvia Menendez							
Dirección :						Recibo de Pago : Docencia	
<b>Materia seca parcial</b>						Fecha de Recepción : 23-07-13	
						Recibida por : José A.	
Tel.						Fax.	
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	Resultado				
129.5	500	253.4	24.78				
<b>Materia seca total</b>							
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	%	Resultado			
0.8254	2.0590	2.7018	91.1316	91.12			
0.8266	2.0602	2.7035	91.1028				
Materia seca				Humedad			
22.58				77.42			
<b>Cenizas O minerales Totales</b>							
TARA	P.I muestra	P.F. Y tara	%	Resultado			
19.3737	2.5806	19.7241	13.58	14.91	13.58	B. FRESCA	
19.3758	2.5830	19.7267	13.58	B. SECA		3.37	
<b>Extracto Etéreo</b>							
Tara	P.I. Muestra	P.I BEAKER	P.F. Beacker	%	Resultado		
	1.0060	75.1446	75.1529	0.83	0.89	0.81	B. FRESCA
	1.0069	75.1455	75.1535	0.79	B. SECA		0.20
<b>FIBRA CRUDA</b>							
P. Bolsa	P. B.+Muestra	P. Digestión	Tara Crisol	P. Fin. Crisol	Resultado		
0.5200	1.5630	0.8626	19.0772	19.0800	32.58	B. FRESCA	
0.5211	1.5641	0.8637	19.0780	19.0811	32.56	Promedio	
Blanco	Dif. Bolsa	Dig. Bolsa	Dif. Crisoles		32.55		
0.0036	1.043	0.3426	0.0028	0.3398	35.74		
0.0036	1.0430	0.3426	0.0031	0.3395	B. SECA		
<b>Proteína Cruda</b>							
				Extracto libre de nitrógeno		B. FRESCA	
	Resultado			0.00	0.00		
4.69	5.16	4.70	43.31		B. Seca		
4.71	B. SECA	1.16	B. FRESCA		K oH	0.00	
E.D.	2.25		T.N.D.	51.12			
E.B.	2		Lignina				
F.A.D.	38.35	B.Seca	F.N.D.	67.20			
K O H			DIG. PEPSINA				
Realizados Por: José Morales						Fecha de Realización : 23/07/2013 31/07/2013	

