



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

15  
Zey

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

FALLA DE ORIGEN

EFECTO DE LA ADICION DE MELAZA E INOCULANTE BACTERIANO EN EL ENSILAJE *in vitro* DE TRES FORRAJES CONVENCIONALES

T E S I S

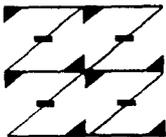
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

U N A M  
F E S  
Z A R A G O Z A

PRISCILA GUERRA RAMIREZ



LO HUMANO  
EJE  
DE NUESTRA REFLEXION

México, D.F.

1995



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

**A mis queridos padres**

*IRENE y RICARDO*

**que con tanto esfuerzo han dedicado su vida a nosotros sus hijos, enseñándonos el camino correcto, por su confianza y apoyo sin límites.**

**A mis hermanos: R. Arturo (†), Patricia, Juan Carlos, Diana y Ma. Irene, que me regalaron su ejemplo y a los que espero no defraudar nunca.**

**A mis sobrinos, que han despertado en mí un sentir que me era ajeno, alimentando mi espíritu con su ternura y sonrisas.**

**A mis compañeros de grupo, que crearon un ambiente tan especialmente agradable en mi vida académica, y a mis amigos con los que he compartido tantas experiencias y en los que siempre he encontrado confianza y ayuda.**

**Al compañero de mi vida Jonás que ha caminado junto a mí desde la infancia.**

**A "Los Transgresores de la Ley".**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza y a todos y cada uno de los profesores que en ella me formaron como Biólogo.**

**A la Universidad Autónoma Chapingo, en especial al Departamento de Zootecnia por las facilidades prestadas para la realización del presente trabajo.**

**A los sinodales tanto de la FES como de la UACH que revisaron y enriquecieron el contenido del mismo.**

**Agradezco enormemente al M. en C. Luis Alberto Miranda Romero, por su acertada crítica y dirección, así como por su amistad y trato sencillo.**

**Especialmente a mi compañero de tesis Oscar Sánchez Osorio, egresado de la UACH, por la retroalimentación de conocimientos durante la realización conjunta de esta investigación, así como por haber hecho agradables los momentos de trabajo.**

**Al Sr. Andrés Lee, encargado del laboratorio de Ganadería del Colegio de Posgraduados, al Sr Paulino y a Laura del Departamento de Zootecnia y al Sr. Eugenio del área de Química del Departamento de Preparatoria Agrícola de la UACH.**

**A todos los que de una u otra manera contibuyeron para que la presente investigación llegara a buen término.**

# INDICE TEMATICO

	Página
INDICE DE CUADROS .....	iii
INDICE DE FIGURAS .....	iv
RESUMEN .....	v
I. INTRODUCCION .....	1
II. OBJETIVO .....	3
III. HIPOTESIS .....	3
IV. REVISION DE LITERATURA .....	4
4.1 DEFINICION Y PROCESO DE ENSILAJE .....	4
4.2 PERDIDAS DURANTE EL ENSILAJE .....	5
4.3 EFECTO DEL TIPO DE FORRAJE Y EL USO DE ADITIVOS EN EL ENSILAJE .....	6
4.3.1 GRAMINEAS .....	6
CEREALES .....	7
Efecto del uso de Aditivos .....	7
PASTOS DE ZONAS TEMPLADAS .....	10
Efecto del uso de aditivos .....	10
PASTOS DE ZONAS TROPICALES .....	11
Efecto del uso de aditivos .....	11
4.3.2 LEGUMINOSAS DE ZONA TEMPLADA .....	15
Efecto del uso de aditivos .....	16
V. MATERIAL Y METODO .....	19
5.1 FORRAJES .....	19
5.2 ADITIVOS UTILIZADOS .....	20
5.3 ELABORACION DE MICROSILOS .....	21
5.4 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	21
5.5 IMPLEMENTACION DE TRATAMIENTOS .....	22
5.6 ANALISIS QUIMICOS .....	23
5.6.1 Materia Seca no Volátil .....	23

5.6.2	pH .....	23
5.6.3	Proteína Cruda .....	24
5.6.4	Extracción y Determinación de carbohidratos solubles por fenol- sulfúrico .....	24
5.6.5	Determinación de fibra detergente (FDN) o paredes celulares .....	25
5.6.6	Digestibilidad parcial ruminal <i>in situ</i> de la materia seca .....	26
5.7	ANALISIS ESTADISTICO .....	27
VI.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	29
6.1	MATERIA SECA .....	29
6.2	CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN AGUA .....	33
6.3	PROTEINA CRUDA .....	35
6.4	RELACION CARBOHIDRATOS A PROTEINA .....	37
6.5	pH .....	38
6.6	FIBRA DETERGENTE NEUTRO .....	48
6.7	DIGESTIBILIDAD PARCIAL RUMINAL <i>in situ</i> DE LA MATERIA SECA .....	50
VII.	CONCLUSIONES .....	54
VIII.	RECOMENDACIONES .....	55
IX.	BIBLIOGRAFIA .....	56
X.	ANEXOS .....	62

## INDICE DE CUADROS

	Página
1. Arreglo de Tratamientos .....	22
2. Materia Seca con base a la SUMA porcentual de sus tres principales constituyentes (CSA, PC y FDN) al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos .....	32
3. pH a diferentes tiempos en los ensilados de maíz, alfalfa y avena .....	40
4. Contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN) al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos .....	49
5. Digestibilidad parcial ruminal <i>in situ</i> de la materia seca al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos .....	52
Anexo 1. Composición química de algunos cereales .....	62
Anexo 2. Composición química de algunos pastos de zona templada .....	62
Anexo 3. Composición química de algunos pastos de zona tropical .....	63
Anexo 4. Composición química de algunas leguminosas de zona templada .....	63
Anexo 5. Contenido inicial de Materia Seca (MS), Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Proteína Cruda (PC), MS con base a la suma porcentual de sus tres principales constituyentes (CSA, PC y FDN); relación carbohidratos a proteína (CHOS:PROT) y pH en los diferentes tratamientos .....	64
Anexo 6. Contenido final de Materia Seca (MS), Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Proteína Cruda (PC), MS en base a la suma porcentual de sus tres principales constituyentes (CSA, PC, y FDN) y pH en los diferentes tratamientos .....	65
Anexo 7. Pérdidas de energía .....	65
Anexo 8. Diferencia porcentual entre los análisis finales con respecto a los iniciales, de los forrajes maíz, alfalfa y avena durante el proceso de ensilaje .....	66

## INDICE DE FIGURAS

	Página
1. Contenido (%) de Materia Seca en los diferentes tratamientos antes y después del ensilaje . . . . .	29
2. SUMA (MS referida a la suma porcentual de sus tres principales componentes (-CSA, PC y FDN-) al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	31
3. Contenido de carbohidratos al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	34
4. Contenido de proteína antes y después del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	36
5. Relación carbohidratos:proteína en los diferentes tratamientos al inicio del ensilaje . . . . .	38
6. pH al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	39
7. pH a diferentes tiempos en los ensilados de maíz . . . . .	41
8. pH a diferentes tiempos en los ensilados de alfalfa . . . . .	42
9. pH a diferentes tiempos en los ensilados de avena . . . . .	43
10. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados sin aditivos . . . . .	44
11. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con inoculante . . . . .	45
12. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con melaza . . . . .	46
13. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con melaza e inoculante . . . . .	47
14. Contenido de FDN al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	50
15. Digestibilidad <i>in situ</i> de la MS al inicio y final del final del ensilaje en los diferentes tratamientos . . . . .	51
16. Comportamiento de la FDN y de la digestibilidad <i>in situ</i> de la MS en los diferentes tratamientos . . . . .	53

## RESUMEN

Se condujo un experimento para determinar el efecto de melaza e inoculante bacteriano en el ensilaje y la digestibilidad *in situ* de la materia seca de maíz, alfalfa y avena. La melaza se adicionó a alfalfa y avena para obtener una relación carbohidratos a proteína de 2.3 semejante a la del maíz. El inoculante se adicionó al 0.1% base húmeda. Los tratamientos fueron maíz, maíz inoculado (MCIN), alfalfa, alfalfa inoculada (ACIN), alfalfa con melaza (ACME), alfalfa con ambos aditivos (AMIN), avena, avena inoculada (AVCI), avena con melaza (AVME) y avena con ambos (AVIM). Se hallaron diferencias ( $P < .01$ ) en la tasa de reducción del pH por el tipo de forraje, alcanzando un menor pH en el ensilado de maíz (3.9). El inoculante no afectó ( $P > .05$ ) el pH ni el contenido y digestibilidad *in situ*, así como la FDN, pero favoreció ( $P < .01$ ) un mayor contenido de proteína en MCIN (30%) respecto a su testigo (6.7%). La melaza redujo más el pH en ACME (4.3) y AVME (4.4) respecto a sus testigos (5.4, 4.9;  $P < .01$ ), conservó mayor proteína en ACME (23%) y AMIN (30%) respecto a su testigo (-8%), redujo ( $P < .01$ ) FDN en alfalfa (21.18%) y avena (44.9%) e incrementó la digestibilidad en alfalfa (85.8%) respecto a su testigo (76.2%). En ningún caso hubo efecto sinérgico con ambos aditivos.

## I. INTRODUCCION

El ensilado de forrajes se practica en zonas caracterizadas por inviernos frios y secos, donde se produce poco o nulo forraje verde para la alimentación del ganado, lo cual es causa de bajos rendimientos en leche o carne.

La calidad de un forraje ensilado está relacionada con el contenido de carbohidratos solubles previo al ensilaje y a su vez depende del estado de madurez y la especie vegetal. Se considera que es más fácil ensilar gramíneas con altos niveles de azúcares solubles que leguminosas, aunque hay otros factores que se deben tomar en cuenta como son el contenido de agua, la preparación de la hierba mediante un picado adecuado y la compactación del material (Muslera y Ratera, 1991).

La relación carbohidratos:proteína (CHOS:PROT) es de mayor importancia que el nivel de carbohidratos solubles *per se*, (Duthil, 1980), puesto que el poder tampón de la proteína y los productos de su degradación se contraponen a la acidez causada por el ácido láctico. De acuerdo con este autor (Duthil, 1980) la relación CHOS:PROT en leguminosas es de 0.2 a 0.3; en gramíneas de 0.5 a 1.3 y en maíz lechoso de 1.5 a 1.7.

Con el fin de ajustar la proporción CHOS:PROT previo al proceso de ensilaje se puede adicionar melaza a los forrajes (Becker *et al.*, 1970; Frankel, 1984; Woolford, 1984; Church, 1991; Umaña, 1991) y para acelerar el proceso de ensilaje se inoculan bacterias lácticas (Bolsen, 1978; Moon *et al.*, 1980; Mc Donald, 1981; Pahlow, 1984; Hinds *et al.*, 1985; Sven *et al.*, 1985; Heron *et al.*, 1988; Harrison *et al.*, 1989; Kent *et al.*, 1989; Rust *et al.*, 1989; Schaefer *et al.*, 1989; Wohlt, 1989; Honing, 1990; Sanderson, 1993; Wardynski, 1993), en virtud de que las cosechas, generalmente, contienen un bajo número de ellas (Beck, 1978), que utilizan carbohidratos para transformarlos en ácido láctico.

La especie bacteriana que más se utiliza para la inoculación de forrajes a ensilar es *Lactobacillus plantarum* sola o mezclada con organismos presentes en la flora intestinal, por ejemplo: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* y *Streptococcus faecalis* (Sven *et al.*, 1985).

Aunque se han realizado numerosos estudios para determinar el tipo de aditivo más adecuado o los inoculantes específicos para cada cosecha ensilada, las interacciones entre el tipo de forraje, el inoculante bacteriano y la melaza usada, no se han establecido, por lo que la presente investigación se encaminó a cumplir con el siguiente objetivo:

## II. OBJETIVO

Evaluar el efecto de la adición de melaza y un inoculante polivalente de bacterias lácticas en el proceso de ensilaje, y la digestibilidad *in situ* de maíz (*Zea mays* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) y avena (*Avena sativa* L.).

## III. HIPOTESIS

La adición de inoculante comercial polivalente de bacterias lácticas al maíz, y de melaza a los forrajes con baja relación carbohidratos a proteína (avena y alfalfa) favorecerá el proceso de ensilaje y digestibilidad *in situ* de la materia seca. La adición de ambos a alfalfa y avena tendrá un efecto sinérgico positivo sobre tales procesos.

## IV. REVISION DE LITERATURA

### 4.1 DEFINICION Y PROCESO DE ENSILAJE

El ensilado es el resultado de los cambios físicos y químicos que se realizan durante la fermentación anaeróbica de los forrajes hasta constituir un alimento con ciertas características propias (Frankel, 1984).

Bolsen (1978) y Church (1991) definen al ensilado como el producto de una fermentación anaeróbica controlada, de material con un alto contenido de humedad. Por su parte, Muslera y Ratera (1991), lo definen como el proceso de conservación en verde de la hierba o forraje con un determinado estado de humedad, y con pérdidas mínimas de valor nutritivo y materia seca.

Durante este proceso fermentativo, los carbohidratos son degradados, principalmente, a ácidos orgánicos (Cullison, 1983; McCullough, 1985; Jiménez, 1988 y Church, 1991). Un buen ensilado de orchard grass contiene 4.29% de ácido láctico, 1.74% de ácido acético, 0.65% de ácido propiónico y 0.21% de ácido butírico, los cuales provocan que el pH se reduzca a 4 ó menos (Church, 1991) con lo que el metabolismo de las células vegetales y de la mayoría de los microorganismos presentes, es inhibido parcial o totalmente, para reducir así las pérdidas de nutrimentos.

Inicialmente, cuando el forraje se coloca en el silo, los microorganismos dominantes son aerobios, éstos son reemplazados por anaerobios; particularmente por bacterias ácido lácticas durante un proceso rápido en condiciones normales, de tal forma que en 2 a 4 días existen algunos cientos de millones de bacterias lácticas por gramo de ensilado. Estas bacterias metabolizan carbohidratos solubles que producen diferentes ácidos. Si una cantidad adecuada de carbohidratos está presente, los ácidos producidos reducirán el pH a 4 ó menos, y ésta acidez inhibirá a otro tipo de fermentación. La concentración de ácido láctico, en ensilados bien conservados, alcanza niveles del 4 al 8% en la mayoría de los casos, con pequeñas cantidades de ácido acético y otros ácidos como el fórmico, propiónico y butírico; sólo una muy pequeña cantidad de ácido butírico está presente en silos bien conservados (Church, 1991).

#### **4.2 PERDIDAS DURANTE EL ENSILAJE**

Todo ensilaje provoca que los forrajes pierdan nutrimentos, y dichas pérdidas no deben de exceder de 10% en materia seca (García, 1979), 2% en proteína cruda (Wardynski *et al.*, 1993) y 75% de carbohidratos (Harrison *et al.*, 1989) para que se considere que el proceso fue bien realizado. La tasa de reducción del pH y, por lo tanto, la composición del producto terminado, dependerá de factores como el tipo de forraje (Cullison, 1983; Woolford, 1984; Muslera y Ratera, 1991), contenido de humedad (Bolsen, 1978; Muslera y Ratera, 1991), condiciones ambientales generadas en el silo

(Woolford, 1984), tipo de bacterias presentes (Bolsen, 1978), tiempo empleado desde el corte hasta el compactamiento y tapado del silo (Jiménez, 1988), y de la relación CHOS:PROT (Duthil, 1980) entre otros.

Una vez que inicia el proceso de ensilaje, si éste se desvía hacia fermentaciones indeseables no puede ser corregido; la manera de controlarlo, y hasta cierto punto predecir su resultado, es el empleo de aditivos previo o durante el compactamiento (Bolsen, 1978; Woolford, 1984; Church, 1991; Muslera y Ratera, 1991).

A continuación se describirá el efecto del tipo de forraje (algunas gramíneas y leguminosas de zonas templadas y tropicales) y el uso de aditivos azucarados y microbianos en el ensilaje.

## **4.3 EFECTO DEL TIPO DE FORRAJE Y EL USO DE ADITIVOS EN EL ENSILAJE**

### **4.3.1 GRAMINEAS**

Son las plantas más importantes que el hombre conoce en relación a la agricultura, debido a que esta familia incluye no sólo a las especies silvestres y cultivadas, sino también a los cereales, entre los que se encuentran el Maíz, Sorgo, Trigo, Avena, Cebada, etc. (Church, 1991).

**CEREALES.** El forraje verde de maíz, sorgo, avena y cebada contienen  $3.1 \pm 1.2\%$  de proteína cruda (PC). Respecto al extracto libre de nitrógeno (ELN), el maíz contiene 34.2% en tanto que sorgo, avena y cebada tienen  $12.16 \pm 1.5\%$ . Por otro lado la fibra cruda (FC), en el maíz es de 16.7%, mientras que para el sorgo, la avena y la cebada es de  $6.7 \pm 0.98\%$ . El contenido de grasa cruda (GC) y cenizas en los cuatro forrajes es de  $0.825 \pm 0.4\%$ , y  $1.53 \pm 1.01\%$  respectivamente (Anexo 1; Flores, 1986).

**Efecto del uso de aditivos.** Por lo general, cuando se ha adicionado melaza previamente al ensilaje de estos forrajes no se ha hallado ningún cambio significativo (Muslera y Ratera, 1991), por lo que en el trabajo de Heron *et al.*, (1988) no hubo diferencia significativa ( $P > .05$ ) en el valor de pH medido a los 76 días entre el tratamiento con melaza (3.76) y el testigo (3.75), seguramente porque dichos forrajes son abundantes en carbohidratos fácilmente fermentables por los microorganismos en la producción de ácido láctico (Hardy, Domínguez y Gutierrez, 1986). En relación a los inoculantes bacterianos, los resultados de algunos experimentos han mostrado efectos positivos (Pahlow, 1984; Wohlt, 1989), negativos (Moon *et al.*, 1980; Rust *et al.*, 1989), o ninguno (Schaefer *et al.*, 1989) sobre la estabilidad aeróbica del ensilado de maíz. Sin embargo, los inoculantes bacterianos pueden afectar, la concentración de fibra y su digestibilidad (Harrison *et al.*, 1989; Schaefer *et al.*, 1989).

Sanderson (1993), al trabajar con ensilados de sorgo y maíz inoculados microbianamente, encontró que el pH se redujo significativamente ( $P < .05$ ) en los ensilados de maíz inoculado respecto a su testigo (3.6 y 3.66 respectivamente) y en sorgo inoculado con respecto a su testigo (3.57 y 3.70 respectivamente), lo que indica que la adición de bacterias fue activa. Por otro lado, la concentración y digestibilidad de la FDN en el maíz no se afectó; en tanto que, la digestibilidad *in vitro* de la FDA aumentó. En el ensilado de sorgo las concentraciones de FDN, FDA y la digestibilidad *in vitro* de la FDN se incrementaron solamente en función del tiempo de ensilaje.

El inoculante no afecta la concentración y digestibilidad de la fibra de los ensilados de sorgo y maíz expuestos al aire. Es posible que la inoculación en ensilajes de gramínea-leguminosa con bacterias ácido-lácticas incrementen la digestibilidad *in vitro* de la materia seca en 8 y 14%, y de la FDA en un 16 y 27% con respecto al testigo después de 57 días de ensilaje (Harrison *et al.*, 1989).

En el trabajo de Wardynski *et al.*, (1993) el inoculante adicionado al maíz con alto contenido de humedad pareció tener un efecto deletéreo sobre la estabilidad aeróbica y la recuperación de la materia seca (MS); además, alteró la tasa de fermentación sin afectar la extensión de la misma. El valor nutritivo se determinó por la ganancia diaria de peso (GDP) y la eficiencia de conversión alimenticia (ECA) que fueron similares para el tratamiento con inoculante y el testigo.

Por otro lado, la preservación de forraje mediante la fermentación anaeróbica de carbohidratos solubles en agua (CSA) para producir ácidos orgánicos, es poco efectiva si el sustrato fermentable no está disponible (Seale, 1987). Por tal motivo la adición de mezclas de enzimas, pueden degradar parcialmente los carbohidratos estructurales al aportar sustrato adicional fermentable, pero la eficiencia depende de la población bacteriana epifítica (Setala, 1989). La adición de celulasa o celulasa-hemicelulasa a pastos para ensilar, no mejora consistentemente la producción de leche (Kennedy, 1987), pero mejora la fermentación de ensilados de timothy (*Phleum pratense* L.) (No et al., 1985) y reduce los carbohidratos estructurales del pasto ensilado.

Stokes (1992) al estudiar una mezcla de forraje gramíneas-leguminosas en la cual se incluyeron Timothy (*Phleum pratense* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.), trébol ladino (*Trifolium repens* L.), y trébol rojo Arlington (*Trifolium pratense* L.), en una proporción de aproximadamente 50:50 y con diferentes tratamientos: testigo, enzimas, inoculante y una mezcla enzimas-inoculante, concluye que la calidad de la fermentación, el valor nutricional y la producción de leche se incrementan con la adición de celulasas. Aunque la inoculación con bacterias lácticas mejoró la eficiencia de fermentación del ensilado, no favoreció su valor nutricional, consumo, o producción de leche. En combinación, los suplementos no son sinérgicos sino antagonicos en su acción.

La degradación de los carbohidratos estructurales es inhibida cuando se adiciona inoculante con celulasa y el pH no reduce lo suficiente ( $P > .05$ ). Si las cepas bacterianas usadas son incapaces de fermentar los azúcares liberados por la celulasa, entonces los productos finales de la reacción enzimática, deben inhibir por realimentación la actividad enzimática. La reducción de la FDN del ensilado en el tratamiento con enzimas permite incrementar el uso de forraje y disminuir costos para mantener el nivel de FDN recomendado en la dieta (NRC, 1981).

**PASTOS DE ZONAS TEMPLADAS.** De acuerdo con Flores (1986) el forraje verde de los pastos ryegrass (*Lolium perenne*), orchard (*Dactylis glomerata*), kentucky (*Poa pratensis*) y thimoty (*Phleum pratense*) contienen  $3.08 \pm 0.73\%$  de PC,  $12.95 \pm 5.12\%$  de ELN,  $11.53 \pm 3.27\%$  de FC,  $1.05 \pm 0.25\%$  de GC y  $2.43 \pm 0.57\%$  de cenizas respectivamente (Anexo 2).

**Efecto del uso de aditivos.** La inoculación con lactobácilos homofermentativos del ryegrass tratado con irradiación gamma para separar los efectos de la planta y enzimas microbianas sobre los componentes nitrogenados, demostró que las enzimas de la planta fueron las principales responsables de la proteólisis, mientras que el metabolismo de los aminoácidos fue el resultado de la actividad microbiana. Además, la inoculación redujo la proteólisis, debido a una rápida acidificación. *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus faecalis*, mostraron ser especies no proteolíticas con una limitada capacidad para catabolizar aminoácidos (Heron *et al.*, 1986).

En otro trabajo realizado por Heron *et al.* (1988), se ensiló ryegrass con un contenido de 153 g de materia seca (MS) kg<sup>-1</sup>; 180 g de carbohidratos solubles en agua (CSA) kg<sup>-1</sup> de MS, y después se inoculó con un producto comercial que contenía *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici* para aportar 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup> y 10<sup>8</sup> organismos g<sup>-1</sup>. Los efectos del picado fino y la adición de glucosa (20 g kg<sup>-1</sup>) también fueron investigados. La inoculación con bacterias ácido lácticas homofermentativas a un nivel de 10<sup>6</sup> organismos g<sup>-1</sup> de forraje fue la más eficiente para estimular la fermentación, una rápida acidificación y la producción de ensilados con altos y bajos contenidos de lactato y acetato respectivamente que los ensilajes sin tratar; hubo reducción de proteólisis y desaminación. La adición de glucosa no tuvo efectos benéficos en este experimento.

**PASTOS DE ZONAS TROPICALES.** De acuerdo al análisis de Flores (1986), el forraje verde de los pastos guinea (*Panicum maximum*), buffel (*Cenchrus ciliaris*), jaragua (*Hyparrhenia rufa*) y bermuda (*Cynodon dactylon*) contienen 2.5±0.35% de PC, 11.12±3.55% de ELN, 6.42±3.96% de FC, 0.60±0.35% de GC y 2.61±0.65% de cenizas (Anexo 3).

**Efecto del Uso de Aditivos.** El ensilado de pastos tropicales y subtropicales se caracteriza por concentraciones altas de ácido acético, lo cual sugiere una deficiencia de bacterias ácido lácticas (Catchpoole y Williams, 1969). Además, algunos de estos ensilados tienen altas concentraciones de ácido láctico durante las etapas iniciales, que

En otro trabajo realizado por Heron *et al.* (1988), se ensiló ryegrass con un contenido de 153 g de materia seca (MS) kg<sup>-1</sup>; 180 g de carbohidratos solubles en agua (CSA) kg<sup>-1</sup> de MS, y después se inoculó con un producto comercial que contenía *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici* para aportar 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup> y 10<sup>8</sup> organismos g<sup>-1</sup>. Los efectos del picado fino y la adición de glucosa (20 g kg<sup>-1</sup>) también fueron investigados. La inoculación con bacterias ácido lácticas homofermentativas a un nivel de 10<sup>6</sup> organismos g<sup>-1</sup> de forraje fue la más eficiente para estimular la fermentación, una rápida acidificación y la producción de ensilados con altos y bajos contenidos de lactato y acetato respectivamente que los ensilajes sin tratar; hubo reducción de proteolisis y desaminación. La adición de glucosa no tuvo efectos benéficos en este experimento.

**PASTOS DE ZONAS TROPICALES.** De acuerdo al análisis de Flores (1986), el forraje verde de los pastos guinea (*Panicum maximum*), buffel (*Cenchrus ciliaris*), jaragua (*Hyparrhenia rufa*) y bermuda (*Cynodon dactylon*) contienen 2.5±0.35% de PC, 11.12±3.55% de ELN, 6.42±3.96% de FC, 0.60±0.35% de GC y 2.61±0.65% de cenizas (Anexo 3).

**Efecto del Uso de Aditivos.** El ensilado de pastos tropicales y subtropicales se caracteriza por concentraciones altas de ácido acético, lo cual sugiere una deficiencia de bacterias ácido lácticas (Catchpole y Williams, 1969). Además, algunos de estos ensilados tienen altas concentraciones de ácido láctico durante las etapas iniciales, que

por ser inestables se obtiene un ensilado de baja calidad. Uno de los problemas asociados con el ensilaje de Bermuda Grass (*Cynodon dactylon*), es la baja concentración de carbohidratos fermentables disponibles (Kunkle *et al.*, 1988). La adición de melaza para incrementar los carbohidratos fermentables en el forraje ensilado ha sido benéfica bajo ciertas condiciones (Becker *et al.*, 1970). La inoculación de forraje antes de ensilar ha sido eficaz si la flora normal aparentemente es insuficiente para causar una rápida disminución del pH y preservación del ensilado (Bolsen 1978; Ely *et al.*, 1981). La reducción de humedad en el forraje antes de ensilar ha incrementado la cantidad de ácido láctico en relación a los productos totales de la fermentación (Mc Donald, 1981).

La fermentación de bermuda grass de corte directo y premarchitado y adicionado de melaza, inoculante y melaza-inoculante, se mejoró en el forraje premarchitado con un mayor contenido de ácido láctico y una mayor digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) (Umaña *et al.*, 1991). En esta investigación la adición de melaza es la principal causa de mejora de la calidad de los ensilados de bermuda grass de corte directo. Además, causó la mayor concentración de ácido láctico, menor pH y mayor DIVMO ( $P = .001$ ). De acuerdo con Becker *et al.*, (1970) aunque no se ha probado estadísticamente, la adición tanto de melaza como de inoculante al ensilaje de forraje de corte directo no parece mejorar la fermentación tanto como la melaza sola.

La calidad de los ensilados de forraje premarchitado que reciben melaza o inoculante es similar y parece ser superior a los ensilados sin tratar (bajo pH y alta concentración de ácido láctico). Sin embargo, la adición de melaza al forraje premarchitado resulta en una menor digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente ácida y mayores conteos de mohos y levaduras que la adición de inoculante.

La combinación melaza-inoculante tiene un efecto aditivo sobre la melaza o inoculante solos cuando se mezclan en los forrajes premarchitados. Este efecto aditivo se demuestra por un menor pH, una baja concentración de ácido acético, y una mayor concentración de ácido láctico, un rápido incremento en el contenido de ácido láctico, y una mayor DIVMO, con respecto al testigo (Umaña *et al.*, 1991).

De acuerdo con lo encontrado en este trabajo, un alto contenido de MS reduce la actividad de las bacterias en el ensilado y reduce la función que los ácidos juegan en una preservación exitosa, lo cual está de acuerdo con las investigaciones de Woolford (1984). Como resultado de la baja actividad microbiana en los ensilados de bermuda grass premarchitado, los productos de la fermentación (ácido láctico y ácidos grasos volátiles) se reducen, el pH es mayor, y la concentración de CSA se incrementa (Mc Donald, 1981).

Catchpole y Williams (1969) encontraron que el ensilaje de varios pastos subtropicales se estabiliza después de que el ácido acético, más que el láctico, dominan la fermentación.

Los ensilajes de corte directo tienen altas concentraciones de ácido acético, pero no son estables, y son clasificados como ensilados en los cuáles la actividad clostridial puede ocurrir. El efecto de este tipo de fermentación puede traducirse en un bajo consumo de MS y una menor producción animal, debido a que Wilkins *et al.*, (1971) encontraron que las concentraciones de acetato se correlacionan negativamente con el consumo de alimento. Bates *et al.*, (1989) encontraron que con un contenido de MS de 35 a 50%, se incrementa el consumo voluntario de MS del ensilado de bermuda grass y se logran mayores tasas de ganancia en las vaquillas que lo consumen con respecto a las que consumen ensilados hechos con un 25 a 30% de MS.

La fermentación de un forraje premarchitado esta dominada por la producción de ácido láctico más que por el ácido acético. El ácido láctico es preferido sobre los otros ácidos de la fermentación por su menor constante de disociación ( $pK_a = 3.86$ ); por lo tanto, es el principal ácido orgánico responsable de la disminución del pH en el ensilaje.

La fermentación y la calidad del ensilado de forrajes como el kinggrass (*Pennisetum purpureum* X *Pennisetum typhoides*) se favorece cuando contiene 39.8 o 30.1% de MS que con un 19.3%. Además, el contenido de ácido butírico (% de MS) del ensilado de kinggrass disminuye de 1.3 a .21 y .04%, al igual que el contenido de amoníaco (% del N total), de 18.6 a 13.4 y 9.1%, cuando el contenido de MS del kinggrass antes de ensilar aumenta de 19.3 a 30.1 y 39.8%, respectivamente.

#### **4.3.2 LEGUMINOSAS DE ZONA TEMPLADA**

Las leguminosas se caracterizan por su elevado contenido de humedad y proteínas y por su bajo contenido de hidratos de carbono, por esta razón, se puede presentar una fermentación pútrido-amoniaca en lugar de la fermentación láctica deseada. Para evitar el primer tipo de fermentación se puede proceder al premarchitamiento o mezclarla con gramíneas. También es útil la adición de melaza o los ácidos minerales (Frankel, 1984).

De acuerdo con el análisis bromatológico de Flores (1986) cuando el forraje se encuentra verde, la alfalfa (*Medicago sativa*), el trébol rojo (*Trifolium pratense*), la soya (*Glycine max*) y el kudzú (*Pueraria thumbergiana*); contienen  $3.63 \pm 1.7\%$  de PC,  $7.65 \pm 1.95\%$  de ELN,  $4.78 \pm 1.58\%$  de FC,  $0.63 \pm 0.29\%$  de GC y  $1.83 \pm 0.78\%$  de cenizas (Anexo 4).

**Efecto del Uso de Aditivos.** La adición de microorganismos homofermentativos ha mejorado el proceso de fermentación de estos forrajes, al inhibir el crecimiento de microorganismos indeseables debido a una rápida reducción en el pH (Lindgren *et al.*, 1985; Rooke *et al.*, 1985). Kung *et al.*, (1984) mostraron que la producción de ácido láctico se incrementó cuando se añadieron inoculantes microbianos a los forrajes.

Los resultados de estudios de la producción animal donde se usaron forrajes ensilados con inoculantes microbianos no han sido consistentes. Grieve *et al.*, (1982) y Thomas *et al.*, (1983) reportaron un incremento en la producción de leche cuando las vacas lactantes fueron alimentadas con ensilado de alfalfa-gramínea inoculado. Kung *et al.*, (1987) encontraron que al alimentar ganado bovino con ensilado inoculado microbianamente, se aumenta la producción de leche. Sin embargo, Ahrens *et al.*, (1981) reportaron diferencias no significativas en el consumo medio de MS, producción de leche, proteína o grasa cuando se alimenta con prehenificado (haylage) inoculado.

Kent *et al.*, (1988) reportan que la alfalfa premarchitada a un 45% de MS, tratada con inoculante bacteriano que contenía *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici* registraron un pH menor en el tratamiento con respecto al testigo. Por otra parte, la PC no fue afectada durante el proceso; mientras que la FDA tendió a disminuir ( $P < .01$ ) en el tratamiento. Tendencias similares han sido observadas por Ahrens *et al.* (1981). Con respecto a la digestibilidad *in vitro* de la MS (IVDMD), ésta tendió a ser mayor en el tratamiento.

Kent *et al.*, (1989) al trabajar con alfalfa a un 65% de humedad y un inoculante bacteriano, encontraron que el menor pH se registró en el tratamiento con respecto al testigo, mientras que los CSA, la PC y la FDA no fueron afectadas por el tratamiento.

Jones *et al.*, (1988) reportaron que en los ensilajes de alfalfa a tres niveles de MS (30, 40 y 50%), sometidos a cuatro tratamientos: testigo, azúcar, inoculante y la mezcla de éstos dos, el último tratamiento registró un mayor efecto sobre el pH y el ácido acético, en los cuales se manifestó un menor valor con respecto a los demás tratamientos y contenidos de MS, mientras que la concentración de ácido láctico fue mayor para los tratamientos azúcar e inoculante-azúcar en el nivel de 30% de MS, por otro lado, en el nivel de 50% de MS la concentración más alta se logró en los tratamientos inoculante e inoculante-azúcar.

En otra investigación realizada por Nocek *et al.*, (1988), en la cual emplearon alfalfa húmeda (36% de MS) y seca (68% de MS), y la sometieron a cuatro tratamientos: testigo, inoculante 1, inoculante 2 y enzimas, encontraron que el uso de aditivos no tuvo efecto sobre la extensión y tasa de digestibilidad *in situ* de la MS, proteína cruda y FDN a pesar de las diferencias en el contenido de MS del ensilado.

Woodford y Satter (1987), demostraron que al agregar mezclas enzimáticas con celulasa a ensilados de alfalfa no se mejora la fermentación del ensilado o producción animal, pero mezclas enzimáticas de diferentes fuentes comerciales incrementan el consumo y la digestibilidad de la materia seca en ovinos, la estabilidad aeróbica del ensilado y el desarrollo de las vaquillas (Bolsen *et al.*, 1980).

## V. MATERIAL Y METODO

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Nutrición Animal y en la Granja Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada a 19° 29' de latitud norte y 98° 53' de longitud oeste a una altura de 2250 msnm, el clima de esta región se clasifica según García (1981) como C(wo)(w)b(i')g, cuya descripción es: clima templado subhúmedo con época de secas en invierno, verano fresco y largo, temperatura media anual entre 12°C y 18°C, con oscilaciones medias mensuales de 5°C y una precipitación media anual de 750 mm.

### 5.1 FORRAJES

Los forrajes usados en el experimento fueron:

Maíz (*Zea mays* L., variedad V-107) sembrado el 19 de mayo de 1993 a una densidad de 130,000 plantas/ha. El cultivo fue fertilizado con la fórmula 140-70-00 (kg/ha de NPK), y recibió dos riegos (del 24 al 27 de mayo y del 3 al 7 de junio). El forraje se cosechó el día 5 de octubre del mismo año, cuando el grano se encontraba en estado lechoso-masoso (22.16% de materia seca), con una picadora mecánica New Holland 710 (20 mm de longitud teórica de corte).

Alfalfa (*Medicago sativa* L., variedad Valenciana) en el segundo año de cosecha con 10 a 25% de floración (22.868% de materia seca), el 9 de Noviembre de 1993. Para su cosecha se utilizó el mismo equipo que para el maíz.

Avena (*Avena sativa* L., variedad Opalo). Se cortó el 28 de Enero de 1994 con un 50-60% de espigamiento (38.752% de materia seca), se utilizó el mismo equipo empleado para el maíz.

## 5.2 ADITIVOS UTILIZADOS

Los aditivos empleados en este experimento fueron: Melaza de caña e Inoculante bacteriano (SIL-ALL, de Alltech, Inc.). La melaza contenía 44.75% (p/p) de carbohidratos solubles en agua, 75% de materia seca y una densidad de 1.39 g/ml.

De acuerdo con Necoechea y Márquez (1987) y con las indicaciones de la etiqueta, el inoculante SIL-ALL está compuesto a base de bacterias lácticas: *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* y *Streptococcus faecium* ( $10^{12}$  UFC/g); enzimas: celulasa, amilasa y proteasa; dextrosa, silicato de calcio,  $\beta$ -glucano (agente encapsulador), *Aspergillus niger* seco y *Bacillus subtilis* seco. La dosis recomendada es de 5-10 g/ton de forraje.

### **5.3 ELABORACION DE MICROSILOS**

Se hicieron dos tipos de silos. Uno de ellos en bolsas de plástico para vivero con una capacidad de 3 kg en donde se depositó el material a ensilar. Conforme se llenó la bolsa, se fue compactando manualmente el forraje. Antes de sellar las bolsas se tomó una muestra de cada una de ellas, y se depositó en una bolsa de papel de estraza perforada para secarla y efectuar los análisis químicos correspondientes. Posteriormente se cerraron las bolsas con cinta adhesiva para evitar la entrada de aire. Estas bolsas permanecieron cerradas durante 30 días y después se abrieron para determinar los análisis químicos y la digestibilidad *in situ*. Se elaboraron 5 microsilos (repeticiones) por tratamiento.

En el otro tipo de silo se usaron bolsas de plástico de 10 X 20 cm, las cuales se destinaron para medir el pH a los tiempos 0, 1, 2, 3, 7, 15 y 30 días de ensilaje. Las mediciones se hicieron por duplicado. Todos los microsilos se prepararon en el lugar de la cosecha del forraje a la sombra, y posteriormente fueron trasladados al laboratorio.

### **5.4 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

El arreglo de tratamientos consistió en Maíz , Maíz con inoculante (MCIN), Alfalfa (ALFA), Alfalfa con inoculante (ACIN), Alfalfa con melaza (ACME), Alfalfa con melaza e inoculante (AMIN), Avena (AVEN), Avena con inoculante (AVCI), Avena con melaza (AVME), y Avena con melaza e inoculante (AVIM) (Cuadro 1).

**CUADRO 1. Arreglo de tratamientos**

TRATAMIENTO	FORRAJE	ADITIVO	
		INOCULANTE	MELAZA
MAIZ	MAIZ	SIN	SIN
MCIN	MAIZ	CON	SIN
ALFA	ALFALFA	SIN	SIN
ACIN	ALFALFA	CON	SIN
ACME	ALFALFA	SIN	CON
AMIN	ALFALFA	CON	CON
AVEN	AVENA	SIN	SIN
AVCI	AVENA	CON	SIN
AVME	AVENA	SIN	CON
AVIM	AVENA	CON	CON

Para todas las variables a evaluar, se usó un diseño completamente al azar con 5 repeticiones.

## **5.5 IMPLEMENTACION DE TRATAMIENTOS**

Previo a la cosecha de cada forraje se realizó un muestreo para determinar su contenido de materia seca (MS), carbohidratos solubles en agua (CSA) y proteína cruda (PC), para conocer con exactitud la cantidad necesaria de melaza que se debía adicionar a la alfalfa y avena para ajustar su relación CHOS:PROT a la del maíz.

En los tratamientos con inoculante, éste se disolvió en agua y luego se asperjó a los forrajes en una proporción de 10 g/ton de forraje, mientras que a los tratados con melaza, ésta se adicionó disuelta en agua en cantidad suficiente para obtener una relación CHOS:PROT de 2.3, semejante a la del maíz empleado en este experimento. En la mezcla de ambos aditivos estos se adicionaron en la manera descrita para cada uno de ellos, y en todos los casos los aditivos se incorporaron al forraje manualmente hasta obtener una mezcla homogénea.

## **5.6 ANALISIS QUIMICOS**

Los análisis que se practicaron a todos y cada uno de los diferentes tratamientos, tanto al inicio como al final del proceso de ensilaje, fueron: MS, pH, PC, CSA, fibra detergente neutro (FDN) y digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la MS.

### **5.6.1 Materia Seca no Volátil**

La materia seca de las muestras tomadas antes y después del ensilaje se determinó mediante el secado de una porción previamente pesada de la muestra a 55°C durante 48 h y por diferencia de peso se obtuvo el valor de ésta.

### **5.6.2 pH**

Para realizar la determinación de pH se fraccionó la muestra en trozos con un tamaño aproximado de 1 cm, después se mezcló con agua destilada en una proporción 1:2. Se agitó manualmente durante 10 minutos, y al extracto acuoso se le determinó el pH con un potenciómetro, Corning Model 5; Medfield, MA.

Estas mediciones se hicieron para cada uno de los tratamientos a los siguientes tiempos: 0, 1, 2, 3, 7, 15, y 30 días de ensilaje.

Al finalizar el proceso de ensilaje de los forrajes depositados en las bolsas grandes, estas se abrieron y de aquí se tomó una porción para determinarles el pH y realizar los análisis químicos a cada uno de los tratamientos.

### **5.6.3 Proteína Cruda**

El análisis de proteína también se determinó para cada uno de los tratamientos de acuerdo al método Kjeldhal descrito por Sosa (1979).

### **5.6.4 Extracción y determinación de carbohidratos solubles por fenol-sulfúrico**

Se realizó de acuerdo al método de Dubois *et al.*, (1956), se pesaron de 40 a 50 mg de muestra molida y pasada por malla 40, la cual se depositó en un mortero y se le adicionaron gotas de etanol al 80% y 1 ml de agua destilada. Esta mezcla se maceró y posteriormente se pasó a un tubo de centrifuga. Se adicionaron 5 ml de etanol al 80% caliente, se lavó previamente el mortero, se agitó vigorosamente 5 minutos y se centrifugó. El sobrenadante se depositó en un matraz aforado de 25 ml. Se repitieron 2 veces más las extracciones, los sobrenadantes se incorporaron a un matraz aforado de 25 ml, se aforó con etanol al 80% a 25 ml y se guardó el extracto para hacer posteriormente la prueba de Fenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

En un tubo de ensaye se colocó una alícuota del extracto y se adicionó en el siguiente orden: 1 ml de agua destilada, 1 ml de fenol al 5% y 1 ml de  $H_2SO_4$  concentrado, se agitó 20 segundos, se enfrió a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 490 nm.

La curva tipo se construyó con D-glucosa a las siguientes concentraciones: 0, 10, 20, 40, 80 y 100 mg de glucosa.

#### **5.6.5 Determinación de fibra detergente neutro (FDN) o paredes celulares**

Se utilizó el método de Goering y Van Soest (1970), se pesaron por diferencia alrededor de 0.3 g de muestra, se anotó el peso exacto y se depositó en un tubo de ensayo de aproximadamente 2.5 x 30 cm, se adicionaron 30 ml de solución detergente neutro (en el caso del maíz se adicionó 1 ml de amilasa debido a su elevado porcentaje de almidón). Los tubos se taparon con una canica y se colocaron en la parrilla. Cuando la solución comenzó a hervir, se tomó el tiempo y se redujo la temperatura para que la ebullición fuera suave. Se mantuvo en ebullición por 60 minutos (el detergente produce una gran cantidad de espuma por lo que debe vigilarse).

En el caso del maíz se realizó una prueba con Yodo para conocer el contenido de almidón, después de estos 60 minutos. Una coloración azul indica presencia de almidón, en este caso pueden agregarse 2 a 3 ml de una solución de amilasa termoestable, y digerir durante otros 30 minutos hasta que la prueba dé negativo.

Por otro lado se pesó un papel filtro Whatman No. 541 (Whatman, Maidstone, UK) previamente seco en la estufa a 100°C durante 24 horas y enfriado en un desecador. Posteriormente se colocó el papel en un embudo y se trasladó el contenido del tubo de ensaye previamente digerido, se enjuagó con agua caliente (90 a 100°C); se realizaron los lavados necesarios hasta que salió la menor cantidad posible de espuma, o bien, hasta que se eliminó el color. Posteriormente se colocó ese mismo embudo en la boca de un matraz kitazato adaptado a la bomba de vacío, y se procedió a filtrar (también se puede pasar el papel filtro con la muestra a un embudo buchner y entonces proceder a filtrar). Se realizó un lavado más con agua caliente y finalmente se lavó con acetona para arrastrar la muestra hacia el centro del papel filtro, se apagó el vacío y se dobló el papel; se secó a aproximadamente 100°C, durante 24 horas. Se enfrió en un desecador y se pesó.

#### CALCULOS PARA FDN:

% de paredes celulares = (g de paredes celulares/g de muestra) X 100

% de contenido celular = (100 - % de paredes celulares).

#### **5.6.6 Digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la materia seca**

Se realizó de acuerdo con el método descrito por Abarca (1989), en este caso se utilizaron bolsas de poliéster (poliseda) de 10 X 20 cm selladas con silicón y cosidas con hilo nylon, en las que se colocaron 5 g de muestra sin ensilar y ensilada. Las bolsas se amarraron con ligas y se repartieron 8 en cada uno de los 10 costales de tul de 15 X 30 cm. Con hilo nylon se amarraron 5 costales a cada una de las dos cadenas

metálicas de 50 cm de largo. Las bolsas así preparadas se enjuagaron antes de introducirlas en las dos vacas fistuladas ruminalmente (peso vivo promedio de 450 kg), en cada vaca se colocó una cadena que contenía las bolsas y se dejaron incubar durante 72 h. Después de la incubación, se enjuagaron a chorro de agua hasta que ésta salió clara, posteriormente se secaron a 55°C durante 24 h. Se pesaron y por diferencia de peso se obtuvo la digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la materia seca.

### 5.7 ANALISIS ESTADISTICO

Para las variables MS, CSA, PC, pH y relación carbohidratos a proteína, se utilizó un modelo estadístico que de acuerdo con Steel y Torrie (1988) fue el siguiente:

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

donde:

$Y_{ij}$  = una observación de la respuesta

$\mu$  = media muestral

$\tau_i$  = i-ésimo tratamiento ( $i = 1,2,3,\dots,10$ )

$\epsilon_{ij}$  = error aleatorio de la ij-ésima observación

Para el caso de FDN, digestibilidad *in situ* de la MS y un análisis complementario de la materia seca (SUMA), como suma porcentual de sus principales componentes (CSA, PC y FDN), se usó un arreglo de parcelas divididas, en donde la parcela grande correspondió al tiempo (inicio y final) de ensilaje, y las parcelas chicas correspondieron a los tratamientos. El modelo estadístico de acuerdo con Steel y Torrie (1988) fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \gamma_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

donde:

$Y_{ijk}$  = una observación de la respuesta

$\mu$  = media muestral

$\rho_i$  = i-ésima parcela grande (PARGDE)  $i = 1,2$

$\gamma_{ij}$  = respuesta anidada en PARGDE ó error de PARGDE

$\beta_k$  = k-ésimo tratamiento o parcela chica (PARCH)

$k = 1,2,\dots,10$

$(\alpha\beta)_{jk}$  = interacción entre PARCH y PARGDE

$\epsilon_{ijk}$  = error aleatorio

En el análisis estadístico se realizó la comparación de medias por la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), usando el programa GLM de SAS (1988).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

### 6.1 MATERIA SECA

Por lo regular durante el ensilaje, el material ensilado pierde hasta el 10% de MS (García, 1979), no obstante, en nuestro caso los ensilados de maíz y alfalfa incrementaron su MS en 25 y 37% respectivamente, mientras que los de avena perdieron el 23% (Figura 1).

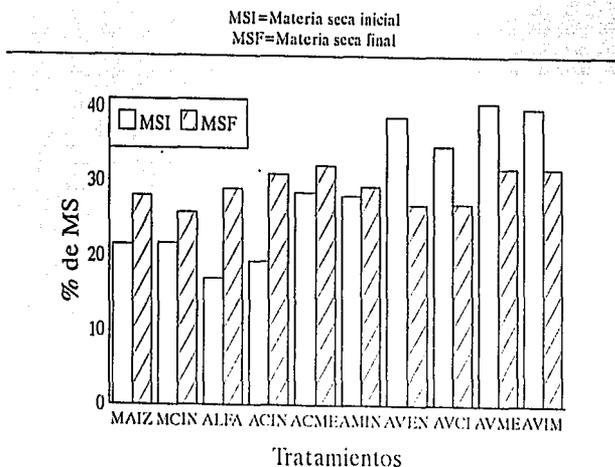


Figura 1. Contenido (%) de Materia Seca en los diferentes tratamientos antes y después del ensilaje.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.  
ACME=alfalfa con melaza;  
AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
AVME=avena con melaza;  
AVIM=avena con melaza e inoculante

Es posible que el aumento de MS, sea sólo consecuencia de que haya habido escurrimiento excesivo de líquidos, de tal forma que al tomar la muestra para su análisis, ésta contenía menos humedad que la inicial.

En el caso de la avena, la disminución de MS al finalizar el ensilaje, puede explicarse en virtud de que éste forraje contenía menos del 65% de humedad al inicio del ensilaje, lo que seguramente evitó el escurrimiento, ya que según Muslera y Ratera (1991) cuando un forraje tiene más del 25% de MS, las pérdidas por escurrimiento dejan de producirse. La avena contenía al inicio del ensilaje de 34.81 a 40.608% de MS (Anexo 5). Tal pérdida de MS, es normal puesto que durante el ensilaje se metabolizan nutrimentos durante la respiración celular de la planta y la fermentación por microorganismos. Además, la hidrólisis protéica produce la liberación del contenido celular (plasmólisis) debido a que la membrana celular está constituida principalmente de proteínas (Smetham, 1990).

El análisis complementario de la MS (SUMA), tanto al inicio como al final del proceso (Anexos 5 y 6), permitió establecer que el contenido de sus tres principales constituyentes (CSA, PC y FDN), disminuyó en todos los ensilados al finalizar el proceso (Figura 2).

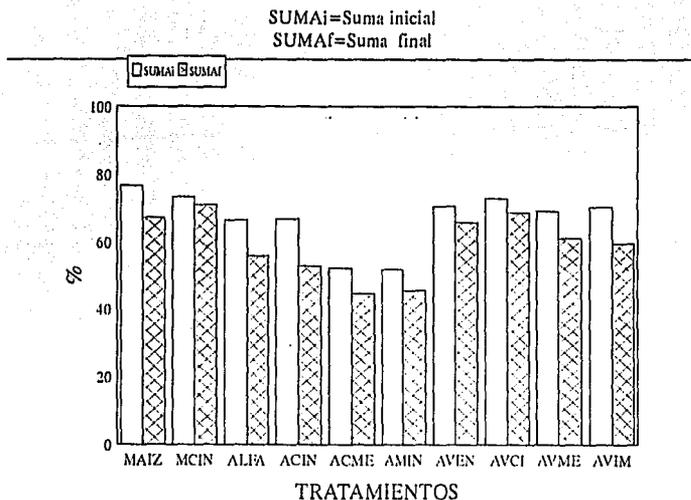


Figura 2. SUMA (MS referida a la suma porcentual de sus tres principales componentes -CSA, PC y FDN-) al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
 ALFA=alfalfa; ACIN= alfalfa con inoc.  
 ACME=alfalfa con melaza;  
 AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
 AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
 AVME=avena con melaza;  
 AVIM=avena con melaza e inoculante

La MS de los principales constituyentes de los forrajes maíz y avena no difirió ( $P > .05$ ), no obstante en alfalfa se distinguen dos grupos que son diferentes ( $P < .01$ ), uno correspondiente a los tratamientos que no llevaron melaza y otro a los que sí la incluyeron, éste último tuvo más humedad, lo que se explica por la cantidad de melaza y agua que fue necesario adicionar para alcanzar un nivel de carbohidratos que permitiera igualar la relación carbohidratos a proteína del maíz (Cuadro 2).

**CUADRO 2.** Materia Seca con base a la SUMA porcentual de sus principales constituyentes (CSA, PC y FDN) al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	SUMA (%)	
	INICIO	FINAL
MAIZ	76.667 <sup>A</sup>	67.222 <sup>C</sup>
MCIN	73.397 <sup>BA</sup>	71.037 <sup>BC</sup>
ALFA	66.479 <sup>BC</sup>	55.912 <sup>FE</sup>
ACIN	66.807 <sup>C</sup>	52.934 <sup>F</sup>
ACME	52.264 <sup>F</sup>	44.660 <sup>G</sup>
AMIN	51.895 <sup>F</sup>	45.581 <sup>G</sup>
AVEN	70.620 <sup>BC</sup>	65.838 <sup>BC</sup>
AVCI	73.006 <sup>BA</sup>	68.687 <sup>BC</sup>
AVME	69.158 <sup>BC</sup>	61.147 <sup>DE</sup>
AVIM	70.349 <sup>BC</sup>	59.509 <sup>E</sup>
PROM	67.064 <sup>A</sup>	59.253 <sup>B</sup>

MAIZ=Maíz; MCIN=Maíz con inoculante; ALFA=Alfalfa; ACIN=Alfalfa con inoculante; ACME=Alfalfa con melaza; MIN=Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN=Avena; AVCI=Avena con inoculante; AVME=Avena con melaza; AVIM=Avena con melaza e inoculante; PROM=Promedio.

NOTA: Medias con literales (A, B, C, D, E, F, G) diferentes entre columnas e hileras son estadísticamente significativas ( $P < .01$ ).

Al analizar los tratamientos MCIN, AVEN y AVCI (Cuadro 2), se observa que no existió diferencia ( $P > .05$ ) en el contenido de MS al inicio y final del ensilaje, por lo tanto, se puede considerar que no hubo pérdidas de MS. En el resto de los tratamientos sí hubo pérdidas de MS, y éstas fueron mayores en los ensilados ALFA y ACIN (12.22%).

El hecho de que los tratamientos de alfalfa y alfalfa con inoculante hayan tenido un menor contenido de MS al finalizar el ensilaje coincide con lo reportado por Church (1991), quién atribuye tales pérdidas a la descomposición que sufre el ensilado de alfalfa principalmente por su bajo nivel de carbohidratos (Anexo 5) y su mayor capacidad buffer. Los tratamientos MAIZ, ACME, AMIN, AVME y AVIM tuvieron un nivel de pérdidas entre 7 y 9.4%, que pudieron deberse a causas como respiración, fermentación y líquidos efluentes (Anexo 7), clasificadas como inevitables (Zimmer, 1981, citado por Muslera y Ratera, 1991).

## **6.2 CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN AGUA**

Al inicio del ensilaje, los forrajes a los cuales se les adicionó melaza mostraron un mayor nivel ( $P < .01$ ) de CSA, este efecto fue claro sobre todo en alfalfa, ya que de un contenido inicial de 2.06% alcanzó 11.522% en ACME y 12.726% en AMIN (Anexo 5); incluso en la avena que contenía un nivel alto de CSA (16.93%), se alcanzaron valores entre 20.41 y 22.744% en AVME y AVIM respectivamente.

El inoculante aumentó ligeramente el contenido de CSA en la avena inoculada con respecto a su testigo, lo cual pudo deberse a la dextrosa que contiene el inoculante. Una vez finalizado el ensilaje, como era de esperarse, en todos los forrajes se evidenció una disminución de los CSA en relación a su valor inicial (Figura 3). Tal decremento osciló entre 72.15 y 87.13%, mientras que el promedio general fue de 78.09% (Anexo 8), el cual es semejante al reportado por Harrison *et al.*, (1989), quienes tuvieron un 75% de pérdidas de CSA.

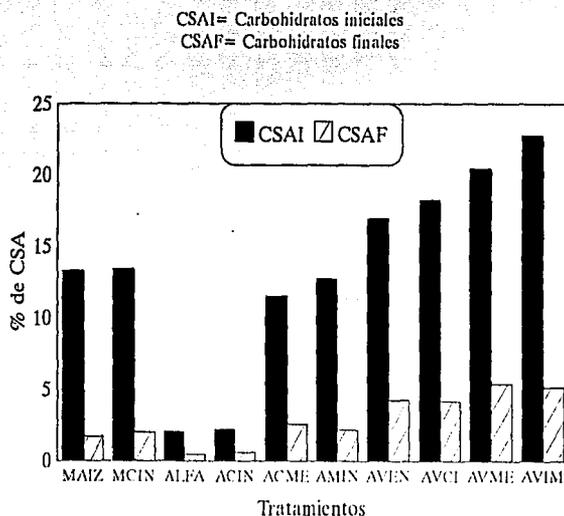


Figura 3. Contenido de carbohidratos al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.  
ACME=alfalfa con melaza;  
AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
AVME=avena con melaza;  
AVIM=avena con melaza e inoculante

Los CSA de acuerdo con McCullough (1985), Jiménez (1988) y Church (1991) se degradan a ácidos orgánicos, principalmente láctico o butírico, según sea el tipo de fermentación que predomine. Aunque no se determinó en este estudio, por el olor característico del ensilado, se puede asegurar que se llevó a cabo una fermentación láctica en todos los tratamientos, a excepción de ALFA y ACIN, en los que de acuerdo con su olor característico (pútrido amoniacal) se pudo llevar a cabo una fermentación butírica en lugar de una láctica (McCullough, 1985).

### **6.3 PROTEINA CRUDA**

La alfalfa contenía los valores más altos de PC inicial (Anexo 5), en especial los correspondientes a los tratamientos de alfalfa sola (ALFA) y alfalfa con inoculante (ACIN). Los tratamientos que incluyeron melaza (ACME y AMIN) tuvieron una cantidad menor ( $P < .01$ ) de PC inicial lo cual se explica por dilución al adicionar melaza. En el caso de la avena esto no ocurrió y por ello, no son diferentes ( $P > .05$ ), debido a la menor cantidad de melaza que se le adicionó puesto que este forraje mostró niveles altos de CSA.

El contenido de PC fue mayor después de ensilar, a excepción de ALFA y ACIN (Figura 4); este incremento se debió a la concentración de la PC como consecuencia de la disminución de los CSA en todos los forrajes. El inoculante mostró un efecto conservador de la PC en el maíz, pues el tratamiento MCIN tuvo un 30.22% más de PC, mientras que el maíz solo un 6.79% (Anexo 8).

PCI=Proteína inicial, PCF=Proteína final

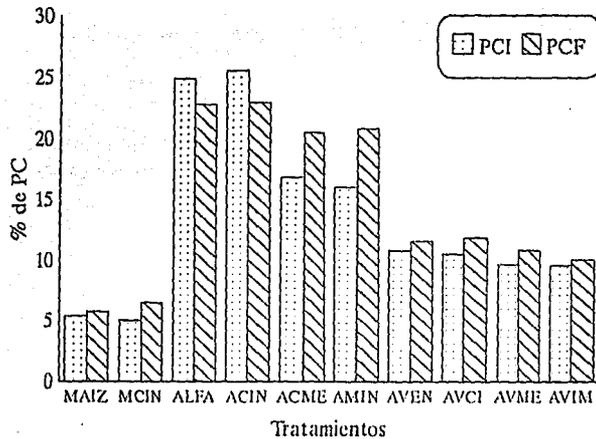


Figura 4. Contenido de proteína antes y después del ensilaje en los diferentes tratamientos.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.  
ACME=alfalfa con melaza;  
AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
AVME=avena con melaza;  
AVIM=avena con melaza inoculante

Este efecto conservador, también se manifestó en los ensilados de alfalfa con melaza (ACME y AMIN) pues, mientras que la alfalfa sin aditivos tuvo un -8.25% de PC (el signo negativo indica una pérdida en el parámetro medido), ACME y AMIN tuvieron 23.28 y 30.17% más de dicha variable respectivamente. En avena no hubo efecto significativo ( $P > .05$ ) de ninguno de los dos aditivos con respecto al mismo forraje sin aditivos.

El menor contenido de PC al finalizar el ensilaje, en los tratamientos ALFA y ACIN aunque fue alto (8.25 y 10.05% respectivamente) comparado con el 2% reportado por Wardynski *et al.*, (1993), era de esperarse, ya que en el ensilaje de leguminosas, de acuerdo con Frankel (1984), ocurre una degradación de la proteína debido al elevado contenido de humedad y la baja cantidad de hidratos de carbono. En nuestro estudio al abrir el silo se detectó un olor putrefacto desagradable y una consistencia pegajosa.

#### **6.4 RELACION CARBOHIDRATOS A PROTEINA**

La relación carbohidratos:proteína obtenida al inicio del ensilaje (Anexo 5) fue en promedio, de 2.6325 para el maíz (solo e inoculado) en estado lechoso-masoso, valor mayor al ideal de 1.5 a 1.7 (Duthil, 1980). El promedio de esta relación para la avena sola e inoculada, fue de 1.657, cifra dentro del intervalo ya mencionado, mientras que para los tratamientos que incluyeron melaza el valor promedio de la relación fue de 2.302 para AVME y AVIM el cual no es diferente ( $P > .05$ ) al de maíz.

En el caso de los tratamientos de alfalfa sin melaza (ALFA y ACIN) la relación carbohidratos:proteína fue 0.085, en promedio, menor a la reportada por Duthil (1980) para alfalfa (0.2) y trébol (0.3). Aunque la adición de melaza tuvo efecto ( $P < .01$ ) sobre el aumento de la relación carbohidratos a proteína para alcanzar un valor promedio de 0.7525 en ACME y AMIN, dicho valor estuvo muy alejado del obtenido para maíz y avena (Figura 5). La causa a la que se atribuye la falla en alcanzar una relación

semejante a la del maíz, fue que el lote muestreado no correspondió con el lote del cual se tomó el forraje para ensilar.

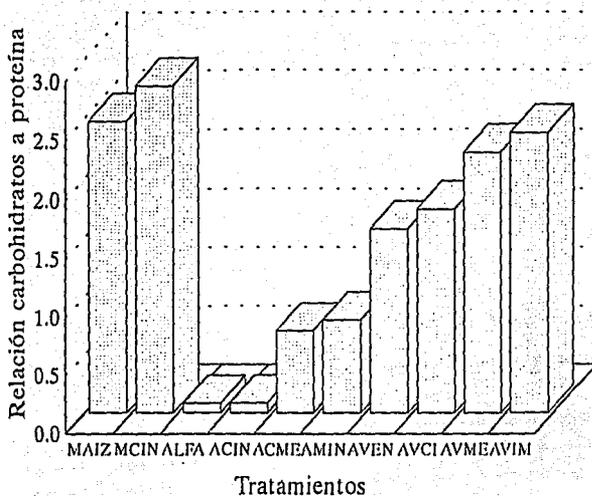


Figura 5. Relación carbohidratos a proteína en los diferentes tratamientos al inicio del ensilaje

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
 ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.;  
 ACME=alfalfa con melaza;  
 AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
 AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
 AVME=avena con melaza;  
 AVIM=avena con melaza e inoculante

## 6.5 pH

El pH a los 30 días (Figura 6) en los ensilados de MAIZ, MCIN, ACME, AMIN, AVME y AVIM, no difirió ( $P > .05$ ), con un valor promedio de 4.15 (Anexo 6). De acuerdo con Duthil (1980), se puede considerar que dichos valores indican un buen

proceso de ensilaje. Los tratamientos AVEN y AVCI presentan un valor promedio (4.89) mayor a los anteriores ( $P < .01$ ) no obstante, puede considerarse que tuvieron un buen proceso, pues Duthil (1980) menciona que pueden existir excelentes ensilados cuyo pH sea superior a 4.2, incluso superior a 5, mientras la proporción de MS sea elevada al inicio del ensilaje, y en este caso, la avena fue la que presentó tal característica (Anexo 5). Los tratamientos de alfalfa sin melaza ALFA y ACIN presentaron el pH más alto de todos los tratamientos, de 6.4 y 5.6 respectivamente, lo cual podría indicar mala calidad del ensilado propiciada por el bajo contenido de CSA y alto contenido de humedad y capacidad buffer en leguminosas.

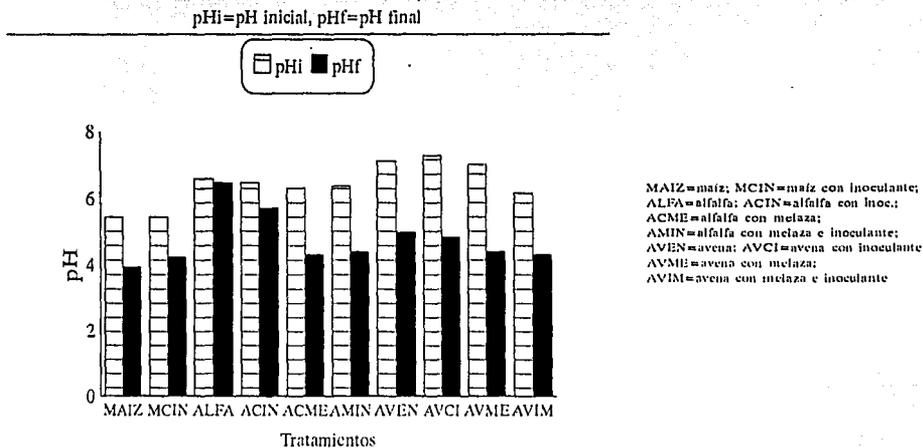


Figura 6. pH al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

En el pH medido a los diferentes tiempos de ensilaje (0,1,2,3,7,15 y 30 días), el inoculante bacteriano no redujo ( $P>.05$ ) el pH en maíz (Figura 7 y Cuadro 3). Este efecto es contrario a los resultados obtenidos por Jones *et al.*, (1988), Stokes *et al.*, (1992) y Sanderson (1993), quiénes reportan una disminución del pH en los forrajes en que han trabajado (maíz, sorgo, alfalfa); sin embargo, Heron *et al.*, (1986) y Li *et al.*, (1992), señalan que el inoculante no manifestó efecto alguno en la reducción del pH.

**CUADRO 3. pH a diferentes tiempos en los ensilados de maíz, alfalfa y avena.**

TRAT	DIAS DE ENSILAJE						
	0	1	2	3	7	15	30
MAIZ	5.430 <sup>D</sup>	4.830 <sup>E</sup>	4.365 <sup>E</sup>	4.200 <sup>E</sup>	4.110 <sup>D</sup>	4.205 <sup>B</sup>	3.555 <sup>C</sup>
MCIN	5.430 <sup>D</sup>	4.700 <sup>E</sup>	4.290 <sup>E</sup>	4.095 <sup>E</sup>	4.125 <sup>D</sup>	4.260 <sup>B</sup>	4.185 <sup>BC</sup>
ALFA	6.585 <sup>DC</sup>	5.700 <sup>C</sup>	5.605 <sup>C</sup>	5.710 <sup>B</sup>	5.475 <sup>A</sup>	5.760 <sup>A</sup>	5.415 <sup>A</sup>
ACIN	6.465 <sup>C</sup>	5.750 <sup>C</sup>	5.710 <sup>C</sup>	5.680 <sup>B</sup>	5.500 <sup>A</sup>	5.885 <sup>A</sup>	5.510 <sup>A</sup>
ACME	6.310 <sup>C</sup>	5.290 <sup>D</sup>	5.000 <sup>D</sup>	4.890 <sup>C</sup>	4.505 <sup>C</sup>	4.600 <sup>B</sup>	4.300 <sup>BC</sup>
AMIN	6.365 <sup>C</sup>	5.250 <sup>D</sup>	5.000 <sup>D</sup>	4.900 <sup>C</sup>	4.500 <sup>C</sup>	4.575 <sup>B</sup>	4.445 <sup>BC</sup>
AVEN	7.115 <sup>A</sup>	6.575 <sup>A</sup>	6.515 <sup>A</sup>	6.390 <sup>A</sup>	5.550 <sup>A</sup>	ND	4.900 <sup>BA</sup>
AVCI	7.275 <sup>A</sup>	6.550 <sup>A</sup>	6.390 <sup>BA</sup>	5.815 <sup>B</sup>	5.545 <sup>A</sup>	ND	5.050 <sup>BA</sup>
AVME	7.015 <sup>BA</sup>	6.225 <sup>B</sup>	6.255 <sup>B</sup>	5.600 <sup>B</sup>	5.165 <sup>B</sup>	ND	4.450 <sup>BC</sup>
AVIM	6.150 <sup>C</sup>	6.175 <sup>B</sup>	6.215 <sup>B</sup>	4.565 <sup>D</sup>	4.630 <sup>C</sup>	ND	4.140 <sup>BC</sup>
PROM	6.4140	5.7045	5.5345	5.1845	4.9105	4.8808	4.595

MAIZ=Maíz; MCIN=Maíz con inoculante; ALFA=Alfalfa; ACIN=Alfalfa con inoculante; ACME=Alfalfa con melaza; AMIN=Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN=Avena; AVCI=Avena con inoculante; AVME=Avena con melaza; AVIM=Avena con melaza e inoculante; TRAT=Tratamiento; PROM=Promedio, ND= No determinado.

NOTA: Medias con literales (A, B, C, D, E) diferentes entre columnas son estadísticamente significativas ( $P<.01$ ).

MAIZ=Maíz. MCIN=Maíz con inoculante

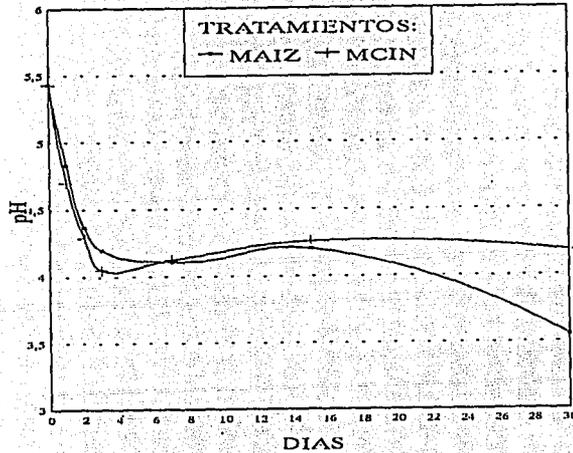


Figura 7. pH a diferentes tiempos en los ensilados de maíz.

La melaza redujo más el pH de la alfalfa con respecto al mismo forraje sin aditivo, desde el inicio y en el transcurso del tiempo (Figura 8, Cuadro 3), mientras que el inoculante, solo o mezclado con melaza no tuvo ningún efecto en la reducción del pH del ensilado, resultado que coincide con lo mencionado por Becker *et al.*, (1970) en cuanto a que la adición de melaza e inoculante al ensilaje de leguminosas, no parece mejorar la fermentación tanto como la melaza sola.

MAIZ=Mafz, MCIN=Mafz con inoculante

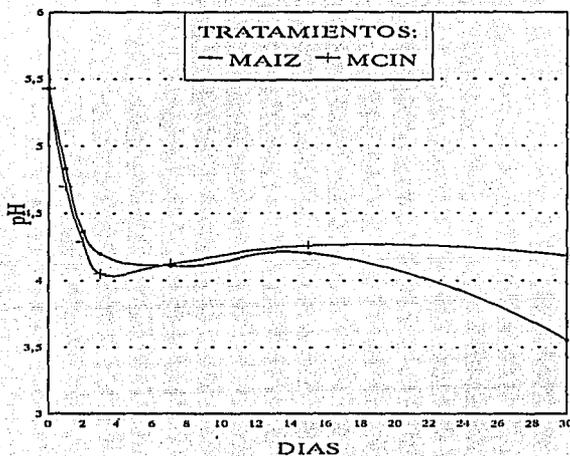


Figura 7. pH a diferentes tiempos en los ensilados de maíz.

La melaza redujo más el pH de la alfalfa con respecto al mismo forraje sin aditivo, desde el inicio y en el transcurso del tiempo (Figura 8, Cuadro 3), mientras que el inoculante, solo o mezclado con melaza no tuvo ningún efecto en la reducción del pH del ensilado, resultado que coincide con lo mencionado por Becker *et al.*, (1970) en cuanto a que la adición de melaza e inoculante al ensilaje de leguminosas, no parece mejorar la fermentación tanto como la melaza sola.

ALFA=Alfalfa, ACIN=Alfalfa con inoculante  
ACME=Alfalfa con melaza, AMIN=Alfalfa con melaza e inoculante

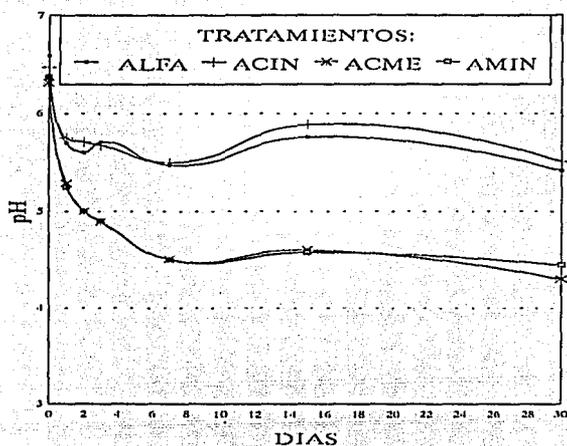


Figura 8. pH a diferentes tiempos en los ensilados de alfalfa.

En el ensilaje de avena (Figura 9) el inoculante no tuvo efecto en cuanto a la reducción del pH, pero sí lo tuvo la adición de melaza, la cual provocó un menor pH con respecto a la avena sin aditivos ( $P < .01$ ), durante los primeros 15 días. A los 30 días se pierde esta diferencia ( $P > .05$ ). La adición de ambos aditivos al ensilado de avena (AVIM), provocó un menor pH en los tiempos 0, 3 y 7 días (Cuadro 3), pues redujeron el pH significativamente con respecto al tratamiento con melaza (AVME).

AVEN=Avena, AVCI=Avena con inoculante  
AVME=Avena con melaza, AVIM=Avena con melaza e inoculante

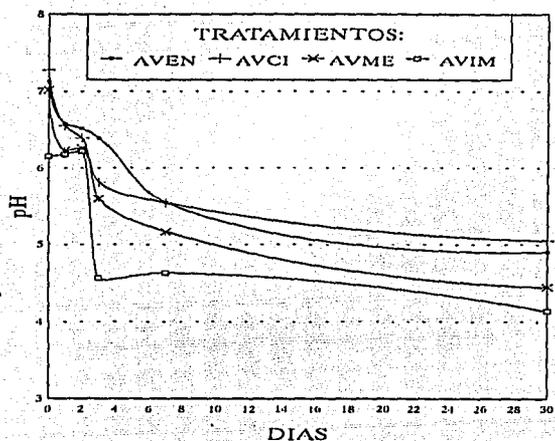


Figura 9. pH a diferentes tiempos en los ensilados de avena.

Los forrajes ensilados sin aditivos (testigos) mostraron un comportamiento acorde con lo esperado (Figura 10). Así, en el caso del maíz, el pH disminuye más rápidamente que en la avena, y alcanza los valores más bajos al día 30, mientras que en alfalfa el pH no se redujo lo suficiente. El inoculante no tuvo efecto ( $P > .05$ ) en la reducción del pH en los forrajes inoculados con respecto a sus testigos (Cuadro 3 y Figura 11). No obstante, la adición de melaza favoreció la reducción del pH, siendo mayor ésta en alfalfa que en

avena durante los primeros 15 días (Figura 12), posteriormente ya no existe diferencia ( $P > .05$ ). Cuando se utilizaron ambos aditivos (Figura 13), el pH fue similar entre alfalfa y avena ( $P > .05$ ).

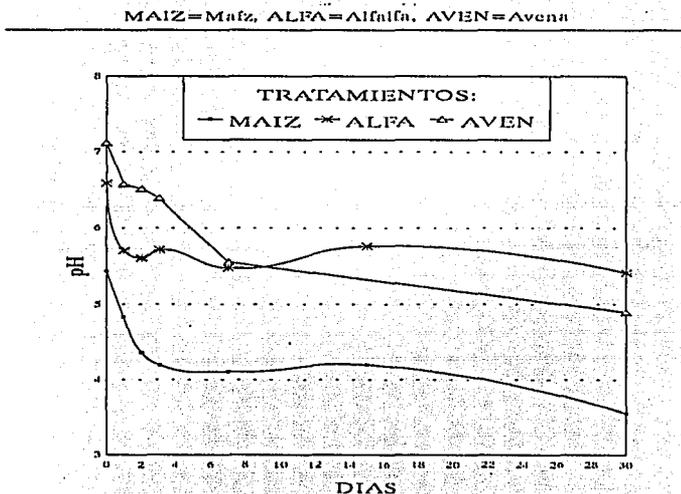


Figura 10. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados sin aditivos.

MCIN=Maíz con inoculante, ACIN=Alfalfa con inoculante, AVCI=Avena con inoculante

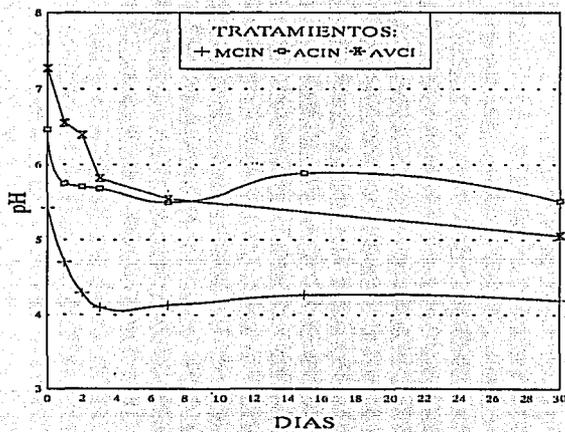


Figura 11. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con inoculante.

ACME=Ailalfa con melaza, AVME=Avena con melaza

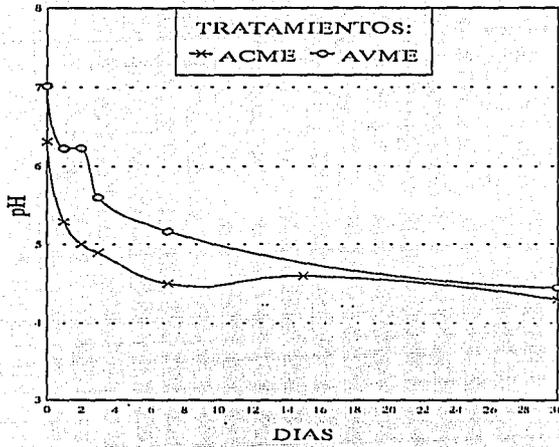


Figura 12. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con melaza.

AMIN=Alfalfa con melaza e inoculante  
AVIM=Avena con melaza e inoculante

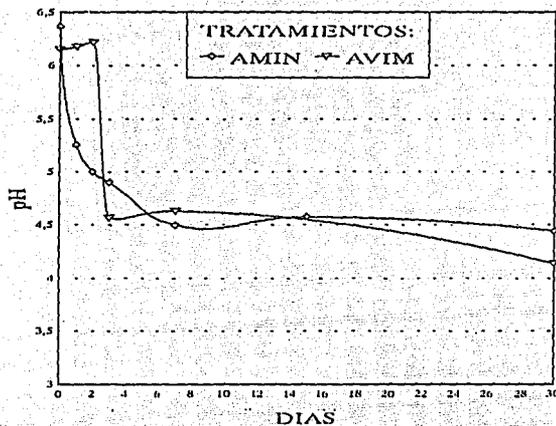


Figura 13. pH a diferentes tiempos en los forrajes ensilados con melaza e inoculante.

## 6.6 FIBRA DETERGENTE NEUTRO

El comportamiento promedio general de la FDN, muestra que al finalizar el ensilaje, el nivel de FDN fue mayor ( $P < .01$ ) con respecto al inicio (Cuadro 4), lo cual se manifestó en todos los ensilados de maíz y avena, pero no en los de alfalfa.

Los tratamientos de maíz registraron los valores más altos de FDN tanto al iniciar como al finalizar el proceso de ensilaje, con respecto a los demás ( $P < .01$ ). Los ensilados de alfalfa que recibieron melaza (ACME y AMIN), tuvieron la menor cantidad de fibra tanto al inicio como al final del ensilaje, no existe diferencia significativa ( $P > .05$ ) entre ellos (Cuadro 4). El bajo nivel de FDN en los ensilados de alfalfa con melaza se explica en función de una dilución de la FDN. El inoculante bacteriano no afectó el nivel de FDN, contrario a lo que reportaron Harrison *et al.*, (1989) y Schaefer *et al.*, (1989).

Una vez finalizado el proceso de ensilaje, a diferencia de los tratamientos ACME y AMIN, en ALFA y ACIN hubo pérdida de FDN (Cuadro 4) que puede explicarse como putrefacción del forraje, aunque podría interpretarse como un efecto favorable en el sentido de que al disminuir el contenido de fibra, la digestibilidad aumenta, pero existen factores de mayor importancia y que tienen por lo tanto mayor repercusión en la calidad del ensilado, tales como pH, ácidos láctico, butírico y acético relación N amoniacal/N total y la aceptación del producto por el animal, así como las determinaciones de proteína y cenizas (Duthil, 1980; Muslera y Ratera, 1991); además,

como ya se discutió anteriormente, en los tratamientos ALFA y ACIN, dadas las características de la alfalfa, no era posible esperar un producto de calidad.

**CUADRO 4. Contenido de FDN al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.**

TRATAMIENTO	FIBRA DETERGENTE NEUTRO	
	INICIAL	FINAL
MAIZ	57.998 <sup>BA</sup>	59.798 <sup>A</sup>
MCIN	54.714 <sup>BC</sup>	61.796 <sup>A</sup>
ALFA	39.546 <sup>F</sup>	33.246 <sup>D</sup>
ACIN	39.012 <sup>F</sup>	29.378 <sup>D</sup>
ACME	23.620 <sup>H</sup>	21.180 <sup>H</sup>
AMIN	23.152 <sup>H</sup>	22.576 <sup>H</sup>
AVEN	42.946 <sup>FE</sup>	50.018 <sup>D</sup>
AVCI	44.288 <sup>E</sup>	52.680 <sup>DC</sup>
AVME	39.116 <sup>F</sup>	44.942 <sup>E</sup>
AVIM	41.500 <sup>FE</sup>	44.346 <sup>E</sup>
PROM	40.589 <sup>H</sup>	41.996 <sup>A</sup>

NOTA: Las literales (A, B, C, D, E, F, G y H) diferentes entre columnas e hileras son estadísticamente significativas (P<.01).

MAIZ=Maíz; MCIN=Maíz con inoculante; ALFA=Alfalfa; ACIN=Alfalfa con inoculante; ACME=Alfalfa con melaza; AMIN=Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN=Avena; AVCI=Avena con inoculante; AVME=Avena con melaza; AVIM=Avena con melaza e inoculante; PROM=Promedio.

Con relación a los tratamientos de avena, éstos no fueron diferentes al inicio del ensilaje, pero al finalizar tal proceso, el nivel de FDN se vió incrementado de la misma forma en que ocurrió con el tratamiento MCIN (Figura 14), dicho aumento puede explicarse como una concentración de la fibra como consecuencia de la reducción del valor de las otras variables medidas, tales como carbohidratos y materia seca.

FDNi=Fibra Detergente Neutro inicial  
 FDNf=Fibra Detergente Neutro final

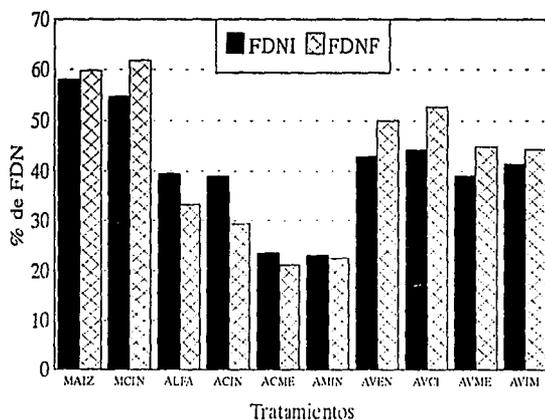


Figura 14. Contenido de FDN al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
 ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.;  
 ACME=alfalfa con melaza;  
 AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
 AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
 AVME=avena con melaza;  
 AVIM=avena con melaza e inoculante

## 6.7 DIGESTIBILIDAD PARCIAL RUMINAL *in situ* DE LA MATERIA SECA

El comportamiento promedio general de la digestibilidad *in situ* de la MS fue menor después del ensilaje que antes del mismo, lo cual era de esperarse dado el aumento de la FDN durante el ensilaje.

DIGi=Digestibilidad *in situ* inicial  
 DIGf=Digestibilidad *in situ* final

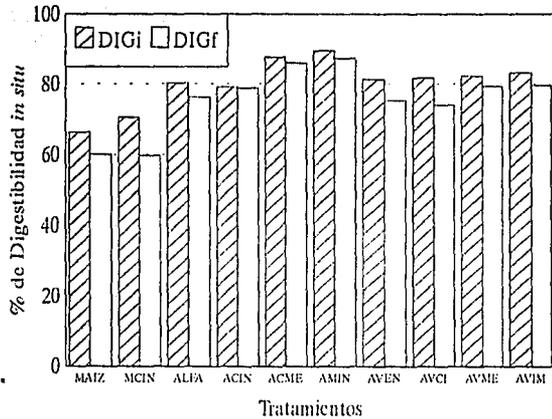


Figura 15. Digestibilidad *in situ* de la materia seca al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
 ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.;  
 ACME=alfalfa con melaza;  
 AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
 AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
 AVME=avena con melaza;  
 AVIM=avena con melaza e inoculante

Las digestibilidades más bajas ( $P < .01$ ) fueron en maíz, y las más altas ( $P < .01$ ) en ACME y AMIN (Figura 15), de manera que fueron diferentes (Cuadro 5) entre si, mientras que el resto no mostraron diferencias; esto ocurre al compararlos en la columna correspondiente al inicio del ensilaje, ya que al finalizar el proceso y compararlos en hileras, se observa un ligero decremento ( $P < .01$ ) en digestibilidad en los tratamientos de maíz y en los de avena que no recibieron melaza (AVEN y AVCI), ya que en el resto no

hay diferencia ( $P > .05$ ), lo cual concuerda con Muslera y Ratera (1991) en cuanto a que la disminución de la digestibilidad de la MS ocasionada por el ensilado en relación con la planta verde, aunque variable (de 0 a 8 puntos), es pequeña, y en general muy inferior a la producida por la henificación.

CUADRO 5. Digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la Materia Seca al inicio y final del ensilaje en los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	DIGESTIBILIDAD <i>in situ</i> DE LA MATERIA SECA	
	INICIAL	FINAL
MAIZ	66.222 <sup>J</sup>	59.990 <sup>K</sup>
MCIN	70.410 <sup>IJ</sup>	59.713 <sup>K</sup>
ALFA	80.190 <sup>EGDF</sup>	76.205 <sup>GIFH</sup>
ACIN	79.120 <sup>EGFH</sup>	78.793 <sup>EGFH</sup>
ACME	87.557 <sup>BA</sup>	85.897 <sup>BDAC</sup>
AMIN	89.390 <sup>A</sup>	87.208 <sup>IIAC</sup>
AVEN	81.270 <sup>EGDFC</sup>	75.200 <sup>GIIH</sup>
AVCI	81.630 <sup>EBDFC</sup>	73.970 <sup>IIH</sup>
AVME	82.190 <sup>EBDFC</sup>	79.293 <sup>EGFH</sup>
AVIM	83.660 <sup>EBDAC</sup>	79.595 <sup>EGFH</sup>
PROM	79.974 <sup>A</sup>	75.586 <sup>B</sup>

NOTA: Las literales (A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K) diferentes entre columnas e hileras son estadísticamente significativas ( $P < .01$ ).

MAIZ=Maíz; MCIN=Maíz con inoculante; ALFA=Alfalfa; ACIN=Alfalfa con inoculante; ACME=Alfalfa con melaza; AMIN=Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN=Avena; AVCI=Avena con inoculante; AVME=Avena con melaza; AVIM=Avena con melaza e inoculante; PROM=Promedio.

De manera general, en la Figura 16 se observa que los tratamientos que tuvieron los niveles más altos de fibra tanto al inicio como al final, registraron los valores más bajos de digestibilidad y viceversa.

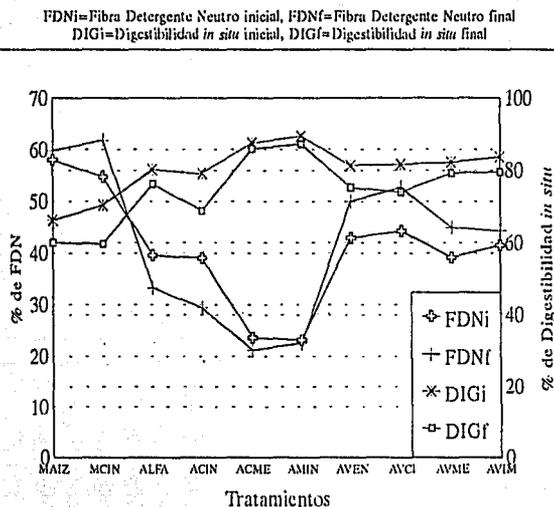


Figura 16. Comportamiento de la FDN y de la Digestibilidad *in situ* de la MS en los diferentes tratamientos.

MAIZ=maíz; MCIN=maíz con inoculante;  
ALFA=alfalfa; ACIN=alfalfa con inoc.;  
ACME=alfalfa con melaza;  
AMIN=alfalfa con melaza e inoculante;  
AVEN=avena; AVCI=avena con inoculante  
AVME=avena con melaza;  
AVIM=avena con melaza e inoculante

## VII. CONCLUSIONES

La adición de inoculante polivalente de bacterias lácticas favoreció la conservación de proteína en maíz, mientras que en alfalfa redujo el pH en relación a sus respectivos ensilados sin recibir ningún aditivo. Por otro lado, no tuvo efecto alguno sobre la fibra detergente neutro ni sobre la digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la materia seca.

La adición de melaza favoreció la conservación de proteína y la reducción del pH en alfalfa con respecto al mismo forraje sin recibir dicho aditivo y al tratamiento que incluyó inoculante; también redujo el contenido de fibra detergente neutro en alfalfa y avena, y la digestibilidad parcial ruminal *in situ* de la materia seca de estos ensilados aumentó.

La adición de melaza e inoculante bacteriano polivalente no tuvo efecto sinérgico en ninguno de los ensilados.

## VIII. RECOMENDACIONES

Se sugiere que para investigaciones posteriores similares a la presente, se realice la determinación de Acidos Grasos Volátiles, ya que éste es un parámetro cuantitativo muy importante de la calidad de un ensilado.

Paralelamente a la determinación de Acidos Grasos Volátiles es recomendable realizar un análisis microbiológico de los ensilados.

Tomando como base los resultados obtenidos en este trabajo, se podría conducir una posterior investigación en la que se prueben diferentes niveles de melaza para encontrar el mínimo óptimo que favorezca una adecuada conservación de forrajes con alto contenido de proteína (leguminosas).

## IX. BIBLIOGRAFIA

- ABARCA, B. L. A. 1989. Determinación de la digestibilidad *in vitro e in situ* y del rendimiento de materia seca de tres cultivares de *Lolium perenne* L. bajo tres presiones de pastoreo. Tesis de maestría en ciencias. C.P. Chapingo, México.
- AHRENS, K. R., J. W. Thomas, T. R. Johnson, and B. W. Jesse. 1981. Haylage with inoculant or ammonia as additives. *J. Anim. Sci.* 53 (Suppl. 1):270. (Abstr.).
- BATES, D. B., W. E. Kunkle; T. E. Dawson; A. Berthe; S. C. Denham; C. G. Chambliss; R. C. Cromwell, J. G. Wasdin and D. L. Wakeman. 1989. Roud bale silage-A forage harvesting alternative. In: Proc. 38th Beef Cattle Short Course. pp. 45-50. Univ. of Florida, Gainesville.
- BECK, T., 1978. The microbiology of silages fermentation. In: M. E. Mc Cullough (Ed.) Fermentation of silage-A review. pp. 63-115 National Feed Ingredients Association, West Des Moines, Iowa, USA.
- BECKER, R. B., J. M. Wing; P. T. D. Arnold; J. T. McCall and C. J. Wicox. 1970. Silage investigations in Florida Bulletin 734. Florida Agric. Exp. Sta., Gainesville.
- BOLSEN, K. K. 1978. The use of aids to fermentation in silage production. In: M. E. McCullough (Ed.) Fermentation of silage-A review. pp. 181-200. Natl. Feed Ingredients Assoc., West Des Moines, Iowa, USA.
- BOLSEN, K. K., H. J. Ilg and D. E. Axe. 1980. Additives for Alfalfa silage. *J. Anim. Sci.* 51 (Suppl.1): 230. (Abstr).
- CATCHPOOLE, V. R. and W. T. Williams. 1969. The general pattern in silage fermentation in two subtropical grasses. *J. Br. Grassl. Soc.* 24:317.
- CULLISON, A. E. 1983. Alimentos y alimentación de animales. Editorial Diana, México.
- CHURCH, D. C. 1991. Livestock Feeds and Feeding. 3th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

- DUBOIS, M., K. A. Gilles; J. K. Hamilton; P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350.
- DUTHIL, J. 1980. Producción de forrajes. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- ELY, L. O., E. M. Sudweeks and N. J. Moon. 1981. Inoculation with *Lactobacillus plantarum* of alfalfa, corn, sorghum, and wheat silages. J. Dairy Sci. 64:2378.
- FLORES, M. J. A. 1986. Bromatología animal. 3a. edición. Limusa, México.
- FRANKEL, M. A. 1984. Conservación de forrajes. Edit. Albatros. Buenos Aires, Argentina.
- GARCIA, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3a. Edición. UNAM. 252 pág.
- GARCIA, G. José. 1979. Ensilado de forrajes. Ministerio de Agricultura, Madrid, España.
- GOERING, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications) Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, D.C.
- GRIEVE, D. B., K. R. Ahrens; J. W. Thomas and J. T. Huber. 1982. Production of lactating cows and growing steers fed alfalfa haylage treated with ammonia or a microbial inoculant. J. Dairy Sci. 65 (Suppl. 1.):143. (Abstr.)
- HARDY, C., G. Domínguez y A. Gutierrez. 1986. Conservación de pastos y forrajes. En: I.C.A., 1986. Los pastos en Cuba Tomo I. Producción Editorial del Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- HARRISON, J. H., S. D. Soderlund and K. A. Loney. 1989. Effect of inoculation rate of selected strains of lactic acid bacteria on fermentation and *in vitro* digestibility of grass-legume forage. J. Dairy Sci. 72:2421-2426.
- HERON, S. J. E., R. A. Edwards and P. McDonald. 1986. Changes in the nitrogenous components of gamma irradiated and inoculated ensiled ryegrass. J. Sci. Food Agric. 37:979-985.

- HERON, S. J. E., R. A. Edwards and P. McDonald. 1988. The effects of inoculation, addition of glucose and mincing on fermentation and proteolysis in ryegrass ensiled in laboratory silos. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19: 85-96.
- HINDS, M. A., K. K. Bolsen; J. Brethour; G. Milliken and J. Hoover. 1985. Effect of molasses/urea and bacterial inoculant additives on silage quality, dry matter recovery, and feeding value for cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 12:205-214.
- HONING, H. 1990. The effect of prewilting conditions and weather. Small scale silage experiments. In: P. Lingvall and S. Lingren (Ed) *Proc. of the Eurobac Conf. 12-16 August, 1986. Swed. Univ. of Agric. Sci. Grass and Forage Report. No. 3-1990. p.p. 65-75. Uppsala, Sweden.*
- JIMENEZ, M. A. 1988. Conservación de forraje para la alimentación del ganado. Apoyo Académico. UACH.
- JONES, B. A., L. D. Satter and R. E. Muck. 1988. Influence of sugar and bacterial inoculum on pH decline in ensiled alfalfa at three dry matters. *J. Anim. Sci.* 66 (Suppl. 1):357-358 (Abstr.)
- KENNEDY, S. J. 1987. The effect of an enzyme additive on the preservation and nutritive value of grass fed to beef cattle. In: *Proc. 8th Silage Conf. Inst. Grassl. Anim. Prod., Hurley, Maidenhead, England.*
- KENT, B. A., M. J. Aramber and J. L. Walters. 1988. Effects of bacterial inoculant on alfalfa haylage: ensiling characteristics and milk production response when fed to dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 71: 2457-2461.
- KENT, B. A., M. J. Aramber; M. D. Winsryg and J. L. Walters. 1989. Microbial inoculation of alfalfa haylage: ensiling characteristics and milk production response when fed to early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72:2325-2330.
- KUNG, L. Jr., D. B. Grieve; J. W. Thomas and J. T. Huber. 1984. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa at various percents of dry matter. *J. Dairy Sci.* 67:299.
- KUNG, L. Jr., L. D. Satter; B. A. Jones; K. W. Genin; A. L. Sudoma; G. L. Enders Jr. and H. S. Kim. 1987. Microbial inoculation of low moisture alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 70:2069.

- KUNKLE, W. E., D. B. Bates; C. G. Chambliss and R. P. Cromwell. 1988. Alternative forage-bale silage. In: Proc. Dairy Herd Management Conference. pp. 31-41. Univ. of Georgia, Athens.
- LINDGREN, S., K. Petterson; A. Jonsson; P. Lingvall and A. Kaspersson. 1985. Silage inoculation. Swed. J. Agric. Res. 15:9.
- McCULLOUGH, M. 1985. Feeding quality silage. Nutritional Animal Health 39:30-35.
- McDONALD, P. 1981. The biochemistry of silage. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- MOON, N. J., L. O. Ely and E. M. Sudweeks. 1980. Aerobic Deterioration of wheat, corn, and maize silages prepared with *Lactobacillus acidophilus* and *Candida spp.* J. Appl. Bact. 49:75.
- MUSLERA, P. E. y G. C. Ratera. 1991. Praderas y Forrajes. 2a. edición, Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- National Research Council. 1981. Nutrient requirements of dairy cattle. 5th rev. Ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D. C.
- NECOECHEA, R. R. y M. L. Marquez. 1987. Manual de aditivos y suplementos para la alimentación animal. Manual agropecuario. 2a. edición, México.
- NO, E., Y. Harasawa; K. Ataku; N. Narasak and T. Sueyoshi. 1985. Effect of cellulase preparation on fermentation of silage. Page 937 in Proc. 15th Int. Grassl. Congr., Kyoto, Japan.
- NOCEK, J. E., S. G. Gucwa and J. B. Fallon. 1988. Effect of additives on alfalfa silage fermentation and ruminal digestion at two dry matter levels. J. Anim. Sci. 66(Suppl. 1):358 (Abstr.)
- PAHLOW, G. 1984. Oxigen dependent changes of the microflora in silages with addition of *Lactobacillus* inoculant (In German with English Summary). Landwirtsch. Forsch. 37:630.
- ROOKE, J. A., S. L. Bell and D. G. Armstrong. 1985. The chemical composition of grass silage prepared with or without pretreatment with inoculants containing *Lactobacillus plantarum*. Anim. Feed Sci. Technol. 13:269.

- RUST, S. T., H. S. Kim and G. L. Enders. 1989. Effects of a microbial inoculant on fermentation characteristics and nutritive value of corn silage. *J. Prod. Agric.* 2:235.
- SANDERSON, M. A. 1993. Aerobic stability and *in vitro* fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. *J. Anim. Sci.* 71:505-514.
- S.A.S. 1988. S.A.S. User's Guide: Statistics (version 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- SCHAEFER, D. M., P. G. Brotz; S. C. Arp and D. K. Cook. 1989. Inoculation of corn silage and high moisture corn with lactic acid bacteria and its effect on the subsequent fermentation and feedlot performance of beef steers. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 25:23.
- SEALE, D. R. 1987. Bacteria and enzymes as products to improve silage preservation. *Developements in Silage 1987*. Chalcombe Publ. Marlow. England.
- SETALA, J. 1989. Enzymes in grass silage production. *Food Biotechnology.* 2:211.
- SMETHAM, M. L. 1990. Pastures, their ecology and management. Edited by R. H. M. Langer. Auckland, Oxford University Press. New York.
- SOSA DE PRO, E. 1979. Manual de procedimientos analíticos para alimentos de consumo animal. UACH, Departamento de Zootecnia.
- STEEL, R. G. D. y J. H. Torrie. 1988. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2a. edición, McGraw-Hill, México.
- STOKES, M. R. 1992. Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.* 75:764-773.
- SVEN, L., P. Kjell; J. Anders; L. Per and K. Anders. 1985. Silage inoculation. Selected Strains, Temperature, Wilting and practical application. *Swedish J. Agric. Res.* 15:9-18.
- THOMAS, J. W., J. T. Huber; K. King; C. O. L. E. Jonhson; B. W. Jesse and D. B. Grieve, 1983. Silage characteristics and animal responses to silage treated with inoculants. *J. Dairy Sci.* 66(Suppl. 1):186 (Abstr.)

- UMAÑA, R., C. R. Staples; D. B. Bates; C. J. Wilcox and W. C. Mahanna. 1991. Effects of a microbial inoculant and (or) sugarcane molasses on the fermentation, aerobic stability, and digestibility of Bermudagrass ensiled at two moisture contents. *J. Anim. Sci.* 69:4588-4601.
- WARDYNSKI, F. A., S. R. Rust and M. T. Yokoyama. 1993. Effect of microbial inoculation of high moisture corn on fermentation characteristics, aerobic stability, and cattle performance. *J. Anim. Sci.* 71:2246-2252.
- WILKINS, R. J., K. J. Hutchinson; R. F. Wilson and C. E. Harris. 1971. The voluntary intake of silage by sheep. Interrelationships between silage composition and intake. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 77:531.
- WOHLT, J. E. 1989. Use of a silage inoculant to improve feeding stability and intake of a corn silage-grain diet. *J. Anim. Sci.* 72:545.
- WOODFORD, J. A. and L. D. Satter. 1987. Comparison of three silage additives on fermentation of alfalfa silage and its utilization by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70 (Suppl.1):173 (Abstr.)
- WOOLFORD, M. K. 1984. *The silage fermentation.* New York: Marcel Dekker Incorporated.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1. COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNOS CEREALES.

	MAIZ	SORGO	AVENA	CEBADA	X	D. E.
	<i>Zea mays</i>	<i>Sorghum vulgare</i>	<i>Avena sativa</i>	<i>Hordeum vulgare</i>		
PC	4.8	1.8	2.6	3.2	3.0	1.27
ELN	34.2	12.1	13.7	10.7	12.16	1.50
FC	16.7	7.0	7.5	5.6	6.70	0.98
GC	1.4	0.4	0.8	0.7	0.83	0.42
CEN	3.6	1.4	2.0	2.0	1.54	1.01

PC=Proteína Cruda; ELN=Extracto Libre de Nitrógeno; FC=Fibra Cruda GC=Grasa Cruda; CEN=Cenizas; D.E.=Desviación Estándar.

### ANEXO 2. COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNOS PASTOS DE ZONA TEMPLADA.

	RYEGRAS	ORCHARD	KENTUCKY	THIMOTY	X	D. E.
	<i>Lolium perenne</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Poa pratensis</i>	<i>Phleum pratense</i>		
PC	3.10	2.60	4.10	2.50	3.08	0.73
ELN	6.80	13.80	19.20	12.00	12.95	5.12
FC	13.40	10.70	14.70	7.30	11.53	3.27
GC	1.30	1.10	1.10	0.70	1.05	0.25
CEN	2.50	2.40	3.10	1.70	2.43	0.57

PC=Proteína Cruda; ELN=Extracto Libre de Nitrógeno; FC=Fibra Cruda GC=Grasa Cruda; CEN=Cenizas; D.E.=Desviación Estándar.

**ANEXO 3. COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNOS PASTOS DE ZONA TROPICAL.**

	GUINEA	BUFFEL	JARAGUA	BERMUDA	X	D. E.
	<i>Panicum maximum</i>	<i>Cenchrus ciliare</i>	<i>Hyparrhenia rufa</i>	<i>Cynodon dactylon</i>		
PC	2.60	2.80	2.00	2.60	2.50	0.35
ELN	12.86	10.40	6.50	14.70	11.15	3.55
FC	1.26	5.40	9.00	10.00	6.42	3.96
GC	0.29	1.10	0.50	0.50	0.60	0.35
CEN	3.43	2.80	2.00	2.20	2.61	0.65

PC=Proteína Cruda; ELN=Extracto Libre de Nitrógeno; FC=Fibra Cruda GC=Grasa Cruda; CEN=Cenizas; D.E.=Desviación Estándar.

**ANEXO 4. COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNAS LEGUMINOSAS DE ZONA TEMPLADA.**

	ALFALFA	TREBOL ROJO	SOYA	KUDZU	X	D. E.
	<i>Medicago sativa</i>	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Pueraria thumbergiana</i>		
PC	5.5	4.30	3.20	1.50	3.63	1.70
ELN	8.5	9.20	8.10	4.80	7.65	1.95
FC	6.0	2.60	5.90	4.60	4.78	1.58
GC	0.6	0.60	1.00	0.30	0.63	0.29
CEN	2.7	2.00	1.80	0.80	1.83	0.78

PC=Proteína Cruda; ELN=Extracto Libre de Nitrógeno; FC=Fibra Cruda GC=Grasa Cruda; CEN=Cenizas; D.E.=Desviación Estándar.

**ANEXO 5. Contenido inicial de Materia Seca (MS), Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Proteína Cruda (PC), MS en base a la suma porcentual de sus tres principales constituyentes (CSA, PC y FDN); relación carbohidratos a proteína (CHOS:PROT) y pH de los forrajes maíz, alfalfa y avena usados como ensilaje.**

TRAT	MS (%)	CSA (%)	PC (%)	SUMA* (%)	CHOS:PROTEINA	pH
MAIZ	21.570 <sup>D</sup>	13.296 <sup>DC</sup>	5.378 <sup>D</sup>	76.667 <sup>A</sup>	2.483 <sup>A</sup>	5.430 <sup>I</sup>
MCIN	21.796 <sup>D</sup>	13.426 <sup>DC</sup>	5.000 <sup>D</sup>	73.397 <sup>BA</sup>	2.782 <sup>A</sup>	5.543 <sup>I</sup>
ALFA	17.022 <sup>E</sup>	2.060 <sup>E</sup>	24.874 <sup>A</sup>	66.479 <sup>C</sup>	0.083 <sup>E</sup>	6.580 <sup>D</sup>
ACIN	19.342 <sup>BD</sup>	2.220 <sup>E</sup>	25.516 <sup>A</sup>	66.807 <sup>C</sup>	0.087 <sup>E</sup>	6.470 <sup>E</sup>
ACME	28.502 <sup>C</sup>	11.522 <sup>D</sup>	16.852 <sup>B</sup>	52.264 <sup>D</sup>	0.706 <sup>BD</sup>	6.310 <sup>D</sup>
AMIN	28.086 <sup>C</sup>	12.726 <sup>DC</sup>	16.020 <sup>B</sup>	51.895 <sup>D</sup>	0.799 <sup>D</sup>	6.370 <sup>F</sup>
AVEN	38.752 <sup>A</sup>	16.930 <sup>BD</sup>	10.768 <sup>C</sup>	70.620 <sup>HC</sup>	1.573 <sup>C</sup>	7.110 <sup>U</sup>
AVCI	34.810 <sup>B</sup>	18.234 <sup>BAC</sup>	10.482 <sup>C</sup>	73.006 <sup>HA</sup>	1.741 <sup>DC</sup>	7.270 <sup>A</sup>
AVME	40.608 <sup>A</sup>	20.410 <sup>BA</sup>	9.634 <sup>C</sup>	69.158 <sup>BC</sup>	2.220 <sup>BAC</sup>	7.010 <sup>C</sup>
AVIM	39.916 <sup>A</sup>	22.744 <sup>A</sup>	9.562 <sup>C</sup>	70.349 <sup>DC</sup>	2.384 <sup>BA</sup>	6.150 <sup>H</sup>
PROM	29.040	13.3658	13.7589	67.0642	1.4150	6.429

TRAT. = Tratamientos; MAIZ= Maíz; MCIN= Maíz con inoculante; ALFA= Alfalfa; ACIN= Alfalfa con inoculante; ACME= Alfalfa con melaza; AMIN= Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN= Avena; AVCI= Avena con inoculante; AVME = Avena con melaza; AVIM= Avena con inoculante y melaza; PROM= Promedio.

\*SUMA= La suma de los tres principales constituyentes de la MS (CSA, PC y FDN).

NOTA: Las literales (A,B,C,D,E,F,G,H,I) diferentes entre columnas son estadísticamente significativas (P<.01)

**ANEXO 6. Contenido final de Materia Seca (MS), Carbohidratos Solubles en Agua (CSA), Proteína Cruda (PC), MS en base a la suma porcentual de sus tres principales constituyentes (CSA, PC y FDN) y pH de los forrajes maíz, alfalfa y avena usados como ensilaje.**

TRATAMIENTOS	MS (%)	CSA (%)	PC (%)	SUMA* (%)	pH
MAIZ	28.068 <sup>BC</sup>	1.706 <sup>C</sup>	5.728 <sup>E</sup>	67.222 <sup>BA</sup>	3.932 <sup>E</sup>
MCIN	25.844 <sup>C</sup>	2.026 <sup>C</sup>	6.480 <sup>K</sup>	71.037 <sup>A</sup>	4.210 <sup>F</sup>
ALFA	28.966 <sup>BAC</sup>	0.462 <sup>D</sup>	22.806 <sup>A</sup>	55.912 <sup>FB</sup>	6.465 <sup>A</sup>
ACIN	30.922 <sup>BA</sup>	0.610 <sup>D</sup>	22.946 <sup>A</sup>	52.934 <sup>F</sup>	5.695 <sup>B</sup>
ACME	32.114 <sup>A</sup>	2.568 <sup>C</sup>	20.516 <sup>B</sup>	44.660 <sup>G</sup>	4.296 <sup>E</sup>
AMIN	29.296 <sup>BAC</sup>	2.194 <sup>C</sup>	20.812 <sup>B</sup>	45.581 <sup>G</sup>	4.382 <sup>DE</sup>
AVEN	26.944 <sup>C</sup>	4.276 <sup>B</sup>	11.542 <sup>C</sup>	65.838 <sup>BC</sup>	4.970 <sup>C</sup>
AVCI	27.054 <sup>C</sup>	4.196 <sup>B</sup>	11.812 <sup>C</sup>	68.687 <sup>BA</sup>	4.820 <sup>DC</sup>
AVME	31.764 <sup>A</sup>	5.404 <sup>A</sup>	10.802 <sup>BC</sup>	61.147 <sup>DC</sup>	4.386 <sup>DE</sup>
AVIM	31.778 <sup>A</sup>	5.160 <sup>BA</sup>	10.036 <sup>D</sup>	59.509 <sup>DB</sup>	4.290 <sup>F</sup>
PROM	29.2750	2.8602	14.6758	59.2527	4.6991

MAIZ= Maíz; MCIN= Maíz con inoculante; ALFA= Alfalfa; ACIN= Alfalfa con inoculante; ACME= Alfalfa con melaza; AMIN= Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN= Avena; AVCI= Avena con inoculante; AVME= Avena con melaza; AVIM= Avena con inoculante y melaza; PROM= Promedio.

\*SUMA= La suma de los tres principales constituyentes de la MS (CSA, PC y FDN).

NOTA: Las literales (A,B,C,D,E,F,G,) diferentes entre columnas son estadísticamente significativas (P<.01)

**ANEXO 7. Pérdidas de energía.**

PROCESO	CLASIFICACION	% APROX. DE PERDIDAS
RESPIRACION	INEVITABLE	1-2
FERMENTACION	INEVITABLE	2-4
LIQUIDOS EFLUENTES	INEVITABLE	5-7
DESECACION	EVITABLE	2-5
FERMENTACIONES SECUNDARIAS	EVITABLE	0-5
DETERIORO POR ENTRADA DE AIRE	EVITABLE	0-10
PERDIDAS EN LA DESCARGA DEL SILO	EVITABLE	0-15

FUENTE: Zimmer (1981) citado por Muslera y Ratera, 1991.

**ANEXO 8. Diferencia porcentual entre los análisis finales con respecto a los iniciales, de los forrajes maíz, alfalfa y avena durante el proceso de ensilaje.**

TRATAMIENTO	CSA (%)	PC (%)	pH (%)
MAIZ	-87.13 <sup>A</sup>	6.79 <sup>BAC</sup>	-27.63 <sup>BC</sup>
MCIN	-84.54 <sup>BA</sup>	30.22 <sup>D</sup>	-22.54 <sup>C</sup>
ALFA	-77.21 <sup>BA</sup>	-8.25 <sup>A</sup>	-1.78 <sup>E</sup>
ACIN	-72.15 <sup>B</sup>	-10.05 <sup>A</sup>	-12.00 <sup>D</sup>
ACME	-77.48 <sup>BA</sup>	23.28 <sup>BC</sup>	-31.93 <sup>BA</sup>
AMIN	-82.61 <sup>BA</sup>	30.17 <sup>D</sup>	-31.24 <sup>BA</sup>
AVEN	-74.56 <sup>BA</sup>	7.56 <sup>BAC</sup>	-30.10 <sup>BAC</sup>
AVCI	-76.39 <sup>BA</sup>	12.90 <sup>BDC</sup>	-33.70 <sup>BA</sup>
AVME	-73.18 <sup>BA</sup>	10.99 <sup>BC</sup>	-37.45 <sup>A</sup>
AVIM	-75.75 <sup>BA</sup>	4.90 <sup>BA</sup>	-30.25 <sup>BAC</sup>
PROM	-78.09	10.02	-26.74

MAIZ= Maíz; MCIN= Maíz con inoculante; ALFA= Alfalfa; ACIN= Alfalfa con inoculante; ACME = Alfalfa con melaza; AMIN= Alfalfa con melaza e inoculante; AVEN= Avena; AVCI= Avena con inoculante; AVME= Avena con melaza; AVIM= Avena con inoculante y melaza; PROM= Promedio.

NOTA: Las literales (A,B,C,D,) diferentes entre columnas son estadísticamente significativas (P<.01)