

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y

AMBIENTALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Microbiología del ensilaje: Fundamentos y avances recientes

Monografía previa a la obtención del título de Licenciado en

Microbiología

Peña Valdivieso Angel Fernando

Quito, 2026

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Microbiología del Sr. Angel Fernando Peña Valdivieso ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**MARTIN SEBASTIAN
MARCIAL COBA**

Dr. Martín Sebastián Marcial Coba

Quito, 12 de Junio de 2026

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado principalmente a Dios por darme las facultades para poder realizar este trabajo y por brindarme una guía en mi camino.

A mis padres Angel y Sandra, por brindarme todo su amor y apoyo en esta y otras etapas de mi vida, luchando por darme un futuro mejor.

A mi hermano Johnny, quien siempre ha aportado a que cuente con los medios para poder realizar mis responsabilidades y no me ha dejado solo

A mi novia Daniela, por su cariño sincero, su paciencia y por ser mi fuente de motivación para salir adelante en todo ámbito de mi vida.

A mis compañeros y tutores los cuales con su dedicación y constante formación han permitido pulir mi capacitación profesional

A mi tutor Martín, a quien considero un gran profesional y amigo, quien siempre ha creído en mi potencial.

Y a mis amigos con los que he compartido muchas experiencias increíbles a lo largo de esta trayectoria.

TABLAS DE CONTENIDOS

1.	<i>RESUMEN</i>	1
2.	<i>ABSTRACT</i>	2
3.	<i>INTRODUCCIÓN</i>	3
4.	<i>OBJETIVOS</i>	7
4.1	OBJETIVO GENERAL.....	7
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
5.	<i>MARCO TEÓRICO</i>	8
5.1	DEFINICIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ENSILAJE.....	8
5.2	ECOLOGÍA MICROBIANA DEL ENSILAJE.....	10
5.2.1	MICROORGANISMOS ASOCIADOS A FERMENTACIONES EFICIENTES (BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS).....	10
5.2.2	MICROORGANISMOS ASOCIADOS A FERMENTACIONES DEFICIENTES.....	13
5.3	FACTORES QUE DESARROLLAN UN MAL PROCESO FERMENTATIVO.....	15
5.3.1	FACTORES FÍSICOS Y QUÍMICOS.....	16
5.4	AVANCES BIOTECNOLÓGICOS RECIENTES.....	17
5.4.1	USO DE INOCULANTES MICROBIANOS Y QUÍMICOS.....	18
5.4.2	HERRAMIENTAS MOLECULARES Y GENÉTICAS.....	20
6.	<i>CONCLUSIONES</i>	22
7.	<i>RECOMENDACIONES</i>	24
8.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	26
9.	<i>TABLAS Y FIGURAS</i>	41
10.	<i>ANEXOS</i>	45
10.1	METODOLOGIA.....	45

1. RESUMEN

El ensilaje es una herramienta de conservación de forrajes aplicada en distintos sistemas de producción, mediante la fermentación de carbohidratos hidrosolubles en ácidos orgánicos. Por ello, resulta importante entender los procesos de manufactura y microbiología con rigor científico. El proceso abarca cuatro fases: 1) aeróbica inicial; 2) fermentativa; 3) estable; y 4) de apertura. Generalmente seleccionan cultivos de maíz y alfalfa en su madurez óptima para su picado, compactación, sellado y almacenamiento. Durante el proceso las bacterias ácido-lácticas (BAL) se dividen según su ruta metabólica. Las BAL homofermentativas fermentan hexosas únicamente en ácido láctico, mientras las heterofermentativas también sintetizan ácido acético tras consumir pentosas de la filósfera. Por el contrario, microorganismos contaminantes como *Clostridium* sp, *Listeria monocytogenes* y hongos micotoxigénicos, alteran la calidad del ensilaje a causa de la mala manipulación del material y condiciones ambientales adversas. Por ende, los investigadores han planteado y desarrollado en conjunto con estudios genéticos y moleculares el uso de inoculantes microbianos y químicos aplicados de manera individual o en conjunto para elevar el proceso fermentativo. Sin embargo, aún vacíos de conocimiento en países con escasos estudios acerca del ensilaje. Por lo tanto, es de suma importancia desarrollar investigaciones que evalúen la calidad del ensilaje en distintas regiones del mundo, así como explorar el potencial uso de BAL genéticamente modificadas para producir alimento de mejor calidad para el ganado.

Palabras clave: bacterias ácido-lácticas; ensilaje; contaminantes; inoculantes; micotoxinas.

2. ABSTRACT

Silage is a forage preservation tool used in various production systems, achieved through the fermentation of water-soluble carbohydrates into organic acids. Therefore, it is crucial to understand the manufacturing and microbiological processes with scientific rigor. The process comprises four phases: 1) initial aerobic; 2) fermentative; 3) stable; and 4) opening. Corn and alfalfa crops are generally selected at their optimal maturity for chopping, compaction, sealing, and storage. During the process, lactic acid bacteria (LAB) are categorized according to their metabolic pathway. Homofermentative LAB ferment hexoses only into lactic acid, while heterofermentative LAB also synthesize acetic acid after consuming pentoses from the phyllosphere. Conversely, contaminating microorganisms such as *Clostridium* sp., *Listeria monocytogenes*, and mycotoxigenic fungi can alter silage quality due to improper handling of the material and adverse environmental conditions. Therefore, researchers have proposed and developed, in conjunction with genetic and molecular studies, the use of microbial and chemical inoculants, applied individually or in combination, to enhance the fermentation process. However, knowledge gaps remain in countries with limited research on silage. Therefore, it is crucial to conduct research that evaluates silage quality in different regions of the world, as well as to explore the potential use of genetically modified lactic acid bacteria (LAB) to produce higher-quality livestock feed.

Keywords: contaminants; inoculants; lactic-acid bacteria; mycotoxins; silage.

3. INTRODUCCIÓN

Con respecto a la producción global, la industria ganadera representa una de las actividades agropecuarias más importantes por su rol en la producción de alimentos de alto valor biológico, como carne, leche y derivados, esto representa un alto impacto en la economía global y en la seguridad alimentaria de millones de personas (Schrobbach et al., 2023). Según análisis estadísticos, este sector genera aproximadamente 1,4 trillones de dólares anuales (Ken Research, 2024), representando cerca del 40% del valor total de la producción agropecuaria mundial (Feedback, 2020). De otra manera, el sector ganadero aporta de manera sustancial a millones de personas, de manera directa e indirecta, pues genera empleos y comercio (Herrero et al., 2013). Sin embargo, existen varios retos asociados como el cambio climático, la degradación del suelo por malas prácticas agroindustriales, la escasez de recursos hídricos y la variabilidad climática en ciertas regiones a nivel mundial que limitan la disponibilidad de pastos (Schrobbach et al., 2023; van Oort et al., 2023). En este contexto, se vuelve fundamental el desarrollo e implementación de estrategias eficientes que permiten optimizar el uso de recursos relacionados al forraje, garantizando la sostenibilidad de los sistemas de producción animal a largo plazo (Schrobbach et al., 2023).

La sostenibilidad de los sistemas ganaderos depende en gran medida de la disponibilidad constante de alimentos ricos en nutrientes y de buena calidad para el ganado (Shah et al., 2025), por lo que urge la implementación de estrategias eficientes de conservación del forraje, con la finalidad de preservar la estabilidad productiva a lo largo del año. Tras lo antes mencionado, una de las principales técnicas de conservación destaca la henificación y el ensilaje, ampliamente utilizados en los sistemas productivos (McDonald et al., 2012). La henificación consiste en el secado del forraje, inhibiendo el crecimiento microbiano y prolongando la vida útil del alimento, (Parker-Gibson, 2012). Su principal ventaja se centra en la simplicidad del proceso y la

facilidad de almacenamiento; sin embargo, presenta limitaciones en regiones con altos niveles de humedad y lluvia, donde el secado natural se ve afectado y la pérdida de nutrientes pueden ser considerables, especialmente en compuestos solubles como azúcares y proteínas (Borreani et al., 2018). Mientras tanto, el ensilaje destaca como el método de conservación de grandes volúmenes de forrajes con un nivel de humedad más elevado, convirtiéndolo en más implementado en los distintos sistemas productivos a nivel mundial (J. Liu et al., 2025; Ni et al., 2015). A través de la fermentación láctica el pH del medio se disminuye a niveles seguros (≤ 4.2) para el consumo del ganado (Inoue et al., 2013).

Con base en lo mencionado anteriormente, el proceso de ensilaje depende de manera primordial de la actividad microbiana, debido a las interacciones que se establecen entre los microorganismos presentes en el forraje y las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla el proceso (S. Wang et al., 2023). Por esta razón, el ensilaje se considera un ecosistema microbiano hermético y anaeróbico, a través del cual las bacterias ácido-lácticas (BAL) juegan un rol imprescindible en la fermentación y estabilización del material vegetal (Brtnick et al., 2022). Estas bacterias beneficiosas pertenecen principalmente a los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, entre otros géneros, con capacidades metabólicas que influyen en la eficiencia del proceso fermentativo y en la calidad final del ensilaje (S. Wang et al., 2025). El correcto desarrollo por parte del proceso metabólico de las BAL mejora las calidades sensoriales del ensilaje, favoreciendo su consumo por parte del ganado (Grant & Ferraretto, 2018). Asimismo, la fermentación láctica contribuye a la hidrólisis parcial de componentes estructurales como proteínas y hemicelulosa, incrementando la digestibilidad y el valor nutricional del producto (Bolsen et al., 1996).

Sin embargo, cuando el proceso se realiza de manera deficiente, ya sea por baja disponibilidad de carbohidratos solubles, una compactación inadecuada del material vegetal o la infiltración de oxígeno en el almacenamiento, se favorece el desarrollo de microorganismos indeseables que comprometen la calidad del ensilaje (Driehuis et al., 2018). Asimismo, los factores ambientales y químicos (temperatura, humedad y baja cantidad de carbohidratos hidrosolubles) condicionan la calidad del silo, que, al someterse a alteraciones de estos factores, favorecen el desarrollo de microorganismos deteriorantes (Cruz et al., 2026; Y. Liu et al., 2025; R. R. Wang et al., 2011) .

Entre estos destacan bacterias altamente resistentes y asociadas a la contaminación del silo debido a fermentaciones y la subsecuente producción de ácidos orgánicos indeseables (aminas biogénicas) por parte de microorganismos clostridiales, los cuales se infiltran en el forraje por medio de sus esporas (Queiroz et al., 2018). Sumado a esto, la proliferación de *Listeria monocytogenes* a través de sellados deficientes se asocia a graves infecciones en el ganado y en grupos vulnerables tras consumir alimentos colonizados por esta bacteria (Wiedmann, 2003). Finalmente, la contaminación por parte de organismos fúngicos y la consecuente producción de metabolitos secundarios indeseables por parte de los géneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Penicillium*. Capaces de desarrollarse tanto en campo como en el almacenamiento del producto (del Palacio et al., 2016; Storm et al., 2008). La infiltración y proliferación excesiva de estas sustancias afectan sistémicamente al ganado minimizando la producción y la calidad de productos derivados de animales y representa un riesgo de transferencia a productos de origen animal como leche y carne, lo que causa intoxicaciones de distinta índole en los humanos (Akinmoladun et al., 2025; Awuchi et al., 2022).

Ante esta problemática, se ha empleado inóculos microbianos y químicos que potencien y estabilicen la fermentación láctica. Estudios recientes han demostrado que cepas específicas de BAL, como *Lactiplantibacillus plantarum* y *Lentilactobacillus buchneri*, al ser utilizadas como inóculos, acidifican de manera temprana el material vegetal, lo que influye en la mejora de la estabilidad fermentativa y en la reducción del deterioro aeróbico que es tan perjudicial para el ensilaje, optimizando su calidad y conservación (Benjamim da Silva et al., 2024). Igualmente, la adición de enzimas catalizadoras y azúcares al forraje garantiza la degradación de carbohidratos más complejos, la disponibilidad de sustrato a las BAL y el control del proceso fermentativo (Qamar Bilal, 2009; P. Zhang et al., 2025). Sumado a esto, la modificación genética y el uso de herramientas metagenómicas como la bioinformática aplicada en las BAL también propone perspectivas futuras para su uso en la optimización del ensilaje (Ma et al., 2025; Tennant et al., 2017).

No obstante, a pesar de la cantidad de estudios que demuestran el rol de los microorganismos como parte fundamental de un proceso fermentativo como lo es el ensilaje, aún persiste cierta carencia de conocimientos con respecto al proceso de elaboración del ensilaje, como la manipulación del material y el mantenimiento de las condiciones ambientales correctas. Por ello, la presente monografía tiene como propósito realizar una revisión minuciosa de los fundamentos estructurales y microbiológicos del ensilaje. De igual manera, analiza los avances científicos más recientes como el desarrollo de inoculantes y la optimización de estos mediante técnicas moleculares y genéticas que contribuyen a establecer métodos de conservación de forraje más eficientes, seguros y sostenibles. Con la finalidad de facilitar mejores vías de implementación en los sistemas de producción ganadera moderna.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar los fundamentos microbiológicos del ensilaje y su importancia en la conservación del forraje, considerando la interacción entre los microorganismos involucrados.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir la definición y el proceso del ensilaje, mencionando los pasos del procedimiento con fundamentos científicos.
2. Identificar los principales microorganismos clave en el proceso del ensilaje, comparando los efectos de las bacterias ácido-lácticas (BAL) frente a los efectos negativos de microorganismos deteriorantes.
3. Analizar los avances recientes y las perspectivas biotecnológicas aplicados al estudio y optimización del ensilaje.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 DEFINICIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ENSILAJE

El ensilaje se define como el proceso biotecnológico más utilizado en la conservación de forrajes basado en la fermentación anaeróbica controlada del material vegetal y la consiguiente síntesis de ácidos orgánicos (Ilustración 1) (Fan et al., 2020; Ni et al., 2015). Dentro de los sistemas de producción agropecuaria, el maíz y la alfalfa destacan como los cultivos más empleados en la elaboración de ensilaje. La etapa de maduración de estos cultivos es crucial para la optimización del forraje. En el caso del maíz, del cual generalmente se usan hojas y tallos maduros (Dewhurst et al., 2009; Ligoski et al., 2020) y es necesario que la planta se encuentre en la etapa de maduración intermedia tardía (etapa lechosa) por su nivel óptimo de humedad y azúcares presentes (Bal et al., 1997). Por el contrario, la alfalfa se cosecha en etapas tempranas de desarrollo para maximizar su concentración de proteínas (Wüstholtz et al., 2017). Tras la recolección del material, este debe someterse a un proceso de picado. Para el ensilaje de maíz la longitud del corte óptima oscila entre 10 a 25 mm de longitud (British Columbia Ministry of Agriculture, 2015), mientras para el ensilaje de alfalfa de 2.0 a 3.0 mm.(Beauchemin et al., 1994). Esta reducción facilita su posterior compactación y expulsión de oxígeno, así como una correcta digestibilidad del ganado (Tayyab et al., 2019).

Tras el picado del forraje, el material vegetal se deposita en la estructura correspondiente de almacenamiento. Inicialmente, las células vegetales y microorganismos aeróbicos aún respiran produciendo agua, calor y CO₂, hasta agotar el oxígeno, lo cual da inicio al entorno anaeróbico necesario para un correcto procedimiento fermentativo (Tuovinen et al., 2025). Estructuralmente, los sistemas de ensilaje varían según la escala de compactación y método de compactación. A gran escala se emplean silos verticales (torres cilíndricas cuyo peso ejerce presión sobre el

forraje) y horizontales (búnkeres compactados por el uso de maquinaria pesada). (Muck et al., 2020). No obstante, también existe la producción a menor escala del ensilaje, el cual consiste en colocar el material en bolsas plásticas compactadas manualmente, siendo empleado generalmente en países en vías de desarrollo que no cuentan con la infraestructura necesaria (Ashbell et al., 2001). Independientemente del sistema, la compactación del ensilaje constituye una parte crucial en el proceso del ensilaje, procurando eliminar la mayor cantidad de oxígeno atrapado entre los fragmentos del forraje vegetal, para dar paso a las condiciones anaeróbicas estrictas del medio (D. Wang et al., 2022). Este paso debe realizarse de manera progresiva (de 5 a 10 minutos por cada capa añadida) durante el llenado del silo, distribuyendo el material en capas delgadas que son sometidas a presión mecánica mediante el uso de maquinaria específica para el ensilaje (Jasinskas et al., 2012; Tan et al., 2018). Tras completar el llenado y la compactación, el sellado con bolsas plásticas de alta densidad garantiza un cierre total para evitar la infiltración de aire y agua (Parra et al., 2021). Al reducir la disponibilidad de oxígeno, las bacterias ácido-lácticas (BAL) presentes de forma natural en el forraje o mediante el uso de inoculantes empiezan a dominar el ecosistema microbiano (Yang et al., 2010), dando paso a la fermentación láctica.

A continuación, el silo entra en etapa de almacenamiento, en el cual todo el material debe mantenerse en condiciones anaeróbicas estables con un porcentaje de materia seca del 30% dependiendo la región donde se realice el procedimiento (Andrade et al., 2026). En esta etapa, es crucial mantener un buen sellado para evitar la infiltración de microorganismos ajenos a un proceso fermentativo adecuado. En condiciones libres de oxígeno y con temperaturas óptimas que oscilan de 21-30 °C (Cruz et al., 2026) y rangos de humedad de generalmente el 55% se consolida la fermentación láctica, que transforma los carbohidratos presentes en las hojas de las especies forrajeras ya antes mencionadas en ácido láctico (Y. Wang et al., 2021).

Una vez finalizado el proceso de almacenamiento, inician las cuatro etapas en las que se divide el ensilaje: la fase aeróbica inicial (0-3 horas); fase fermentativa (3 horas-3 días); fase estable (3-60 días) y la fase de apertura (Sun et al., 2021). El desarrollo de estas fases está sumamente ligado a la dinámica poblacional y al crecimiento de distintas comunidades microbianas (figura 2) Estos grupos se adaptan a las variaciones ambientales del medio, como la humedad y el descenso progresivo del pH (Dunière et al., 2013) . Comprender cómo estos factores condicionan a las distintas poblaciones resulta crucial para definir la ecología microbiana del ensilaje (Borreani et al., 2018; Silva et al., 2016).

5.2 ECOLOGÍA MICROBIANA DEL ENSILAJE

Sumado a lo anterior, las especies microbianas son consideradas ubicuas por su capacidad de desarrollarse en todos los entornos del planeta, por consiguiente, existe una gran diversidad de microorganismos presentes en el suelo y las hojas de los cultivos (Thomas et al., 2024). Distintos microorganismos compiten por la disponibilidad de recursos y el dominio del ecosistema. Se ha documentado que en pastos frescos la microbiota de este es abundante (10^5 - 10^9 UFC/g), encontrándose varias especies de microorganismos tolerantes a entornos aeróbicos como enterobacterias, microorganismos fúngicos, esporas clostridiales y bacterias ácido-lácticas (Pahlow et al., 2003; Y. Wang et al., 2024).

5.2.1 MICROORGANISMOS ASOCIADOS A FERMENTACIONES EFICIENTES (BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS)

La agroindustria se ha beneficiado de la versatilidad de las bacterias ácido-lácticas (tabla 1). Bacterias pertenecientes al filo Bacillota y al orden Lactobacillales se caracterizan por ser microorganismos cocoides o bacilos Gram positivos, no esporulados, catalasa-negativos y fermentadores estrictos, con bajo contenido de GC

(Rossi, 2023; Wyszynska et al., 2015). Estas bacterias se encuentran de manera natural en la filósfera de las plantas (Pontonio et al., 2018), a una concentración de 10^1 - 10^5 en la fase aeróbica inicial del ensilaje de alfalfa y 10^6 - 10^7 UFC/g en maíz (Lindow & Brandl, 2003; Pahlow et al., 2003). Fisiológicamente toleran condiciones de bajo pH, (3.5) y prosperan en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (He et al., 2025; Ni et al., 2015b). Bajo estas condiciones sintetizan ácidos orgánicos y compuestos antimicrobianos que refuerzan la estabilidad biológica del silo (Hernández-González et al., 2021), garantizando la integridad de los nutrientes, beneficiando al ganado lo que significa la minimización de pérdida de materia seca durante el almacenamiento prolongado.

Bioquímicamente, existen dos grupos de BAL implicados en la estabilización del forraje (Hayek & Ibrahim, 2013). Por una parte, las BAL homofermentativas utilizan la ruta de Embden-Meyerhof-Parnas (glicólisis) (Abedi & Hashemi, 2020). Caracterizada por la transformación de los carbohidratos hidrosolubles en piruvato y posteriormente reduciendo el piruvato en ácido láctico por la acción de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) (Chandel, 2021). Mientras tanto, las BAL heterofermentativas usan la vía de las fosfoacetolasa (Rossi, 2023). Esta ruta metabólica emplea un menor uso de energía que la glicolisis, con un solo mol de ATP por mol de glucosa (Zotta et al., 2018). Las BAL heterofermentativas carecen de la enzima aldolasa, por ende, fermentan pentosas para producir ácido láctico y ácido acético, mediante el balance redox intracelular. La producción de ácido acético permite conservar energía y generar un rendimiento adicional de ATP (Årsköld et al., 2008; Zaunmüller et al., 2006).

Tomando en cuenta los mecanismos metabólicos empleados por las BAL; la producción de ácidos orgánicos como el ácido láctico y acético se asientan como factores predominantes en la conservación de forrajes frente a la proteólisis (Gheller et

al., 2021). Las características químicas de estos compuestos garantizan la disminución del pH en el sustrato vegetal. Los valores de fuerza ácida (pK_a 3.86 para el ácido láctico y 4,75 para el ácido acético) (Degrain et al., 2020; Sit et al., 2023), los convierten en ácidos débiles no disociados; capaces de penetrar la membrana plasmática de microorganismos indeseables (Sorathiya et al., 2025). Una vez penetrada la capa; estos ácidos se disocian liberando protones (H^+), desnaturalizando a los microorganismos con potencial deteriorante de manera interna (Yoon et al., 2024).

Por parte de las BAL homofermentativas, están involucradas en todo el proceso fermentativo. En la fase inicial de la fermentación, caracterizada por temperaturas y pH elevados cercanos a la neutralidad, las especies como *Enterococcus faecium* y *Pediococcus acidilactici* se establecen como microorganismos pioneros para colonizar rápidamente el material vegetal (Annamalai et al., 2009; Sun et al., 2023). El rol biológico de *E. faecium* es iniciar la acidificación del medio a pesar de que el pH del medio se encuentre en valores elevados (7.0) (Tao et al., 2026). Mientras tanto, *P. acidilactici* mantiene la producción de lactato, pues la termotolerancia ($>30\text{ }^{\circ}\text{C}$) de *P. acidilactici* le permite desarrollarse en entornos hostiles para otras BAL (X. Guo et al., 2025), Esta acción inicial de las mencionadas especies de BAL desploma los niveles de pH hacia niveles seguros en un lapso de 24 horas, estabilizando el medio (Riebroy et al., 2008; Yan et al., 2022). Por consiguiente, se asegura un suministro continuo de sustrato fermentable durante la fase de fermentación activa sumamente clave para la estabilidad aeróbica, con una duración persistente tras 30 días de fermentación (Amado et al., 2016; Si et al., 2023).

A su vez, dentro del grupo de BAL heterofermentativas beneficiosas para el ensilaje, *Lentilactobacillus buchneri* destaca por su rol en la mejora de la estabilidad

aeróbica del material vegetal. Esta especie posee la capacidad de convertir el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol (Holzer et al., 2003), lo que genera niveles de acetato suficientes para inhibir el desarrollo de microorganismos aeróbicos indeseables como organismos fúngicos (Wambacq et al., 2013). La actividad metabólica de *L. buchneri* se divide en fases complementarias proporcionada por las condiciones ambientales, la temperatura, la salinidad y niveles de oxígeno (Johanningsmeier & McFeeters, 2013). El impacto de esta bacteria en el ensilaje se da en los periodos tardíos de almacenamiento cuando los niveles de pH son muy bajos (3.8-4.3) (Oude Elferink et al., 2001), por lo que el ácido-láctico acumulado se convierte en el sustrato principal para su transformación en ácido-acético. Además, la actividad de *L. buchneri* promueve cambios estructurales en la comunidad microbiana, favoreciendo la dominancia de BAL beneficiosas como *Lentilactobacillus deviorans* (Krooneman et al., 2002) Este último metaboliza el 1,2-propanodiol para generar ácido propiónico y propanol, compuestos que refuerzan la inhibición de patógenos y optimizan características organolépticas del silo. (Prasad et al., 2023) .

5.2.2 MICROORGANISMOS ASOCIADOS A FERMENTACIONES DEFICIENTES

La diversa variedad microbiana presente en el entorno del ensilaje vuelve vulnerable a este proceso a la proliferación de microorganismos indeseables (tabla 2). Las bacterias el género *Clostridium*, compuesto por bacilos Grampositivos esporulados de gran resistencia ambiental (Dürre, 2014). Su infiltración en el silo se origina por la infiltración de esporas halladas comúnmente en el suelo, el estiércol y la microbiota de las gramíneas empleadas en el ensilaje (Vissers et al., 2007). Especies como *Clostridium tyrobutyricum* actúan como agente de deterioro primario del ensilaje, al degradar el lactato producido por bacterias ácido-lácticas en ácido butírico, responsable de olores fétidos e incrementando el pH del medio (Dorn-In et al., 2025; Li et al., 2020). Asimismo, su capacidad proteolítica permite la desaminación y descarboxilación de

aminoácidos convirtiéndolos en amoníaco (NH_3) y aminas biogénicas que reducen palatabilidad (Fonknechten et al., 2010; Mao et al., 2024). Además, ciertas especies patógenas representan un riesgo sanitario al producir toxinas botulínicas y enterotoxinas que pueden afectar la salud del ganado (Goldsztejn et al., 2020).

Otro microorganismo sumamente resistente es, *Listeria monocytogenes* considerada como riesgo biológico crítico por su naturaleza psicotrófica y su capacidad de colonizar forrajes mal fermentados o ya deteriorados (Pauly & Tham, 2003). Esta bacteria aprovecha zonas de compactación deficiente o roturas en el sellado, en las que la entrada de oxígeno favorece su proliferación (Rodriguez et al., 2021). Generalmente se considera a *L. monocytogenes* parte de la microbiota de deterioro secundario, pues su desarrollo se da precedido por la actividad oxidativa de mohos y levaduras (Nucera et al., 2016). El consumo de silo contaminado de esta bacteria por parte del ganado aumenta el riesgo de listeriosis, infección sumamente peligrosa por su sintomatología, lo cual puede derivar en síntomas neurológicos, abortos y la contaminación de la leche cruda, afectando gravemente a poblaciones humanas vulnerables (de Sousa et al., 2025; Zekarias & Dema, 2019).

Por último, los organismos fúngicos lideran el deterioro aeróbico mediante la producción de metabolitos secundarios, indeseables en el ensilaje. Hongos micotoxigénicos del género *Fusarium* (e.g. *F. graminearum*, *F. culmorum* y *F. proliferatum*), los cuales se encuentran distribuidos a nivel mundial y son frecuentes en silo de cereales (Solórzano-Solórzano et al., 2024), sintetizando tricotecenos como el deoxinivalenol, la zearelenona, fumosinas y nivalenol (Marwah, 2021; Vandicke et al., 2021), responsables de un sinnúmero de afecciones sistémicas en el ganado (Hartinger et al., 2022). Las cuales son producidas bajo condiciones hostiles para el desarrollo de

bacterias ácido-lácticas y reguladas por clústeres de genes específicos para cada tipo de micotoxina (Picot et al., 2010) . En regiones tropicales *Aspergillus spp.* (e.g. *A. fumigatus* y *A. flavus*) sintetizan aflatoxinas y ocratoxina A consideradas como potenciales agentes cancerígenos (Chuaysrinule et al., 2020), mientras que *Penicillium spp.*, particularmente *P. roqueforti* que suele proliferar en silos sellados de manera deficiente, generando ácidos perjudiciales en el silo (Penagos-Tabares et al., 2022). Asimismo, *Alternaria spp.* reduce el rendimiento productivo del ganado al generar ácido tenuazónico y alternariol (X. Zhang et al., 2026).

5.3 FACTORES QUE DESARROLLAN UN MAL PROCESO FERMENTATIVO

La calidad final del ensilaje se sujeta al equilibrio preciso entre las características del forraje, tales como las condiciones atmosféricas y la dinámica de las poblaciones microbianas presentes en la materia vegetal (B. Liu et al., 2019). No obstante, la desviación de cualquiera de estos parámetros altera el curso de la fermentación láctica, propiciando rutas metabólicas que degradan el valor nutricional y sanitario del ensilaje (Y. Liu et al., 2025). Este desequilibrio se origina cuando el manejo del material y su posterior compactación y sellado fallan en asegurar una anaerobiosis estricta, o bien, cuando el sustrato vegetal no cuenta con los requerimientos bioquímicos necesarios para mantener la actividad de las bacterias ácido-lácticas (BAL) (Du et al., 2022). Frente a una tasa de descenso de pH deficiente, la estabilidad homeostática se debilita y por ende proporciona las condiciones aptas para la proliferación de taxones deteriorantes, dando paso a la colonización del forraje (Liang et al., 2026). Como resultado de esta alteración ecológica, procesos de proteólisis, descarboxilación de aminoácidos y pérdida definitiva de materia seca (DM) son evidentes en el proceso fermentativo (Drouin et al., 2021; Mao et al., 2024). Esto transforma el modelo de conservación biotecnológico en un sustrato vulnerable a la acumulación de metabolitos indeseables.

5.3.1 FACTORES FÍSICOS Y QUÍMICOS

La temperatura a la que se expone al ensilaje determina la eficacia de este proceso (Li et al., 2019). Por esta razón, los cambios de temperatura inadecuados alteran negativamente este perfil fermentativo y comprometen la calidad del producto. Un estudio realizado en el Tíbet determinó que temperaturas bajas (5 °C), propias del entorno montañoso del lugar, ralentizan los procesos metabólicos del ensilaje; por ende, el proceso fermentativo no será eficiente al no concentrar las cantidades adecuadas de ácido láctico y demostrar retrasos en la disminución del pH en comparación con las otras temperaturas experimentadas. (X. Liu et al., 2026). Por otro lado, el estrés por altas temperaturas ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) proveniente de países con clima tropical como Brasil, sumado a un nivel alto de humedad, desvía las rutas fermentativas y causa la pérdida de nutrientes, lo que estimula al deterioro aeróbico, incrementando los recuentos de levaduras y mohos, así como la multiplicación de micotoxinas, entre las cuales las zearalenonas son el grupo más presente con respecto a la contaminación del silo (Schmidt et al., 2015). Por consiguiente, las temperaturas mayores a 30 °C estancan la producción de ácido láctico en favor de una mayor producción de ácido acético, causando el desplome de las poblaciones de bacterias ácido-lácticas y el deterioro del producto (Wali et al., 2022).

Estrechamente relacionado con las condiciones térmicas, otro factor de suma relevancia para el desarrollo de bacterias fermentadoras es la humedad presente en el medio (Y. Liu et al., 2025). Pues se ha documentado que niveles de excesiva humedad disminuye la concentración de materia seca y causa un efecto diluyente sobre los azúcares disponibles (Yin et al., 2021). La aparición de este escenario es propicio para la activación de rutas fermentativas indeseables, como la reacción de Stickland propia de los clostridiales (Bai et al., 2021), esta ruta metabólica se caracteriza por el uso de carbohidratos, aminoácidos y ácido-láctico como fuente de energía, que sumado a un

nivel elevado de humedad en el silo, da como resultado la producción de ácido butírico, reduciendo los niveles de materia seca, esto deriva en la disminución de la calidad del producto (Wróbel et al., 2023). Asimismo, niveles bajos de humedad inhiben la actividad metabólica de las BAL (Zhao et al., 2021), por lo que un forraje extremadamente seco aumenta la posibilidad de la elasticidad de la fibra vegetal, lo que dificulta la compactación mecánica del silo y propicia la retención de bolsas de aire, retrasando el establecimiento de un entorno anaeróbico (Güntekin & Akar, 2019).

A la par de las características físicas descritas, la idoneidad del proceso fermentativo depende también en gran medida de la perspectiva química del forraje, específicamente de la concentración de nutrientes fermentables presentes en el sustrato y la resistencia intrínseca del material vegetal a la caída del pH (Kim et al., 2021). Un deficiente contenido de carbohidratos hidrosolubles (1,4%) limita la fuente de energía vital para las bacterias ácido-lácticas, comprometiendo su desarrollo al frenar la síntesis de ácido-láctico y da paso a la proliferación de microorganismos indeseables que utilizan el pH estancado (5.5) ante la falta de actividad fermentativa de las bacterias ácido-lácticas (R. R. Wang et al., 2011). Este escenario reduce la estabilidad del forraje, pues en casos como el pienso originario de alfalfa, cuya capacidad amortiguadora, derivada de su riqueza en proteínas y minerales, puede dificultar la acidificación inicial del proceso fermentativo (Jayanegara et al., 2020; Stepanova & Volovik, 2021), hecho que impide la generación de un ambiente idóneo para las BAL y conduce a la degradación del silo.

5.4 AVANCES BIOTECNOLÓGICOS RECIENTES

El aumento de la demanda de alimentos originarios del ganado ha causado que el ensilaje se vea como una alternativa eficiente para sostener el rendimiento del sector agropecuario a nivel mundial, ante el aumento demográfico y poblacional en el planeta (Mottaleb et al., 2021). Por ende, se ha impulsado la investigación continua con respecto

a la conservación de forrajes (Du et al., 2023). Los objetivos de estas investigaciones se centran en la optimización de la eficiencia operativa y el control de los procesos fermentativos; y, por otro lado, potenciar el perfil nutricional, higiénico y organoléptico del producto final (T. Guo et al., 2025). Destinado al consumo animal mediante el uso de distintas técnicas y herramientas por separado o combinadas.

5.4.1 USO DE INOCULANTES MICROBIANOS Y QUÍMICOS

El uso de aditivos microbianos se ha consolidado como una alternativa biotecnológica eficiente para minimizar la presencia de microorganismos deteriorantes, así como para maximizar la producción de ácidos orgánicos que potencien la calidad final del forraje (Ma et al., 2023). Bampidis et al. (2024) detallan que, la elaboración de los aditivos comienza con la identificación y selección de una cepa previamente desarrollada en un ensilaje de alta calidad y caracterizada genéticamente, que debido a regulaciones, debe registrarse en una colección oficial de cultivos, que garantice la preservación de la cepa original y la protección de la patente (Janssens et al., 2010). Posteriormente, las cepas se someten a un proceso de liofilización, con un porcentaje de 35-50% de agente activo y 50-65% de criopreservantes. Finalizando este proceso, se recomienda la aplicación de una dosis mínima de 1×10^8 UFC/kg de material fresco del forraje (Bampidis et al., 2024).

En la práctica agroindustrial, las bacterias ácido-lácticas (BAL) aplicadas como aditivos dan resultados prometedores en la estabilización del ensilaje. Concretamente, *Lactiplantibacillus plantarum* se consolida como una especie de bacteria ácido-láctica segura para su aplicación en el forraje (Y. Liu et al., 2026). Según Meng et al. (2025). El uso exclusivo de *L. plantarum* derivó en la optimización fermentativa del forraje (pH 4.2), mediante una elevada síntesis de ácido láctico. Además, garantizó la dominancia poblacional por parte del género bacteriano aplicado en el inóculo; por consiguiente, inhibió eficazmente a los microorganismos indeseables y estabilizó los niveles de

nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) en niveles óptimos (5%). Asimismo, logró maximizar la retención de materia seca (DM) y desacelerar la degradación proteica. De igual manera, el uso de esta especie bacteriana incide favorablemente en la salud del ganado, pues en el estudio de Y. Liu et al. (2026) se determinó que cepas específicas de *L. plantarum* poseen una notable actividad antioxidante, mitigando los procesos inflamatorios del ganado; por consiguiente, se obtienen productos derivados de mayor calidad.

A su vez, el uso combinado de carbohidratos, enzimas y otras especies de microorganismos en conjunto con bacterias ácido-lácticas también ha demostrado eficacia en la elaboración de ensilaje de alta calidad. En la investigación realizada por Qamar Bilal (2009) se adicionó melaza al ensilaje de pasto elefante enano. Luego de evaluar el material a los 35 días de fermentación, el autor determinó que el uso de melaza acidificó el medio prematuramente. Esto se debió a que el aditivo incrementó la cantidad de carbohidratos disponibles para las bacterias ácido-lácticas. Por otro lado, el uso de la enzima celulasa, en conjunto con *L. plantarum*, causó la degradación de la fibra en el material vegetal, además de la rápida reducción del pH en un periodo de 7 días, convirtiendo al producto en una fuente de alimento con mejores características nutricionales para el ganado que lo consume (P. Zhang et al., 2025). Finalmente, el estudio de Liao et al. (2022) combinó el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con la bacteria heterofermentativa *Lactobacillus buchneri* en silo de pasto rey (*Pennisetum sinense*). El estudio evidenció la reducción significativa de los niveles de celulosa (8.90%). Asimismo, la adición de la levadura en el pienso vegetal neutraliza los efectos negativos de *L. buchneri* al modificar la comunidad microbiana del silo, pues la levadura favorece la abundancia de especies promotoras de la fermentación láctica. El uso de este consorcio generó una mayor concentración de ácido láctico en los primeros días de fermentación; no obstante, estos niveles descienden en las fases finales de almacenamiento debido al consumo del ácido láctico por parte de la levadura. Todo ello

evidencia el éxito de la inoculación, tanto exclusivo de bacterias ácido-lácticas o en consorcio con macromoléculas orgánicas, lo cual optimiza el pienso destinado al consumo animal (M. Li et al., 2024).

5.4.2 HERRAMIENTAS MOLECULARES Y GENÉTICAS

La aplicación de las ciencias metagenómicas y computacionales como la bioinformática aporta de manera sustancial al aseguramiento e inocuidad de la seguridad alimentaria. El empleo de bases de datos genómicos permite la detección eficaz de patógenos contaminantes en productos de origen vegetal (Soroushianfar et al., 2025). De igual manera, estas herramientas facilitan la comprensión de los mecanismos bioquímicos, la adaptación de las BAL en diversos entornos y su potencial probiótico en sus consumidores (Mendoza et al., 2023). Específicamente, en el estudio de ensilaje de Tennant et al. (2017) se desarrolló un protocolo mediante secuenciación *shotgun*. Los fragmentos de ADN metagenómico-obtenidos tras la extracción de ADN de una matriz forrajera se someten a un filtrado bioinformático con las herramientas bioinformáticas FastQC y Trimmomatic para eliminar secuencias residuales y de baja calidad. Posteriormente, se clasifican las secuencias con bases de datos de referencia para la detección temprana de microorganismos deteriorantes que se encuentran en la muestra antes de ser consumidos por el ganado.

También es posible emplear la modificación genética de las bacterias ácido-lácticas para maximizar sus efectos beneficiosos. Investigadores han desarrollado varios estudios enfocados en las oportunidades que puede brindar el uso de cepas genéticamente modificadas de BAL (Xie et al., 2024). Conforme a lo planteado por Ma et al. (2025). Debido a la limitada cantidad de cepas indígenas apropiadas para el proceso de ensilaje, el desarrollo de cepas modificadas surge como una opción efectiva para la maximización de ácidos orgánicos necesarios para un proceso fermentativo adecuado. En este estudio se plantea la adición de genes codificadores de glicósido

hidrolasas mediante la técnica de CRISPR-Cas9; con la finalidad de que las cepas modificadas de *Lactiplantibacillus plantarum* reduzcan el nivel de fibra presente en el forraje y afiancen la fermentación láctica.

A pesar de que el uso de bacterias ácido-lácticas es considerado seguro para su consumo por parte de animales rumiantes y seres humanos, existen varias restricciones que regulan el empleo de microorganismos genéticamente modificados (GMM), (Lerner et al., 2026). Organizaciones reguladoras como la FDA (Food And Drug Administration) en Estados Unidos determinan la inocuidad de estas cepas modificadas en el sector alimentario; por consiguiente, cualquier investigación orientada a la manipulación genética en las BAL requiere previa aprobación de este ente.(Plavec & Berlec, 2020). Dicho marco regulatorio se fundamenta en la necesidad de prevenir riesgos microbiológicos derivados de la intervención genética. Al respecto, Vacca et al. (2026) señalan que a pesar de que la modificación genética permita tener fermentaciones controladas y una mayor producción de ácidos orgánicos, abarca también la transferencia horizontal de genes involucrados en la resistencia a los antibióticos, así como mutaciones no deseadas. También se ha documentado la posibilidad de disbiosis en los organismos consumidores de alimentos a base de GMM (Lerner et al., 2024).

6. CONCLUSIONES

A lo largo de la historia, las aplicaciones microbiológicas en procesos industriales desempeñan un papel fundamental en la producción de alimentos de alta calidad destinados a la alimentación animal y humana. De igual manera, el uso de estrategias de conservación de forrajes aporta a la obtención de alimentos de alta calidad para el ganado.

El procedimiento de ensilado para obtener un producto de alta calidad es sumamente minucioso, por ende, se deben tomar en cuenta las características del material empleado para el ensilaje, pues el estado de madurez determina el consumo de carbohidratos hidrosolubles necesario para el desarrollo de las bacterias ácido-lácticas. Asimismo, la selección de cultivos maduros, el picado de las plantas forrajeras y su subsecuente compactación y almacenamiento determinan la estabilidad del proceso al inhibir la entrada de microorganismos deteriorantes.

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) participan de manera crucial en el proceso fermentativo al consumir carbohidratos hidrosolubles en ácidos orgánicos conservantes del forraje, la acción temprana de BAL homofermentativas como *Enterococcus faecium* y *Pedococcus acidilactici* mantiene los niveles de lactato óptimos para la proliferación de *Lactiplantibacillus plantarum* y *Lentilactobacillus buchneri* que por su acidotolerancia, estabilizan el pH del medio a niveles seguros a partir de la producción de ácido láctico y ácido acético, los cuales al ser ácidos débiles penetran la membrana plasmática de microorganismos deteriorantes.

Sin importar el lugar donde se está realizando el ensilaje, es importante evaluar las condiciones atmosféricas, que tienen la misma importancia que el factor microbiológico, pues la humedad excesiva, los cambios de temperatura no deseados, el aumento del pH y la baja disponibilidad de carbohidratos hidrosolubles son cruciales en la proliferación de agentes patógenos como bacterias de los géneros *Clostridium* y *Listeria*, además de hongos micotoxigénicos, lo que representa un elevado riesgo de contaminación del ganado que consume estos forrajes; por ende, la revisión constante de estas variables evita el deterioro aeróbico y las fermentaciones proteolíticas que reducen la calidad del forraje y ponen en peligro la seguridad alimentaria.

Debido a esto, los investigadores han logrado avances significativos para llegar a este objetivo. Al recurrir al uso de inoculantes basados en el uso exclusivo de bacterias ácido lácticas homofermentativas y heterofermentativas o en conjunto con compuestos químicos (carbohidratos y enzimas) capaces de maximizar la degradación de sustratos necesarios para su desarrollo y producir ácidos orgánicos preservantes del producto vegetal. Sumado a lo anterior, el uso de distintas técnicas genéticas y moleculares como algoritmos genómicos y la modificación genética mediante la técnica CRISPR-Cas incrementa la eficacia del uso de inóculos destinados a los forrajes.

7. RECOMENDACIONES

Tras la recopilación y lectura de distintas fuentes bibliográficas con respecto al proceso y la microbiología del ensilaje, se proponen las siguientes recomendaciones. Fundamentalmente, se sugiere la elaboración de investigaciones que evalúen el proceso del ensilaje en diferentes regiones a las que se encuentra la mayoría de los estudios (China, Estados Unidos y Brasil), evaluando la variabilidad de resultados generados a partir de condiciones ambientales distintas y, por ende, el uso de forrajes propios de otras regiones del mundo, así como las variedades genéticas de los cultivos generalmente utilizados.

Debido al desconocimiento en la elaboración y manejo del ensilaje por parte de los encargados de los sistemas productivos, se recomienda a los investigadores elaborar investigaciones y protocolos enfocados en la correcta elaboración de ensilaje en distintos sistemas de almacenamiento y con distintas plantas forrajeras. Detallando la información acerca del corte del material, su compactación, sellado y almacenamiento. Asimismo, se recomienda enfocar los futuros estudios en la determinación de posibles combinaciones de aditivos para ensilaje de nueva generación, así como la adición de nuevos compuestos químicos o agentes microbianos con una posible capacidad de estabilizar la fermentación láctica. Documentando las interacciones entre estos compuestos y el análisis de la salud del ganado tras su consumo y su potencial uso como probiótico.

Finalmente, a pesar de las regulaciones aplicadas por los organismos de control, se aconseja el estudio a más profundidad del uso seguro y transparente de herramientas moleculares como CRISPR-Cas y mutagénesis no dirigida para la adición o amplificación de genes relacionados a la producción de ácido láctico, garantizando una

fermentación más controlada , así como lograr mayor estabilidad aeróbica antes microorganismos indeseables, sin embargo, la documentación de los efectos que tienen estos microorganismos genéticamente modificados en la salud intestinal del ganado y los consumidores de los alimentos provenientes de estos , además de vigilar mutaciones no deseadas que otorguen características no deseadas a estos microorganismos mediante la transferencia horizontal de genes y un subsecuente desarrollo de mecanismos de resistencia a antibióticos, lo cual es de sumo interés para futuras investigaciones. De igual manera, se recomienda realizar estudios de secuenciación del gen 16s y *shotgun* con la finalidad de analizar los grupos bacterianos presentes en las distintas plantas forrajeras empleadas en los sistemas productivos con la finalidad de determinar la dinámica de estas poblaciones y la detección de microorganismos indeseables. El uso de estos mecanismos dará perspectivas positivas para mantener a flote la seguridad alimentaria y cumplir con la demanda de alimentos de excelente calidad ante el aumento de la población mundial, así como beneficiar a la población vulnerable.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. In *Heliyon* (Vol. 6, Number 10). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>
- Akinmoladun, O. F., Fon, F. N., Nji, Q., Adeniji, O. O., Tangni, E. K., & Njobeh, P. B. (2025). Multiple Mycotoxin Contamination in Livestock Feed: Implications for Animal Health, Productivity, and Food Safety. In *Toxins* (Vol. 17, Number 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/toxins17080365>
- Amado, I. R., Fuciños, C., Fajardo, P., & Pastrana, L. (2016). Pediocin SA-1: A selective bacteriocin for controlling *Listeria monocytogenes* in maize silages. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 8070–8080. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11121>
- Andrade, M. E. B., Messana, J. D., Gindri, M., Gervásio, J. R. S., Silva, M. M., Rabêlo, C. H. S., & Reis, R. A. (2026). Kernel processing and storage length: Effect on the fermentation, nutritional, and physical characteristics of flint corn silage with low DM. *Animal Feed Science and Technology*, 331. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2025.116599>
- Annamalai, N., Manivasagan, P., Balasubramanian, T., & Vijayalakshmi, S. (2009). Enterocin from *Enterococcus faecium* isolated from mangrove environment. *African Journal of Biotechnology*, 8(22), 6311–6316. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Årsköld, E., Lohmeier-Vogel, E., Cao, R., Roos, S., Rådström, P., & Van Niel, E. W. J. (2008). Phosphoketolase pathway dominates in *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 containing dual pathways for glycolysis. *Journal of Bacteriology*, 190(1), 206–212. <https://doi.org/10.1128/JB.01227-07>
- Ashbell, G., Kipnis, T., Titterton, M., Hen, Y., Azrieli, A., & Weinberg, Z. G. (2001). *Examination of a technology for silage making in plastic bags*.
- Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Nwozo, S., Odongo, G. A., Eseoghene, I. J., Twinomuhwezi, H., Ogbonna, C. U., Upadhyay, A. K., Adeleye, A. O., & Okpala, C. O. R. (2022). Mycotoxins' Toxicological Mechanisms Involving Humans, Livestock and Their Associated Health Concerns: A Review. In *Toxins* (Vol. 14, Number 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/toxins14030167>
- Bai, C., Wang, C., Sun, L., Xu, H., Jiang, Y., Na, N., Yin, G., Liu, S., & Xue, Y. (2021). Dynamics of Bacterial and Fungal Communities and Metabolites During

- Aerobic Exposure in Whole-Plant Corn Silages With Two Different Moisture Levels. *Frontiers in Microbiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663895>
- Bal, M. A., Coors, J. G., & Shaver, R. D. (1997). Impact of the Maturity of Corn for Use as Silage in the Diets of Dairy Cows on Intake, Digestion, and Milk Production. *Journal of Dairy Science*, 80(10), 2497–2503.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76202-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76202-7)
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Durjava, M., Dusemund, B., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Villa, R. E., Woutersen, R., Alija-Novo, N., Anguita, M., Bozzi Cionci, N., ... García-Cazorla, Y. (2024). Safety and efficacy of a feed additive consisting of *Lactiplantibacillus plantarum* DSM 34271 as a silage additive for all animal species (Lactosan GmbH & Co.KG). *EFSA Journal*, 22(7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8903>
- Beauchemin, K. A., Farr, B. I., Rode, L. M., & Schaalje, G. B. (1994). Effects of Alfalfa Silage Chop Length and Supplementary Long Hay on Chewing and Milk Production of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 77(5), 1326–1339.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77072-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77072-7)
- Benjamim da Silva, É., Polukis, S. A., Smith, M. L., Voshell, R. S., Leggett, M. J., Jones, P. B., & Kung, L. (2024). The use of *Lentilactobacillus buchneri* PJB1 and *Lactiplantibacillus plantarum* MTD1 on the ensiling of whole-plant corn silage, snaplage, and high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, 107(2), 883–901. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23672>
- Borreani, G., Tabacco, E., Schmidt, R. J., Holmes, B. J., & Muck, R. E. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3952–3979. <https://doi.org/10.3168/JDS.2017-13837>
- British Columbia Ministry of Agriculture. (2015). *SILAGE-MAKE IT RIGHT !*
- Brtnick, M., Nov, D., & Lochman, J. (2022). *Anaerobic Fermentation of Silage from the Above-Ground Biomass of Jerusalem Artichoke (Helianthus tuberosus L .) and Maize (Zea mayse L .) as a New and Promising Input Raw Material for Biogas Production*. <https://doi.org/10.3390/app122211417>
- Chandel, N. S. (2021). Glycolysis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 13(5). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A040535>
- Chuaysrinule, C., Maneeboon, T., Roopkham, C., & Mahakarnchanakul, W. (2020). Occurrence of aflatoxin- and ochratoxin A-producing *Aspergillus* species in Thai dried chilli. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100054>

- Cruz, G. F. L., Pupo, M. R., Daniel, J. L. P., & Ferraretto, L. F. (2026). Effects of storage temperature on silage nutrient composition, fermentation profile, and aerobic stability through a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 109(4), 3748–3761. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-27446>
- de Sousa, F. G., Fraga, R. M. L., Mendes, A. C. R., Souza, R. C., & Beier, S. L. (2025). *Listeria monocytogenes*: A Foodborne Pathogen with Implications for One Health and the Brazilian Context. In *Microorganisms* (Vol. 13, Number 10). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13102280>
- Degrain, A., Manhivi, V., Remize, F., Garcia, C., & Sivakumar, D. (2020). Effect of lactic acid fermentation on color, phenolic compounds and antioxidant activity in african nightshade. *Microorganisms*, 8(9), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091324>
- del Palacio, A., Bettucci, L., & Pan, D. (2016). Fusarium and Aspergillus mycotoxins contaminating wheat silage for dairy cattle feeding in Uruguay. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(4), 1000–1005. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.004>
- Dewhurst, R., Delaby, L., Moloney, A., Boland, T., & Lewis, E. (2009). Nutritive value of forage legumes used for grazing and silage Legume forages have an important position in ruminant production in Western. In *Irish Journal of Agricultural and Food Research* (Vol. 48, Number 2).
- Driehuis, F., Wilkinson, J. M., Jiang, Y., Ogunade, I., & Adesogan, A. T. (2018). Silage review: Animal and human health risks from silage. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4093–4110. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13836>
- Drouin, P., Tremblay, J., Renaud, J., & Apper, E. (2021). Microbiota succession during aerobic stability of maize silage inoculated with *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788 and *Lentilactobacillus hilgardii* CNCM-I-4785. *MicrobiologyOpen*, 10(1). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1153>
- Du, Z., Lin, Y., Sun, L., Yang, F., & Cai, Y. (2022). Microbial community structure, co-occurrence network and fermentation characteristics of woody plant silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(3), 1193–1204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11457>
- Du, Z., Yang, F., Fang, J., Yamasaki, S., Oya, T., Nguluve, D., Kumagai, H., & Cai, Y. (2023). Silage preparation and sustainable livestock production of natural woody plant. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1253178>

- Dunière, L., Sindou, J., Chaucheyras-Durand, F., Chevallier, I., & Thévenot-Sergentet, D. (2013). Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. In *Animal Feed Science and Technology* (Vol. 182, Numbers 1–4, pp. 1–15).
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.006>
- Dürre, P. (2014). Physiology and Sporulation in *Clostridium*. *Microbiology Spectrum*, 2(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.tbs-0010-2012>
- Fan, Z., Chen, K., Ban, L., Mao, Y., Hou, C., & Li, J. (2020). Silage fermentation: A potential biological approach for the long-term preservation and recycling of polyphenols and terpenes in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products. *Molecules*, 25(14). <https://doi.org/10.3390/molecules25143302>
- Feedback. (2020). IT ' S BIG LIVESTOCK VERSUS THE PLANET. *Feedback Global*.
<https://foodrise.org.uk/wp-content/uploads/2020/04/Feedback-Big-Livestock-versus-the-Planet-Final-April-2020.pdf>
- Fonknechten, N., Chaussonnerie, S., Tricot, S., Lajus, A., Andreesen, J. R., Perchat, N., Pelletier, E., Gouyvenoux, M., Barbe, V., Salanoubat, M., Le Paslier, D., Weissenbach, J., Cohen, G. N., & Kreimeyer, A. (2010). *Clostridium sticklandii*, a specialist in amino acid degradation: Revisiting its metabolism through its genome sequence. *BMC Genomics*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-555>
- Gheller, L. S., Ghizzi, L. G., Takiya, C. S., Grigoletto, N. T. S., Silva, T. B. P., Marques, J. A., Dias, M. S. S., Freu, G., & Rennó, F. P. (2021). Different organic acid preparations on fermentation and microbiological profile, chemical composition, and aerobic stability of whole-plant corn silage. *Animal Feed Science and Technology*, 281.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115083>
- Goldsztein, M., Grenda, T., Koziół, N., Sapała, M., Mazur, M., Sieradzki, Z., Król, B., & Kwiatek, K. (2020). Potential determinants of *Clostridium* spp. occurrence in Polish silage. *Journal of Veterinary Research*, 64(4), 549–555.
<https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0075>
- Güntekin, E., & Akar, S. (2019). Influence of moisture content on elastic constants of scots pine wood subjected to compression. *Drewno*, 2019(204).
<https://doi.org/10.12841/wood.1644-3985.220.09>
- Guo, T., Niu, T., Kuka, K., & Tippkötter, N. (2025). Optimizing Silage Efficiency: The Role of Ryegrass Varieties, Harvest Time, and Additives in Enhancing Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*) Fermentation. *Fermentation*, 11(4).
<https://doi.org/10.3390/fermentation11040192>

- Guo, X., Bai, X., Zheng, Z., Qiu, Z., Qiao, X., & Qiao, Y. (2025). Optimization of Culture Conditions for Bacteriocin Production by *Pediococcus Acidilactici* CCFM18 and Characterization of Its Biological Properties. *Fermentation*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/fermentation11080470>
- Hartinger, T., Grabher, L., Pacífico, C., Angelmayr, B., Faas, J., & Zebeli, Q. (2022). Short-term exposure to the mycotoxins zearalenone or fumonisins affects rumen fermentation and microbiota, and health variables in cattle. *Food and Chemical Toxicology*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112900>
- Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B. E., & Castrejón-Jiménez, N. S. (2021). Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. In *Animals* (Vol. 11, Number 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ani11040979>
- Herrero, M., Grace, D., Njuki, J., Johnson, N., Enahoro, D., Silvestri, S., & Rufino, M. C. (2013). The roles of livestock in developing countries. *Animal*, 7(SUPPL.1), 3–18. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001954>
- Holzer, M., Mayrhuber, E., Danner, H., & Braun, R. (2003). The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 21, Number 6, pp. 282–287). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00106-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00106-9)
- Inoue, H., Tohno, M., Matsuo, M., Kojima, Y., Ibuki, T., & Uegaki, R. (2013). Farm-scale method for producing high-quality rice grain silage. *Grassland Science*, 59(4), 226–229. <https://doi.org/10.1111/grs.12031>
- Janssens, D., Arahal, D. R., Bizet, C., & Garay, E. (2010). The role of public biological resource centers in providing a basic infrastructure for microbial research. *Research in Microbiology*, 161(6), 422–429. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.03.009>
- Jasinskas, A., Kučinskas, V., & Viselga, G. (2012). 907. *Maize and grass mixture silage compaction with centrifugal direct-action vibrator*. 14(4).
- Jayanegara, A., Wardiman, B., Kondo, M., Ridla, M., Nahrowi, & Laconi, E. B. (2020). Fermentative quality of silage as affected by protein level in the ensiled material: A meta-analysis. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/462/1/012001>
- Johanningsmeier, S. D., & McFeeters, R. F. (2013). Metabolism of lactic acid in fermented cucumbers by *Lactobacillus buchneri* and related species, potential spoilage organisms in reduced salt fermentations. *Food Microbiology*, 35(2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.03.004>

- Ken Research. (2024). *Global Livestock and Meat Market*.
<https://www.kenresearch.com/global-livestock-and-meat-market>
- Kim, D., Lee, K. D., & Choi, C. (2021). Role of LAB in silage fermentation: Effect on nutritional quality and organic acid production—An overview. *AIMS Agriculture and Food*, 6(1), 216–234.
<https://doi.org/10.3934/AGRFOOD.2021014>
- Krooneman, J., Faber, F., Alderkamp, C., Oude Elferink, J. H. . W., Driehuis, Cleenwerck, Swings, J., Gottschal, J., & Vancanneyt, M. (2002). *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2). <https://doi.org/10.1099/ijs.0.01979-0>
- Lerner, A., Benzvi, C., & Vojdani, A. (2024). The Potential Harmful Effects of Genetically Engineered Microorganisms (GEMs) on the Intestinal Microbiome and Public Health. In *Microorganisms* (Vol. 12, Number 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12020238>
- Lerner, A., Lieber, A. D., Nelson-Dooley, C., Leu, A., Perro, M., Koch, G., Benzvi, C., & Smith, J. (2026). Genetically Modified Microorganisms: Risks and Regulatory Considerations for Human and Environmental Health. In *Microorganisms* (Vol. 14, Number 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms14020467>
- Li, M., Hassan, F. U., Akhtar, M. U., Peng, L., Xie, F., Deng, Q., Zhong, H., Wei, K., & Yang, C. (2024). Fibrolytic Enzymes and Lactic Acid Bacteria Improve the Ensiling Characteristics of Ramie and Elephant Grass Mixed Silage. *Agriculture (Switzerland)*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture14101746>
- Li, P., Gou, W., Zhang, Y., Yang, F., You, M., Bai, S., & Shen, Y. (2019). Fluctuant storage temperature increased the heterogeneous distributions of pH and fermentation products in large round bale silage. *Grassland Science*, 65(3), 155–161. <https://doi.org/10.1111/grs.12232>
- Liang, X.-Y., Shao, T., Liu, H.-P., Li, J.-F., Dong, Z.-H., & Zhao, J. (2026). Isolation, Identification and Spoilage Capability of Specific Spoilage Organisms on Silage During Aerobic Deterioration. *Fermentation*, 12(1), 47.
<https://doi.org/10.3390/fermentation12010047>
- Liao, C., Tang, X., Li, M., Lu, G., Huang, X., Li, L., Zhang, M., Xie, Y., Chen, C., & Li, P. (2022). Effect of lactic acid bacteria, yeast, and their mixture on the chemical composition, fermentation quality, and bacterial community of cellulase-

- treated Pennisetum sinense silage. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1047072>
- Ligoski, B., Gonçalves, L. F., Claudio, F. L., Alves, E. M., Krüger, A. M., Bizzuti, B. E., De Mello Tavares Lima, P., Abdalla, A. L., & Do Prado Paim, T. (2020). Silage of intercropping corn, palisade grass, and pigeon pea increases protein content and reduces in vitro methane production. *Agronomy*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy10111784>
- Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. In *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 69, Number 4, pp. 1875–1883). <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003>
- Liu, B., Huan, H., Gu, H., Xu, N., Shen, Q., & Ding, C. (2019). Dynamics of a microbial community during ensiling and upon aerobic exposure in lactic acid bacteria inoculation-treated and untreated barley silages. *Bioresource Technology*, 273, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.041>
- Liu, J., Liu, M., Sheng, P., Song, C., Ma, W., Bai, B., Zhao, J., Du, S., Ge, G., Wang, Z., & Jia, Y. (2025). *Biotechnological Effects of Lactobacillus plantarum, Cellulase, and Xylanase on Nutritional Quality and Microbial Community Structure of Corn Stover Silage*. 1–18.
- Liu, X., Bai, J., Qu, X., Chai, J., Lin, D., & Zhao, G. (2026). Effects of low temperature silage on microbial community and free amino acids of oat silage quality. *BMC Microbiology*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04559-3>
- Liu, Y., Guo, L., Li, Z., Gou, W., Fu, J., Liu, M., Wang, Z., Zhang, N., Si, Q., & Shang, H. (2026a). Investigating the mechanisms of Lactiplantibacillus plantarum-mediated optimization of alfalfa silage fermentation and enhancement of antioxidant capacity based on 16 S sequencing technology. *BMC Microbiology*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-026-04879-y>
- Liu, Y., Guo, L., Li, Z., Gou, W., Fu, J., Liu, M., Wang, Z., Zhang, N., Si, Q., & Shang, H. (2026b). Investigating the mechanisms of Lactiplantibacillus plantarum-mediated optimization of alfalfa silage fermentation and enhancement of antioxidant capacity based on 16 S sequencing technology. *BMC Microbiology*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-026-04879-y>
- Liu, Y., Wang, Z., Sun, L., Zhang, Y., Zhao, M., Hao, J., Liu, M., Ge, G., Jia, Y., & Du, S. (2025). Effects of Moisture Content Gradient on Alfalfa Silage Quality, Odor, and Bacterial Community Revealed by Electronic Nose and GC–MS. *Microorganisms*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020381>
- Ma, J., Fan, X., Ma, Z., Huang, X., Tang, M., Yin, F., Zhao, Z., & Gan, S. (2023). Silage additives improve fermentation quality, aerobic stability and rumen

- degradation in mixed silage composed of amaranth and corn straw. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1189747>
- Ma, J., Zhang, J., & Guo, X. (2025). Harnessing CRISPR-Cas9 for *Lactobacillus* improvement in silage production: current knowledge and future perspectives. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* (Vol. 16, Number 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40104-025-01282-x>
- Mao, K., Franco, M., Xu, Y., Chai, H., Wang, J., Huang, S., Wang, Z., Xun, W., Liang, Z., Yu, Z., & Wang, M. (2024). Fermentation Parameters, Amino Acids Profile, Biogenic Amines Formation, and Bacterial Community of Ensiled Stylo Treated with Formic Acid or Sugar. *Animals*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/ani14162397>
- Marwah, M. B. (2021). *Evaluating the Effects of Cellulolytic Enzymes and Lactobacillus bulgaricus on Mycotoxins Production and the Quality of Maize Silage*.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. (2012). Animal nutrition. *IGCSE Biology*, 64–83. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511862793.008>
- Mendoza, R. M., Kim, S. H., Vasquez, R., Hwang, I. C., Park, Y. S., Paik, H. D., Moon, G. S., & Kang, D. K. (2023). Bioinformatics and its role in the study of the evolution and probiotic potential of lactic acid bacteria. In *Food Science and Biotechnology* (Vol. 32, Number 4, pp. 389–412). The Korean Society of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01142-8>
- Meng, H., Xu, Y., Wang, L., Wang, J., Wang, B., Wu, H., Hou, D., Wang, S., Tong, X., Jiang, Y., & Wang, S. (2025). Impact of *Lactiplantibacillus plantarum* on the fermentation quality, nutritional enhancement, and microbial dynamics of whole plant soybean silage. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565951>
- Mottaleb, K. A., Fatah, F. A., Kruseman, G., & Erenstein, O. (2021). Projecting food demand in 2030: Can Uganda attain the zero hunger goal? *Sustainable Production and Consumption*, 28, 1140–1163. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.07.027>
- Muck, R. E., Kung, L., & Collins, M. (2020). *Silage Production*.
- Ni, K., Wang, Y., Cai, Y., & Pang, H. (2015a). Natural lactic acid bacteria population and silage fermentation of whole-crop wheat. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(8), 1123–1132. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0955>

- Ni, K., Wang, Y., Cai, Y., & Pang, H. (2015b). Natural lactic acid bacteria population and silage fermentation of whole-crop wheat. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(8), 1123–1132. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0955>
- Nucera, D. M., Grassi, M. A., Morra, P., Piano, S., Tabacco, E., & Borreani, G. (2016). Detection, identification, and typing of *Listeria* species from baled silages fed to dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6121–6133. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10928>
- Oude Elferink, S. J. W. H., Krooneman, E. J., Gottschal, J. C., Spoelstra, S. F., Faber, F., & Driehuis, F. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 125–132. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H., & Spoelstra, S. F. (2003). 2 *Microbiology of Ensiling*.
- Parker-Gibson, N. (2012). *Hay: an Overview of a Vital Agronomic Crop*.
- Parra, C. S., Bragatto, J. M., Piran Filho, F. A., Silva, S. M. S., Tuzzi, B. F., Jobim, C. C., & Daniel, J. L. P. (2021). Effect of sealing strategy on the feeding value of corn silage for growing dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6792–6802. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19895>
- Pauly, T. M., & Tham, W. A. (2003). Survival of *Listeria monocytogenes* in Wilted and Additive-Treated Grass Silage. In *Acta vet. scand* (Vol. 44, Number 2).
- Penagos-Tabares, F., Khiaosa-ard, R., Schmidt, M., Pacífico, C., Faas, J., Jenkins, T., Nagl, V., Sulyok, M., Labuda, R., & Zebeli, Q. (2022). Fungal species and mycotoxins in mouldy spots of grass and maize silages in Austria. *Mycotoxin Research*, 38(2), 117–136. <https://doi.org/10.1007/s12550-022-00453-3>
- Peng, C., Sun, W., Dong, X., Zhao, L., & Hao, J. (2021). Isolation, identification and utilization of lactic acid bacteria from silage in a warm and humid climate area. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92034-0>
- Picot, A., Barreau, C., Pinson-Gadais, L., Caron, D., Lannou, C., & Richard-Forget, F. (2010). Factors of the *Fusarium verticillioides*-maize environment modulating fumonisin production. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 36, Number 3, pp. 221–231). Informa Healthcare. <https://doi.org/10.3109/10408411003720209>
- Plavec, T. V., & Berlec, A. (2020). Safety aspects of genetically modified lactic acid bacteria. In *Microorganisms* (Vol. 8, Number 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020297>

- Pontonio, E., Di Cagno, R., Tarraf, W., Filannino, P., De Mastro, G., & Gobbetti, M. (2018). Dynamic and assembly of epiphyte and endophyte lactic acid bacteria during the life cycle of *Origanum vulgare* L. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01372>
- Qamar Bilal, M. (2009). EFFECT OF MOLASSES AND CORN AS SILAGE ADDITIVES ON THE CHARACTERISTICS OF MOTT DWARF ELEPHANT GRASS SILAGE AT DIFFERENT FERMENTATION PERIODS. In *Pakistan Vet. J* (Vol. 29, Number 1).
- Queiroz, O. C. M., Ogunade, I. M., Weinberg, Z., & Adesogan, A. T. (2018). Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4132–4142. <https://doi.org/10.3168/JDS.2017-13901>
- Riebroy, S., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2008). Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starters. *LWT*, 41(4), 569–580. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.04.014>
- Rodriguez, C., Taminiau, B., García-Fuentes, E., Daube, G., & Korsak, N. (2021). *Listeria monocytogenes* dissemination in farming and primary production: Sources, shedding and control measures. In *Food Control* (Vol. 120). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107540>
- Rossi, F. (2023). Special Issue “Functional Characterization of Lactic Acid Bacteria”: Editorial. In *Microorganisms* (Vol. 11, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051190>
- Schmidt, P., Novinski, C. O., Junges, D., Almeida, R., & de Souza, C. M. (2015). Concentration of mycotoxins and chemical composition of corn silage: A farm survey using infrared thermography. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6609–6619. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8617>
- Schrobbach, P., Dennis, G., Li, Y., Mayberry, D., Shaw, A., Knight-Jones, T., Marsh, T. L., Pendell, D. L., Torgerson, P. R., Gilbert, W., Huntington, B., Raymond, K., Stacey, D. A., Bernardo, T., Bruce, M., McIntyre, K. M., Rushton, J., & Herrero, M. (2023). Approximating the global economic (market) value of farmed animals. *Global Food Security*, 39. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2023.100722>
- Shah, A. M., Zhang, H., Shahid, M., Ghazal, H., Shah, A. R., Niaz, M., Naz, T., Ghimire, K., Goswami, N., Shi, W., Xia, D., & Zhao, H. (2025). The Vital Roles of Agricultural Crop Residues and Agro-Industrial By-Products to Support Sustainable Livestock Productivity in Subtropical Regions. In *Animals* (Vol. 15, Number 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ani15081184>

- Si, Q., Wang, Z., Liu, W., Liu, M., Ge, G., Jia, Y., & Du, S. (2023). Influence of Cellulase or *Lactiplantibacillus plantarum* on the Ensiling Performance and Bacterial Community in Mixed Silage of Alfalfa and *Leymus chinensis*. *Microorganisms*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020426>
- Silva, V. P., Pereira, O. G., Leandro, E. S., Da Silva, T. C., Ribeiro, K. G., Mantovani, H. C., & Santos, S. A. (2016). Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the fermentation profile and chemical composition of alfalfa silage in tropical conditions. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 1895–1902. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9792>
- Sit, I., Fashina, B. T., Baldo, A. P., Leung, K., Grassian, V. H., & Ilgen, A. G. (2023). Formic and acetic acid pKa values increase under nanoconfinement. *RSC Advances*, 13(33), 23147–23157. <https://doi.org/10.1039/d2ra07944e>
- Solórzano-Solórzano, J. A., Zambrano, S. M. V., & Olmedo, J. B. V. (2024). *Fusarium* spp. in corn crops: Identification, geographic distribution, symptoms, mycotoxins, disease cycle, control, and current and future challenges. In *Scientia Agropecuaria* (Vol. 15, Number 4, pp. 537–556). Universidad Nacional de Trujillo. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2024.040>
- Sorathiya, K. B., Melo, A., Hogg, M. C., & Pintado, M. (2025). Organic Acids in Food Preservation: Exploring Synergies, Molecular Insights, and Sustainable Applications. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 17, Number 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/su17083434>
- Soroushianfar, M., Asgari, G., Afzali, F., Falahat, A., Soroush, M., Baghahi, M., Haratizadeh, M. J., Khalili-Tanha, G., & Nazari, E. (2025). Application of Bioinformatics and Machine Learning Tools in Food Safety. In *Current Nutrition Reports* (Vol. 14, Number 1). Springer. <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00657-w>
- Stepanova, G. V., & Volovik, M. V. (2021). Dependence of the buffer capacity on the chemical composition of dry matter of alfalfa. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 901(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/901/1/012044>
- Storm, I. M. L. D., Sørensen, J. L., Rasmussen, R. R., Nielsen, K. F., & Thrane, U. (2008). Mycotoxins in silage. *Stewart Postharvest Review*, 4(6), 1–12. <https://doi.org/10.2212/spr.2008.6.4>
- Sun, L., Bai, C., Xu, H., Na, N., Jiang, Y., Yin, G., Liu, S., & Xue, Y. (2021). Succession of Bacterial Community During the Initial Aerobic, Intense Fermentation, and Stable Phases of Whole-Plant Corn Silages Treated With Lactic Acid Bacteria

- Suspensions Prepared From Other Silages. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655095>
- Sun, L., Xue, Y., Xiao, Y., Te, R., Wu, X., Na, N., Wu, N., Qili, M., Zhao, Y., & Cai, Y. (2023). Community Synergy of Lactic Acid Bacteria and Cleaner Fermentation of Oat Silage Prepared with a Multispecies Microbial Inoculant. *Microbiology Spectrum*, 11(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00705-23>
- Tan, F., Kayisoglu, B., & Okur, E. (2018). Effects of compaction pressure on the temperature distribution in bunker type silage silo. *Indian Journal of Animal Sciences*, 88(1), 116–120. <https://doi.org/10.56093/ijans.v88i1.79521>
- Tao, X., Li, H., Li, X., Deng, W., He, X., Zhang, Q., & Li, J. (2026). Characterization of rumen-derived *Enterococcus faecium* strains and their effects on fermentation quality and in vitro digestibility of rice straw silage. *Animal Feed Science and Technology*, 336. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2026.116686>
- Tayyab, U., Wilkinson, R. G., Charlton, G. L., Reynolds, C. K., & Sinclair, L. A. (2019). Grass silage particle size when fed with or without maize silage alters performance, reticular pH and metabolism of Holstein-Friesian dairy cows. *Animal*, 13(3), 524–532. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001568>
- Tennant, R. K., Sambles, C. M., Diffey, G. E., Moore, K. A., & Love, J. (2017). Metagenomic analysis of silage. *Journal of Visualized Experiments*, 2017(119). <https://doi.org/10.3791/54936>
- Thomas, G., Kay, W. T., & Fones, H. N. (2024). Life on a leaf: the epiphyte to pathogen continuum and interplay in the phyllosphere. In *BMC Biology* (Vol. 22, Number 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-01967-1>
- Tuovinen, O. H., Niemelä, S. I., & Rajala-Schultz, P. J. (2025). The Role of Microbes in Ensiling. In *Microorganisms* (Vol. 13, Number 10). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13102237>
- Vacca, M., Calabrese, F. M., Filannino, P., & De Angelis, M. (2026). Genetically Modified Lactic Acid Bacteria in the EU Food Chain: Applications, Benefits, and Risk Assessment. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 27, Number 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms27093759>
- van Oort, B., Andrew, R., & Holmelin, N. B. (2023). *The Consequences for Climate of Meat Consumption* (Number January). https://doi.org/10.1007/978-3-031-09023-3_2

- Vandicke, J., De Visschere, K., Ameye, M., Croubels, S., De Saeger, S., Audenaert, K., & Haesaert, G. (2021). Multi-Mycotoxin Contamination of Maize Silages in Flanders, Belgium: Monitoring Mycotoxin Levels from Seed to Feed. *Toxins*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/TOXINS13030202>
- Vissers, M. M. M., Driehuis, F., Te Giffel, M. C., De Jong, P., & Lankveld, J. M. G. (2007). Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 928–936. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71576-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71576-X)
- Wambacq, E., Wambacq, E., Latré, J. P., & Haesaert, G. (2013). *The effect of Lactobacillus buchneri inoculation on the aerobic stability and fermentation characteristics of alfalfa-ryegrass, red clover and maize silage.*
- Wang, D., Luo, C., Li, C., Zhang, S., Lu, N., Yang, Z., Yu, X., Cao, Z., Yang, H., Li, S., Shao, W., & Wang, W. (2022). Study on the Relationship between Fermentation-Accumulated Temperature and Nutrient Loss of Whole-Plant Corn Silage. *Agronomy*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy12112752>
- Wang, R. R., Wang, H. L., Liu, X., & Xu, C. C. (2011). Effects of different additives on fermentation characteristics and protein degradation of green tea grounds silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(5), 616–622. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10346>
- Wang, S., Zhang, Q., Sun, L., & Kumar, A. (2023). Editorial: Exploring the role of microorganisms in silages: species, communities, interactions, and functional characteristics. *Frontiers in Microbiology*, 14(Dm). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1196267>
- Wang, Y., Sun, Y., Huang, K., Gao, Y., Lin, Y., Yuan, B., Wang, X., Xu, G., Nussio, L. G., Yang, F., & Ni, K. (2024). Multi-omics analysis reveals the core microbiome and biomarker for nutrition degradation in alfalfa silage fermentation. *MSystems*, 9(11). <https://doi.org/10.1128/msystems.00682-24>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wiedmann, M. (2003). ADSA foundation scholar award - An integrated science-based approach to dairy food safety: *Listeria monocytogenes* as a model system. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 1865–1875. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73774-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73774-6)

- Wróbel, B., Nowak, J., Fabiszewska, A., Paszkiewicz-Jasińska, A., & Przystupa, W. (2023). Dry Matter Losses in Silages Resulting from Epiphytic Microbiota Activity—A Comprehensive Study. In *Agronomy* (Vol. 13, Number 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020450>
- Wüstholtz, J., Carrasco, S., Berger, U., Sundrum, A., & Bellof, G. (2017). Fattening and slaughtering performance of growing pigs consuming high levels of alfalfa silage (*Medicago sativa*) in organic pig production. In *Livestock Science* (Vol. 200, pp. 46–52). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.04.004>
- Wyszyńska, A., Kobińska, P., Bardowski, J., & Jagusztyn-Krynicka, E. K. (2015). Lactic acid bacteria—20 years exploring their potential as live vectors for mucosal vaccination. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 99, Number 7, pp. 2967–2977). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6498-0>
- Xie, Z., McAuliffe, O., Jin, Y. S., & Miller, M. J. (2024). Invited review: Genomic modifications of lactic acid bacteria and their applications in dairy fermentation. In *Journal of Dairy Science* (Vol. 107, Number 11, pp. 8749–8764). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24989>
- Yan, Z., Chen, M., Jia, J., & Bao, J. (2022). Increasing Acid Tolerance of an Engineered Lactic Acid Bacterium *Pediococcus acidilactici* for L-Lactic Acid Production. *Fermentation*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/fermentation8030096>
- Yang, J., Cao, Y., Cai, Y., & Terada, F. (2010). Natural populations of lactic acid bacteria isolated from vegetable residues and silage fermentation. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 3136–3145. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2898>
- Yin, X., Wu, J., Tian, J., Wang, X., & Zhang, J. (2021). Dried soybean curd residue: A promising absorbent for cleaner production of high-quality silage. *Journal of Cleaner Production*, 324. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129300>
- Yoon, J. H., Oh, M. S., & Lee, S. Y. (2024). Effectiveness of organic acids for inactivating pathogenic bacteria inoculated in laboratory media and foods: an updated minireview. In *Food Science and Biotechnology* (Vol. 33, Number 12, pp. 2715–2728). The Korean Society of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s10068-024-01618-9>
- Zaunmüller, T., Eichert, M., Richter, H., & Unden, G. (2006). Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic acids. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 72, Number 3, pp. 421–429). <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0514-3>

- Zekarias, T., & Dema, T. (2019). Listeriosis in Ruminants and its Zoonotic Importance: A Review. *Advances in Biological Research*, 13(2), 52–61. <https://doi.org/10.5829/idosi.abr.2019.52.61>
- Zhang, P., Bai, B., Zhou, T., Wang, W., Zhang, L., Wei, X., Li, H., & Wang, Z. (2025). Effects of cellulase and *Lactiplantibacillus plantarum* on silage performance, microbial community composition and volatiles of *Caragana korshinskii*. *BMC Microbiology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04116-y>
- Zhang, X., Ye, F., Yang, C., Zhang, Y., Zhong, Y., Sun, Y., Liu, S., Xiao, X., Wu, Q., Liu, H., Li, Y., Hou, J., Liu, X., & Xu, Z.-L. (2026). *Alternaria alternata* and Its Mycotoxins: Sources, Toxicological Analysis, and Control Strategies. *Trends in Food Science & Technology*, 105572. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2026.105572>
- Zhao, S., Yang, F., Wang, Y., Fan, X., Feng, C., & Wang, Y. (2021). Dynamics of fermentation parameters and bacterial community in high-moisture alfalfa silage with or without lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061225>
- Zotta, T., Ricciardi, A., Ianniello, R. G., Storti, L. V., Glibota, N. A., & Parente, E. (2018). Aerobic and respirative growth of heterofermentative lactic acid bacteria: A screening study. *Food Microbiology*, 76, 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.017>

9. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS (BAL) HOMO Y HETEROFERMENTATIVAS INVOLUCRADAS EN FERMENTACIONES EFICIENTES, CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES Y DE APOORTE AL SILO

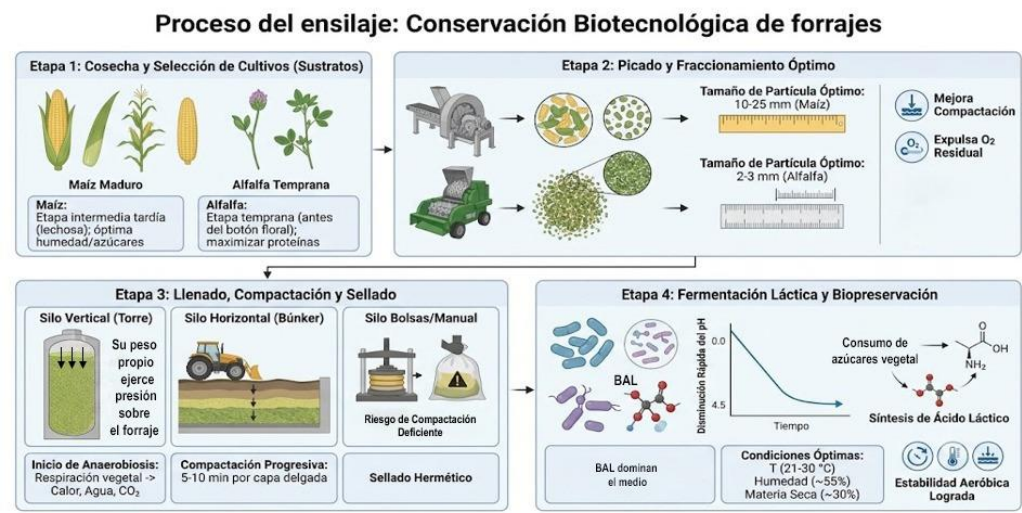
Especie	Tipo de fermentación	Sustrato principal	Condiciones de crecimiento	Nivel de reducción de pH
<i>Enterococcus faecium</i>	Homofermentativa	Hexosas	Fase inicial, pH elevado y temperaturas altas	4.31
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Homofermentativa	Hexosas	Fase inicial (Termotolerancia superior a 30 °C.)	4.6
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Homofermentativa	Hexosas	Facultativa, alta tolerancia a la acidez extrema	4.6
<i>Lentilactobacillus buchneri</i>	Heterofermentativa	Pentosas	Anaerobiosis, temperaturas de 20 a 30 °C y periodos de almacenamiento de 30 a 60 días	3.8-4.3

TABLA 2 MICROORGANISMOS DETERIORANTES Y SUS EFECTOS ADVERSOS EN EL ENSILAJE

Género	Tipo de Microorganismo	Proliferación	Efectos Deteriorantes
<i>Clostridium</i> spp.	Bacteria (esporulada y anaeróbica)	Contaminación desde el suelo o estiércol	Ácido butírico, aminas biogénicas, amoníaco (NH ₃) y toxinas botulínicas
<i>Listeria</i> sp.	Bacteria (Psicotrónica)	Zonas con compactación y sellado deficiente (post oxidación fúngica)	Riesgo biológico (Listeriosis) en productos derivados del ganado
<i>Fusarium</i> spp.	Hongo (moho)	Precosecha	Tricotecenos, Zearalenona y Fumonisin
<i>Aspergillus</i> spp.	Hongo (moho)	Zonas con almacenamiento deficiente)	Aflatoxinas y Ocratoxinas A (cancerígenos)
<i>Penicillium</i> spp.	Hongo (moho)	Silo sellado deficientemente y con roturas	Ácido micofenólico, macfortina A y roquefortinas
<i>Alternaria</i> spp.	Hongo (moho)	Contaminación general del material vegetal	Ácido tenuazónico y alternariol.

Figura 1

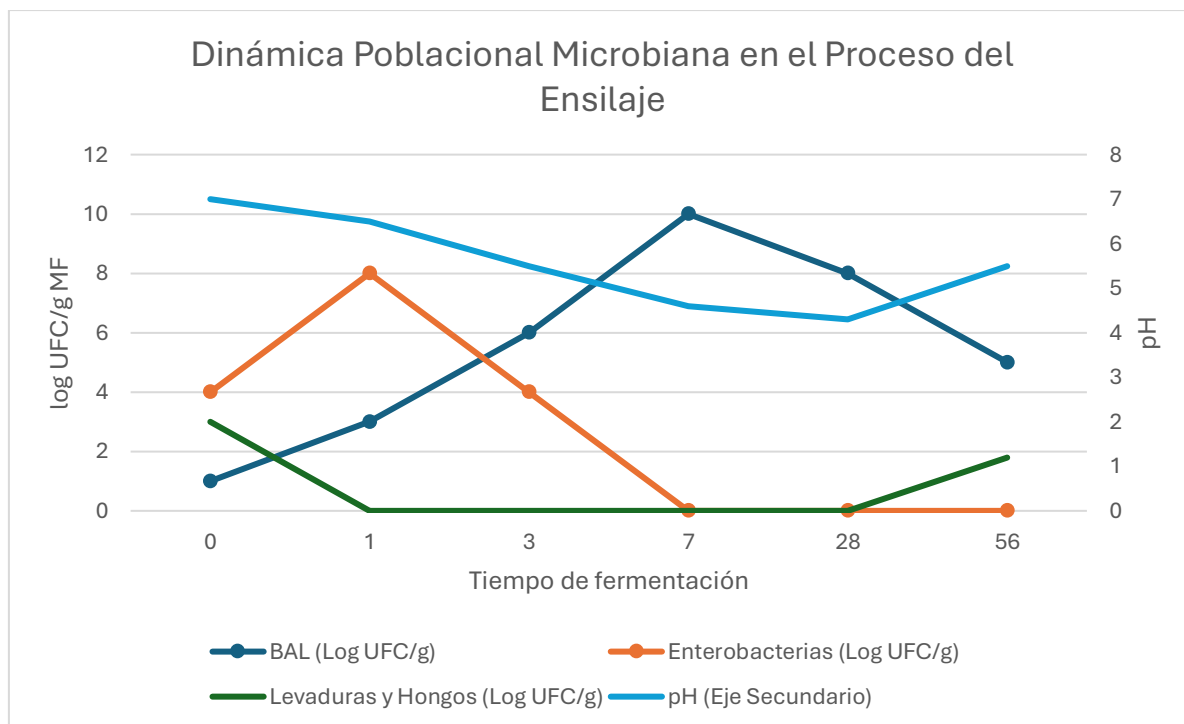
Proceso del ensilaje: Conservación Biotecnológica de forrajes



Nota. Proceso completo para la elaboración de ensilaje. "Imagen generada mediante la herramienta de IA Google Gemini, basándose en la información proporcionada por el autor"

Figura 2

Dinámica poblacional microbiana a través del tiempo y niveles de pH en el proceso del ensilaje



Nota. Adaptado de "Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms" (p. 3), L. Dunière, 2013, Animal Feed Science and Technology, Volumen (182) y de "Effects of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential on the fermentation profile and chemical composition of alfalfa silage in tropical conditions" (p. 1901), V. Silva et al. , Journal of Dairy Science, Volumen (99).

En la gráfica se observa cómo el tiempo de fermentación y el nivel de pH influyen de manera directa en la dinámica de poblaciones presentes en el ensilaje, como BAL; enterobacterias, mohos y levaduras. Se puede apreciar que la población de mohos y levaduras incrementa al abrir el silo. Por ende, una exposición temprana al oxígeno desviaría la dominancia de las BAL, dando a cabo la contaminación del silo.

10. ANEXOS

10.1 METODOLOGIA

La metodología aplicada en el desarrollo de esta monografía se basó en la recopilación y el análisis de artículos científicos relacionados con la microbiología del ensilaje y su proceso aplicado en la conservación de forrajes. Para ello se consultaron artículos originales, reviews y fichas técnicas publicados entre 1994 y 2026 con la finalidad de emparejar los fundamentos clásicos del ensilaje con los avances científicos más recientes relacionados con esta temática.

La información recopilada se tomó de bases de datos de alto impacto científico como: PubMed; MPDI; Google Scholar; Frontiers; Science Direct; ResearchGate; entre otras que garanticen calidad y confiabilidad de las fuentes consultadas. Los términos utilizados para la investigación fueron: ensilaje; silage; lactic acid fermentation; bacterias ácido-lácticas; acid lactic bacteria; ecología microbiana del ensilaje; aerobic deterioration; silage contaminants; mycotoxins; inoculants y genetically modified acid-lactic bacteria. Las fuentes bibliográficas empleadas fueron citadas y referenciadas conforme a las normas APA (7.^a edición), con la finalidad de asegurar el rigor académico respetando los derechos de autor.

De igual manera se aplicaron herramientas tecnológicas (Google Gemini AI) para el diseño de gráficos ilustrativos pertenecientes a la monografía, basada en la información redactada por el autor.