



**Pontificia Universidad Católica del Ecuador**

**Sede Ibarra**

**ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES**

**INFORME FINAL DEL PROYECTO**

**TEMA:**

Evaluación de la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica de ensilado de mezclas forrajeras influenciadas por un consorcio bacteriano

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:** Gestión sostenible y aprovechamiento de los recursos naturales

**SUBLINEA:** Desarrollo y sostenible

**AUTOR:** Omar Sebastian Palacios Quiroz

**ASESOR:** Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

Ibarra, 22 septiembre del 2023

Ibarra, 22 de septiembre de 2023

Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

ASESOR

**CERTIFICA:**

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigente en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.



Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

C.C.: 1002878286

**PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):



Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

C.C.: 1002878286

(f).....

Mónica Velástegui Moreno

C.C.: 0503323024

(f).....

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399

## **ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS**

Yo Omar Sebastian Palacios Quiroz, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 22 de septiembre del 2023



f):

Omar Sebastian Palacios Quiroz

C.C.: 0401787205

## **AUTORÍA**

Yo, Omar Sebastian Palacios Quiroz, portador de la cédula de ciudadanía N 0401787205, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



Omar Sebastian Palacios Quiroz

C.C.: 0401787205

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Omar Sebastian Palacios Quiroz, con C.C.: 0401787205, autor del trabajo de grado intitulado: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FERMENTATIVA Y ESTABILIDAD AERÓBICA DE ENSILADO DE MEZCLAS FORRAJERAS INFLUENCIADAS POR UN CONSORCIO BACTERIANO, previo a la obtención del título profesional de Ingeniero Zootecnista, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, 22 de septiembre del 2023



Omar Sebastian Palacios Quiroz

C.C.: 0401787205

**DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN,  
DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FERMENTATIVA Y ESTABILIDAD AERÓBICA DE ENSILADO DE MEZCLAS FORRAJERAS INFLUENCIADAS POR UN CONSORCIO BACTERIANO, lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 20 de marzo de 2023

Para constancia firma:



Omar Sebastian Palacios Quiroz

C.C/ Pasaporte: 0401787205

Carrera: Ingeniería Zootecnia

Ibarra, 22 de septiembre del 2023

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo dedico a mis padres, quienes han sido la pieza fundamental en este largo tiempo llamado universidad, por darme ánimo y fuerzas para seguir esforzándome y superando la adversidad y por sobre todo nunca dejaron de creer en mí.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Pontificia Universidad Católica Sede Ibarra por permitirme realizar el presente trabajo de titulación.

A mi directora de tesis que, con sus conocimientos y perseverancia, me ayudaron a culminar este trabajo.

Por último, agradecer a todas las personas que me brindaron apoyo con sus palabras a lo largo de este trayecto, por lo cual estoy infinitamente agradecido.

## ÍNDICE

DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
CAPÍTULO I	18
INTRODUCCIÓN	18
CAPÍTULO II	20
OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo general	20
2.2. Objetivos específicos	20
2.3. Hipótesis	20
CAPÍTULO III	21
ESTADO DEL ARTE	21
3.1. Pastos y forrajes	21
3.1.1. Pastos y forrajes del Ecuador	22
3.1.2. Producción de pastos y forrajes en la sierra ecuatoriana	22
3.2. Ensilaje	23
3.3 Procesos ligados a la planta	24
3.3.1 Capacidad buffer	24
3.3.2 Materia seca	25
3.3.3 Carbohidratos Solubles en la planta (CHOS)	25
3.4. Proceso de elaboración	26
3.5. Cambios de ensilaje	26

3.6. Tipos de ensilaje	29
3.6.1 Silo tipo trinchera	29
3.6.2 Silo tipo Bolsa	29
3.6.3 Silo bunker	29
3.7. Materias que se ensilan	30
3.7.1 Maíz	30
3.7.2 Alfalfa	30
3.7.3 Achicoria	31
3.7.4 Llantén	32
3.7.5. Aditivos	32
3.8. Inóculos bacterianos	32
3.8.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	33
3.8.2 <i>Lactobacillus kefir</i>	33
3.8.3 <i>Lactobacillus buchmeri</i>	33
3.8.4 <i>Pediococcus acidilactisi</i>	34
3.9 Consorcio bacteriano	34
3.10 Estabilidad aeróbica	35
CAPÍTULO IV	36
MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1 Materiales	36
4.1.1 Materiales de vegetativo	36
4.1.2 Materiales de laboratorio	36
4.1.3 Materiales de campo	37
4.2 Método	37
4.2.1 Ubicación	37
4.2.2 Tratamientos	38
4.2.3 Diseño experimental	39
	10

4.2.4 Unidades experimentales	40
4.2.5 Análisis de varianza	41
4.3 Variables en estudio	41
4.3.1 Manejo de la planta de maíz	41
4.3.2 Manejo de la planta de alfalfa	42
4.3.3 Manejo de la planta de achicoria	42
4.3.4 Manejo de la planta de Llantén	42
4.3.5 Proceso de ensilaje	42
4.3.6 Materia seca	43
4.3.7 Coeficiente de fermentabilidad	43
4.3.8 Proteína	44
4.3.9 Carbohidratos solubles en agua	44
4.3.10 Capacidad buffer	45
4.3.11 Recuento de levaduras	45
4.3.12 Medición de temperatura	45
4.4 Variables de control	46
4.4.1 pH	46
4.4.2 Temperatura	46
CAPÍTULO V	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
5.1 Evaluación de la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica en ensilaje de mezclas forrajeras influenciadas por un consorcio bacteriano.	47
5.1.1 Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza	47
5.2 Análisis estadísticos de las variables	49
5.2.1 Variables dependientes	49
5.2.1.1. Materia seca	49
5.2.1.2 Proteína	51

5.2.1.3 Capacidad Buffer	53
5.2.1.4 Levaduras	55
5.2.1.5 Temperatura (Estabilidad aeróbica)	56
5.2.1.6 Carbohidratos solubles en agua	57
5.2.1.7 Coeficiente de fermentabilidad	59
5.2.2 Variables de Control	60
5.2.2.1 pH	60
5.2.2.2 Temperatura	62
CAPÍTULO VI	63
CONCLUSIONES	63
CAPÍTULO VII	65
RECOMENDACIONES	65
CAPÍTULO VIII	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXOS	72

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Bacterias ácido lácticas reportadas en ensilajes	28
Tabla 2 Análisis de varianza de la investigación	41
Tabla 3 Prueba de normalidad de las variables de la investigación	47
Tabla 4 Análisis de varianza de la variable de materia seca (MS)	49
Tabla 5 Análisis de varianza de la variable de proteína	51
Tabla 6 Análisis de varianza de la variable capacidad buffer	53
Tabla 7 Análisis de varianza de la variable levaduras	55
Tabla 8 Análisis de varianza de la variable carbohidratos solubles en agua	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación del lugar donde se realizó el trabajo de investigación.	37
Figura 2 Ubicación de las diferentes unidades experimentales	41
Figura 3 Promedio de la variable de materia seca en ensilajes de mezclas forrajeras a los días	45 50
Figura 4 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable Proteína	52
Figura 5 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable Capacidad Buffer	53
Figura 6 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable levaduras	56
Figura 7 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable temperatura (estabilidad aeróbica)	57
Figura 8 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable carbohidratos solubles en agua	58
Figura 9 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable coeficiente de fermentabilidad	59
Figura 10 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable de control pH	61
Figura 11 Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable de control temperatura	61

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Materias primas a ensilar	72
Anexo 2.	Prueba de laboratorio de materia seca	72
Anexo 3.	Unidades experimentales	73
Anexo 4	Cultivo de levaduras	73
Anexo 5.	Análisis de INIAP	74
Anexo 6.	Tabla de datos	74

## RESUMEN

Las condiciones edafoclimáticas resultan ser limitante en la productividad de pasturas tanto en calidad como en cantidad durante todo el año, en tanto, el optar por un suplemento alimenticio de calidad a lo largo del año, se convierte en una alternativa eficiente en la producción animal, en tal virtud es el ensilaje una técnica de fermentación anaeróbica, la cual mantiene la calidad del pasto en el momento de corte, y puede utilizarse un sin número de especies forrajeras solas o en asociación a fin de vincular indicadores de calidad como: composición química, capacidad tampón, estabilidad aeróbica, etc., considerados al momento de la fabricación del ensilaje. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de un consorcio bacteriano (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus acidilactisi*), sobre la capacidad fermentativa, estabilidad aeróbica y contenido proteico en ensilaje de mezclas forrajeras, a los 45 días de elaboración, además se establecieron como variables de control temperatura y pH. Se empleó un diseño completamente al azar, donde se establecieron los siguientes tratamientos: T1 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75% - Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75% - Achicoria 25%), T5 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75% - Llantén 25%) y testigo T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%). Los resultados muestran que el T1 fue el mejor tratamiento en cuanto a capacidad fermentativa de 23,075 frente a T7 (testigo) con 21,613, en lo que respecta a estabilidad aeróbica todos los tratamientos se mantuvieron estables a las 24 horas frente al T7 (testigo), el cual incrementó la temperatura en 4°C sobre el ambiente; en lo referente a contenido proteico el T7 (testigo), obtuvo mejores resultados con 16,31% frente a los tratamientos. La incorporación del consorcio bacteriano provocó una rápida disminución de los niveles de pH, y los tratamientos inoculados mostraron una media de 3,63 frente al 4,05 del T7 (Testigo). Esto pone de manifiesto la eficacia de utilizar consorcios bacterianos para mejorar la capacidad fermentativa y la estabilidad aeróbica, garantizando un producto estable.

**Palabras clave:** Ensilaje, consorcio bacteriano, estabilidad aeróbica, planta de maíz, fermentabilidad.

## ABSTRACT

Edaphoclimatic conditions turn out to be limiting in the productivity of pastures both in quality and quantity throughout the year, while opting for a quality nutritional supplement throughout the year becomes an efficient alternative in animal production. As such, silage is an anaerobic fermentation technique, which maintains the quality of the grass at the time of cutting, and a countless number of forage species can be used alone or in association in order to link quality indicators such as: chemical composition, buffer capacity, aerobic stability, etc., considered at the time of silage manufacturing. The objective of this study was to determine the effect of a bacterial consortium (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus acidilactisi*), on the fermentative capacity, aerobic stability and protein content in silage of forage mixtures, after 45 days of production. In addition, temperature and pH were established as control variables. A completely randomized design was used, where the following treatments were established: T1 (Corn 50% - Alfalfa 50%), T2 (Corn 75% - Alfalfa 25%), T3 (Corn 50% - Alfalfa 50%), T4 (Corn 75% - Chicory 25%), T5 (Corn 50% - Alfalfa 50%), T6 (Corn 75% - Plantain 25%) and control T7 (Corn 65% - Alfalfa 35%). The results show that T1 was the best treatment in terms of fermentative capacity of 23,075 compared to T7 (control) with 21,613, with regard to aerobic stability all treatments remained stable after 24 hours compared to T7 (control), which increased the temperature by 4°C above the ambient; Regarding protein content, T7 (control) obtained better results with 16.31% compared to the treatments. The incorporation of the bacterial consortium caused a rapid decrease in pH levels, and the inoculated treatments showed an average of 3.63 compared to 4.05 for T7 (Control). This highlights the effectiveness of using bacterial consortia to improve fermentative capacity and aerobic stability, guaranteeing a stable product.

**Keywords:** Silage, bacterial consortium, aerobic stability, corn.

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

En diversas zonas del mundo se desarrolla el ensilaje como un método de conservación a través de la fermentación anaeróbica de los forrajes. Se estima que 200 millones de toneladas de materia son destinadas a la elaboración de ensilaje. El costo varía entre cada país, aunque existe un promedio entre 100 y 150 dólares. En Europa, los ganaderos almacenan más del 90% de su forraje de forma de ensilaje; esto depende de la estacionalidad climática. Las especies que se destacan para este proceso son: maíz, alfalfa, pasto, en menor cantidad trigo, sorgo y leguminosas (Gárces et al. 2004, p. 89).

El principal componente en la elaboración del ensilaje es el maíz dado a su gran rendimiento en biomasa, el cual es 35-95 t./ha (Castillo et al. 2009, p. 12). Hay que destacar que tiene un alto valor en energía que varía entre 1,35 a 1,45 Mcal/kg MS (National Research Council [NRC], 2001), una digestibilidad que oscila entre 659-690 g/kg MS, sin embargo, el contenido de proteína es bajo, pues se encuentra entre 70- 80 g/kg MS (Darby y Laurier, 2002). En la actualidad, se ha optado por realizar el ensilaje de rastrojos de maíz, es decir, utilizar el forraje verde sin la mazorca. Según Ferreira et al. (2013), para la utilización de la planta de mazorca tuvieron valores de proteína bruta alrededor del 5%, en lo que se refiere a carbohidratos solubles en agua contaron con resultados entre 3,40 % y 8%, esto va a depender del estado de madurez de la planta, entre mayor sea FDN (fibra detergente neutra) y FDA (fibra detergente acida) menor va a ser el resultado de CHA (carbohidratos solubles en agua). (p.78)

El uso de alfalfa, achicoria o llantén surgen como una alternativa para complementar el ensilaje tomando como base el maíz, pues este presenta niveles bajos de proteína. Existe evidencia que con leguminosas el contenido de PB (proteína bruta) ha aumentado, de la misma manera el contenido de MS, hemicelulosa y lactato (Schmidt et al. 2009p. 34). Además, McDonald (1981), afirma que “la capacidad buffer de las leguminosas aumenta de 3 a 4 veces en el proceso de

ensilaje, debido a la producción de ácidos orgánicos y con esto puede desarrollarse fermentaciones no adecuadas que van a llevar la producción de ácido butírico y acético.”

De acuerdo con Castillo (2009), el proceso de elaboración de ensilaje a partir de mezcla de maíz con leguminosas en una proporción no mayor al 40% no tiene resultados negativos en su capacidad fermentativa.

Cabe mencionar que para el proceso de ensilaje de leguminosas se recurre al uso de consorcios bacterianos, que son una mezcla de bacterias homolácticas y hetero lácticas, aseguran una disminución rápida de pH y minimizan la pérdida de nutrientes y materia seca. Hace algunos años atrás se utilizaban cepas de bacterias únicas, es decir, sin asociación con otras, como es el caso de *Lactobacillus buchneri*, que se ha venido utilizado como inoculante porque convierte el ácido láctico en ácido acético en condiciones anaeróbicas y se ha comprobado que tiene características anti fúngicas. Sin embargo, se ha propuesto combinar con bacterias homolácticas para potenciar la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica (Driehuis et al. 2001,p 65).

Recientemente se han desarrollado inoculantes con doble propósito, es decir, contienen bacterias hetero fermentativas y homofermentativas. Su función es la de mejorar la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica, se ha reportado efectos positivos como lo afirma Huisden et al. (2009).

La metodología de la investigación se realizó mediante una breve investigación bibliográfica, también se aplicarán pruebas en ensilaje de maíz-alfalfa, maíz- llantén y maíz-alfalfa. Las 6 variables a medir son: materia seca, capacidad buffer, carbohidratos solubles en agua, proteína, recuento de levaduras y estabilidad aeróbica.

La investigación tiene el objetivo de analizar el ensilaje de mezclas forrajeras, que es añadida con un consorcio bacteriano mediante el análisis de diferentes variables. Esto servirá como base para la elaboración de ensilaje que puede ser usada por los ganaderos de la zona norte de Ecuador.

## CAPÍTULO II

### OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo general

- Evaluar la influencia de un consorcio bacteriano sobre la capacidad fermentativa, estabilidad aeróbica y contenido proteico en ensilado de mezclas forrajeras, mediante pruebas de laboratorio.

#### 2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el coeficiente de fermentabilidad en ensilados mediante pruebas de laboratorio.
- Determinar el contenido de proteína en ensilados de mezclas forrajeras a través de pruebas de laboratorio.
- Analizar la estabilidad aeróbica en ensilados a través de la toma de temperatura y recuento de levaduras.

#### 2.3. Hipótesis

**Ha:** La adición de un consorcio bacteriano en ensilados de mezclas forrajeras, mejora la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica.

**Ho:** La adición de un consorcio bacteriano en ensilados de mezclas forrajeras, no mejora la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica.

## CAPÍTULO III

### ESTADO DEL ARTE

#### 3.1. Pastos y forrajes

En Nueva Zelanda, Países Bajos y otros que cuentan con cuatro estaciones, los pastos y forrajes son el principal alimento para las dietas de los bovinos y representa el 90% de su dieta. Los países anteriormente mencionados se dedican al proceso de ensilaje de pastos y forrajes para solventar la disponibilidad de alimento en épocas donde el crecimiento es limitado (Bonifaz et al. 2018,p.156).

Los pastos y forrajes son plantas monocotiledóneas, por lo general son gramíneas y en algunas ocasiones son leguminosas, las mismas que son utilizadas en la preparación de henos, pastoreo y ensilaje. De acuerdo con Jiménez (2009), es imposible conocer la cantidad de variedades existentes de pastos y forrajes, dado que existen alrededor de 12 000 tipos de gramíneas. Existen categorías más conocidas que otras, pues se han ido derivando y haciendo uso de las ventajas nutritivas de los mismos (p.44).

La amplia variedad de pastos y forrajes existentes hacen que no haya características específicas del suelo y tampoco intervalos exactos de temperatura que definen en cuales son más resistentes. Sin embargo, Rodríguez (2011), expresa que en climas calientes los pastos y forrajes son más resistentes, aunque poseen bajo nivel nutricional; mientras que, aquellos que se desarrollan en climas fríos suelen ser menos resistentes, pero tienen más nutrientes. También, es importante considerar que el nivel de plagas es proporcional al nivel de variedades de pastos y forrajes.

Desde una óptica económica y administrativa, se comprende que los pastos y los forrajes son recursos de bajo costo y con una facilidad de producción relativamente fácil. En su proceso de producción se requiere disponibilidad de terreno, mano de obra y cierta experiencia en el cultivo (Veléz, 2002).

### **3.1.1. Pastos y forrajes del Ecuador**

La sierra ecuatoriana presenta características para la producción de forraje durante todo el año. Sin embargo, en zonas altas (más de 3000 m s.n.m.), en la época climática de verano, la producción de pasto disminuye aproximadamente un 50% en cuanto al rendimiento en base a materia seca, lo cual limita una producción animal eficiente, por falta de alimento en cantidad y calidad a lo largo del año (Paladines, 2010).

Solano (2010), considera que en el Ecuador la época seca corresponde a los meses de junio, julio, agosto y septiembre; siendo estos como meses decisivos para la producción de forraje debido a la escasez de lluvias y presencia de heladas, por lo que los ganaderos optan por alternativas de suplementación como: la conservación de forrajes y siembra de especies forrajeras tolerantes a la sequía.

Los aspectos que el productor debe tomar en cuenta al momento de suplementar son: valor nutricional, cantidad y costo beneficio. En este punto, se debe tomar la mejor decisión en referencia a los recursos con los cuales cuenta la fina para tener una producción animal eficiente (Viera y Cardozo, 2016).

### **3.1.2. Producción de pastos y forrajes en la sierra ecuatoriana**

La región de la sierra presenta propiedades para la producción de forraje durante todos los meses. Entre las especies que se destinan para su siembra están festucas, raygrass perennes, avena, vicia, trébol, llantén y achicoria. Sin embargo, en zonas altas (más de 3000 m s.n.m.), en la época de verano o época seca la producción de pasto disminuye aproximadamente un 50% en cuanto al rendimiento, lo cual limita una producción animal eficaz, por falta de alimento en cantidad y calidad a lo largo de los doce meses (Bonifaz et al. 2018).

El uso de alternativas como el ensilaje, henolaje y uso de especies forrajeras tales como: nabo forrajero, remolacha forrajera y llantén son las principales opciones que toma el ganadero ecuatoriano, al mismo tiempo hay que tomar en cuenta el costo de producción de estos tipos de suplementación (Saldaña, 2018).

Alternativas industriales también están presentes en la dieta de los animales, las materias más comunes que se usan los ganaderos ecuatorianos son: subproductos de maíz, quinua, amaranto, productos del procesamiento de alimentos y productos agroindustriales como banano de rechazo, entre otros. Entre los suplementos proteicos se encuentra: harina de gluten de maíz, semilla de girasol, harina de maní, harina de palmiste, germen de malta, pulpa de cítricos, entre otros (Gárceces et al. 2004, p. 145).

### **3.2. Ensilaje**

El proceso de elaboración de los silos está catalogado como una práctica muy conocida alrededor del mundo. Su objetivo es preservar los alimentos, ya sean estos granos y forrajes. Tomando como referencia a Martínez et al. (2014), el ensilaje es un método práctico y tan económico que logra conservar el sabor y valor nutritivo de los alimentos, aumentados por la adición de aditivos como melaza que contribuyen con el aumento de carbohidratos solubles para producir la fermentación y cuando se utiliza en la dieta del ganado se transforma en energía. El silo se puede considerar como un suplemento en la alimentación animal. Este proceso es de gran impacto ambiental, económico y sostenible pues permite asegurar que haya alimentos durante las épocas de escasez.

A escala de Ecuador, Gualoto (2013), afirma lo siguiente:

No existe información registrada en el Ecuador sobre la producción de ensilaje de maíz, la mayoría de información que se encuentra registrada en base de datos de autocapacitación en la tecnología de investigación de otros países y adaptando esta información a las necesidades locales (p.19).

Desde una óptica más enfocada a la ciencia, se considera como un método de conservación en donde, los pastos y forrajes tienen un valor entre 60-70% de humedad y 30% de materia seca. Su proceso está fundamentado en la fermentación de los azúcares. Su tiempo de duración es largo, ya que puede guardarse sin una proliferación bacteriana. Su proceso se realiza a través de fermentación anaeróbica, donde las bacterias ácido lácticas desdoblan los azúcares transformándose en ácido láctico, el cual contribuye al disminuir el pH a 4 y con ello se establece una estabilidad aeróbica, es decir, al momento de la apertura del silo, el forraje conservado

tiende a permanecer más tiempo expuesto al ambiente sin que las bacterias aeróbicas se descompongan (Viera y Cardozo, 2016).

De acuerdo con Castillo et al. (2011) algunos ensilajes debido a sus condiciones, no llegan a tener una capacidad de fermentación alta, provocado por la baja cantidad de carbohidratos solubles, entonces se emplean inoculantes bacterianos para optimizar el proceso y evitar tener ensilajes de baja calidad nutricional. Las diferentes plantas que son destinadas para el proceso del ensilaje tienen una variabilidad en el contenido de carbohidratos y esto se debe a: madurez de la planta, hora de cosecha y condiciones meteorológicas (p.56).

Los procesos de transformación pueden ser diversos:

- Fermentación acética
- Fermentación láctica

Estos dos tipos de transformación surgen en ambientes sin oxígeno.

Por otro lado, existen también procesos de fermentación que no son deseables:

- Fermentación butírica
- Fermentación alcohólica

### **3.3 Procesos ligados a la planta**

#### **3.3.1 Capacidad buffer**

Se define a la característica que tiene las plantas de la resistencia a cambios de pH. Para el proceso el ensilaje es un indicador importante, debido a que este va a definir la capacidad fermentativa del proceso. El estado fenológico de la planta es fundamental, debido a que la relación tallo/ hoja se reduce conforme avanza el tiempo, a su vez también el contenido de carbohidratos solubles en agua, por lo que la capacidad buffer va a reducirse conforme aumenta la madurez de la planta. Entre mayor sea la capacidad buffer será necesario aumentar la producción de ácido láctico para llegar a pH alrededor de 3,5 por lo tanto, se necesitará mayor cantidad de azúcares solubles (De la Roza, 2005).

La capacidad varía según la especie forrajera, McDonald et al. (1991), afirma que los valores oscilan entre 200 y 600 meq NaOH/ kg MS. En forrajes, las gramíneas tienen menor capacidad también que las leguminosas. Para rye grass el valor oscila entre 250 y 400 meq NaOH/ kg MS, 500 -600 para trébol y alfalfa meq NaOH/ kg MS, debido a esto resulta muy difícil ensilar leguminosas. Sin embargo en asociación con especies que tengan un alto contenido de azúcares solubles, su capacidad tampón baja gradualmente, como lo afirma Castillo et al. (2009), en maíz en asociación con vicia (*Vigna radiata*) encontró valores entre 52,4 y 89,8 meq NaOH/ kg MS.

### **3.3.2 Materia seca**

El contenido de materia seca del forraje a ensilar juega un papel muy importante a causa de que controla la los efluentes y pérdidas de carbohidratos. Cuando el forraje se encuentra entre 25% o mayor se reduce la pérdida por efluentes significativamente, a la vez permite un dominio de las bacterias ácido lácticas en la fermentación (McDonald et al. 1991,p. 145).

Otra característica relevante relacionado al contenido de materia seca, es que las bacterias del género *Clostridium*, requieren de humedad para su crecimiento y son perjudiciales para la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica del ensilaje. Un contenido alrededor del 30% inhibe el crecimiento de estas bacterias, en cambio, cuando la materia seca es menor al 20% favorece el crecimiento de estos microorganismos. El contenido óptimo para no afectar a la capacidad fermentativa debe ser entre 30 a 35 %, estos valores han sido comprobados que minimizan las pérdidas del ensilaje (Martínez, 2003).

### **3.3.3 Carbohidratos Solubles en la planta (CHOS)**

Los carbohidratos simples son denominados solubles en agua, entre esto están: monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. Estos son indispensables para el proceso de fermentación, debido a que son la fuente principal de energía para las bacterias ácido- lácticas, su bajo contenido puede limitar la condición de fermentación, a causa de que no se logra reducir el pH a las condiciones óptimas (Suárez et al. 2016,p. 57).

Todos estos factores hacen que la concentración de azúcares sea tan variada, por lo que puede variar entre ensilajes de la misma planta, sin embargo, Cajarville et al. (2007), encontró que la temperatura, intensidad de luz, la precipitación del día anterior y la hora de cosecha tienen la mayor relevancia en la concentración de azúcares que la madurez de la planta.(p.89)

La concentración recomendada para no afectar a la capacidad fermentativa del ensilaje, debe tener al menos entre 12 al 15% de carbohidratos solubles en base seca (Martínez, 2003).

### **3.4. Proceso de elaboración**

Para realizar el ensilaje, el primer paso es observar y analizar el forraje a utilizar, posteriormente con el uso de una picadora, se tritura con una longitud menor de 2,5 cm para facilitar el proceso de compactación. Esto va a depender del tipo de silo que se llegue a realizar, si es un silo tipo bunker se necesita de un tractor para la compactación, la primera capa no debe superar los 20 cm. Luego cada capa se debe rociar algún aditivo que sea elegido por el ganadero para optimizar y aumentar la capacidad fermentativa, se debe repetir este proceso hasta llenar el espacio (Birmania, 2016).

Castillo et al. (2011) recomienda que se debe tener en cuenta la siguiente fórmula: de 1% de urea y 2,5 % de melaza para la elaboración del ensilaje. Este debe ser calculado para el proceso del día (p.87).

### **3.5. Cambios de ensilaje**

El proceso de conservación se divide en las siguientes etapas:

- Fase aeróbica

Comienza cuando se cierra el sitio, este puede ser una funda, tanque o un bunker y su duración sin sufrir pérdida por efluentes o fermentaciones aerobias variará dependiendo de la cantidad de oxígeno, carbohidratos solubles, bacterias productoras de ácido láctico. Los primeros cambios empiezan por las enzimas que desdoblan los carbohidratos para formar carbohidratos simples, como los carbohidratos solubles. Este proceso finaliza cuando la cantidad de oxígeno en el ambiente se reduce y de la misma manera descomponen las proteínas en compuestos como aminoácidos, péptidos, amidas y amonio (Callejo, 2018).

Esta fase está limitada a varias horas y se caracteriza por la disminución de  $O^2$ , esto forma parte de la respiración del forraje y esto va acompañado de la generación de calor; algunas enzimas vegetales como las proteasas que inician el desdoblamiento de las proteínas en aminoácidos y las carbohidrasas aumentan la cantidad de azúcares que van a estar disponibles para la fermentación (Pahlow et al. 2003,p.7).

- Fase de fermentación

Se la conoce como fermentación acética, esta puede tener una duración de una semana hasta un mes, esto va a depender del cultivo que ha sido ensilado, empiezan la actividad microbiana cuando se ha eliminado todo el  $O^2$ . Las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, tales como clostridios, algunos bacilos y levaduras inician la búsqueda alimento, a la par con BAL (Bacterias ácido lácticas), por último, finaliza con la desaparición de las enterobacterias (Ferreira et al. 2013,p. 15).

Los signos que se observan producción de gas y efluentes y la reducción de la masa de ensilado, este último ocurre en forrajes con alto contenido de humedad. La velocidad de esta etapa va a depender de la rapidez de disminución de pH y la producción de ácido láctico (Da Silva et al. 2021).

- Fase de estabilidad

Inicia cuando la cantidad de ácido láctico es suficientemente alta para descender el pH por debajo de 4, en este ocurre que las enzimas tolerantes a un ambiente ácido siguen provocando una hidrólisis de los carbohidratos estructurales y de almacenamiento, esto proporciona un suministro estable de carbohidratos solubles, a la par, ocurre que las proteasas participan en la conversión final de compuestos de nitrógeno a amoníaco ( $NH_3$ ) (Da Silva et al. 2021,p.79).

La población de BAL disminuye debido al ambiente ácido que se ha formado, algunas levaduras que son altamente tolerables a pH bajo sobreviven en un estado inactivo, junto con clostridios y bacilos, pasan a un estado de latencia como endosporas (Villacrés, 2017).

**Tabla 1***Bacterias ácido lácticas reportadas en ensilajes*

Género	Fermentación de glucosa	Isómero del ácido láctico	Especie	
<i>Lactobacillus</i>	Homofermentativo	DL	<i>L. acidophilus</i>	
		L	<i>L. casei</i>	
		D(L)	<i>L. corynifonmis</i>	
		DL	<i>L. curvatus</i>	
		D	<i>L. delbruckii</i>	
		DL	<i>L. graminis</i>	
		DL	<i>L. helveticus</i>	
		DL	<i>L. homohiochii</i>	
		D	<i>L. jensenii</i>	
		L/DL	<i>L. paracasei ssp</i>	
		DL	<i>L. pentosus</i>	
		DL	<i>L. plantarum</i>	
		L	<i>L. salivarius</i>	
		Heterofermentativo	DL	<i>L. brevis</i>
			DL	<i>L. buchneri</i>
	DL		<i>L. collinoides</i>	
	DL		<i>L. confusus</i>	
	L		<i>L. divergens</i>	
	DL		<i>L. fermentum</i>	
	D(L)		<i>L. fructosus</i>	
	DL	<i>L. reuteri</i>		
	DL	<i>L. viridescens</i>		
<i>Pediococcus</i>	Homofermentativo	DL	<i>P. acidilactisi</i>	
		DL	<i>P. damnosus</i>	
	Heterofermentativo	DL	<i>P. inopinatus</i>	
		DL	<i>P. parvulus</i>	
		DL	<i>P. pentosauceus</i>	

<i>Leuconostoc</i>	Heterofermentativo	D	<i>Leuc mesenteroides</i>
		D	<i>Leuc oenos</i>
		D	<i>Leuc. paramesenterides</i>
<i>Enterococcus</i>	Homofermentativo	L	<i>Ec. faecalis</i>
		L	<i>Ec. faecium</i>
<i>Lactococcus</i>	Homofermentativo	L	<i>Lc. lactis</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	Homofermentativo	L	<i>Sc. bovis</i>

Nota. D, DL, L son isómeros ópticos

### 3.6. Tipos de ensilaje

#### 3.6.1 Silo tipo trinchera

Garcés et al. (2004), argumentan que el modelo de silo tipo trinchera, se realiza en el suelo o también en construcción de 3 paredes que superan los dos metros, la profundidad va a depender de la cantidad de forraje a ensilar. Sin embargo, alrededor de 3 metros es recomendable aún. Por último, debe apreciarse la pendiente para la producción de lixiviado de ensilaje, su cubrimiento debe ser con plástico mayor a 4 mm, con protección UV.

#### 3.6.2 Silo tipo Bolsa

Según Lino (2014), recomienda el uso de bolsas plásticas de calibre 3 mm, lo que significa un mayor grosor para evitar agujeros que van a ser causados por trozos del ensilado, además de tener protección UV es el más popular debido a su bajo costo por unidad. Sin embargo, no se puede usar más de dos veces, debido a que en su manipulación se llega a tener agujeros y es inservible, debido a que no garantiza la protección necesaria para la no presencia de oxígeno.

#### 3.6.3 Silo bunker

En su elaboración no presenta un mayor reto, su costo económico es alto, se utiliza galvanizado para su sostenimiento, se recubre con plástico. Además, puede ser instalado en el suelo donde

consiste en instalar un plástico en el suelo, colocar el forraje y apisonar con tractor o alguna otra maquinaria agrícola que pueda garantizar la eliminación de los espacios de aire entre las capas, su recubrimiento se recomienda con tierra, llantas (Paladines, 2010).

### **3.7. Materias que se ensilan**

Las materias que se realizan para el proceso de ensilaje es el maíz, en menor cantidad se encuentra el forraje tal como es el raygrass y avena. Para obtener un adecuado proceso de fermentación se debe tomar en cuenta el contenido de proteína, porque al tener un porcentaje menor al 17% se recurre al uso de inoculantes para mantener una capacidad de fermentación alta (Lindqvist et al. 2012,p.78).

#### **3.7.1 Maíz**

El maíz es un cultivo que se utiliza para realización de ensilaje debido a su alto contenido de azúcares, las mismas que permiten una rápida fermentación y ayudan a llegar a tener un producto de altísimo valor energético; aunque también se da en forma de forraje fresco a los bovinos, cuando la oferta de pasto ha disminuido por factores climáticos. Su energía proviene de dos fuentes: rastrojo o material forrajero. Este último es el resultado después de la cosecha del fruto, proporciona energía digestible alrededor del 40-80% y la mazorca está compuesta por almidón, principal carbohidrato que está disponible para la fermentación y alrededor de 85% es energía digestible (Jiménez, 2009, p. 5).

Las características más importantes que destacan del maíz de ser la primera opción a ensilar son: alta concentración de azúcares fermentables (5-20 % MS), baja capacidad buffer (25- 75) meq NaOH/ kg MS, por último, tiene una abundante población de bacterias productoras de ácido láctico. Desde el punto nutricional aporta 1,49 Mcal/kg MS, sin embargo, en proteína se encuentra alrededor del 7% (Cubero et al. 2010).

#### **3.7.2 Alfalfa**

Es una especie de adventicia perenne de vida corta (2-3 años). Su crecimiento es erecto, su raíz es de forma pivotante, sus hojas son basales, dentadas y crecen en forma de roseta. Su adaptación

va desde los 1800-3600 msnm, su capacidad de resistencia al verano es muy alta debido a su raíz pivotante, requiere de suelos con muy buen drenaje para no llegar a tener problemas de baja cantidad de forraje, responde a la fertilización de nitrógeno con 150% más de forraje que al no fertilizar (Bonifaz et al. 2018, p.134).

Ogunade et al. (2017), afirma que la alfalfa es una especie de leguminosa muy difícil para el proceso de ensilaje, esto se debe a una baja concentración de materia seca, carbohidratos solubles en agua y una alta capacidad buffer, para minimizar estas características se recurre el premarchitamiento del forraje para aumentar la concentración de carbohidratos solubles, como lo afirma Valinotti (2010) que en materia verde aumento desde 2,1% con 19% de materia seca hasta un 3,5% cuando se marchito hasta un 44,3% de MS.

Para leguminosas se recurre a la incursión de bacterias ácido lácticas como lo resalta Muck y Kung (2007), donde recomiendan que en el proceso de elaboración una dosis de  $\geq 105$  UFC/g de inoculante bacteriano logra disminuir considerablemente el crecimiento de bacterias del género Clostridium y llegar a tener un ensilaje apto para el consumo animal.

### **3.7.3 Achicoria**

Es una especie de adventicia perenne de vida corta (2-3 años), su crecimiento es erecto, su raíz es de forma pivotante, sus hojas son basales, dentadas crecen en forma de roseta. Su adaptación va desde los 1800-3600 m s.n.m, tiene una resistencia al verano muy alta por su raíz pivotante, requiere de suelos con muy buen drenaje, responde a la fertilización de nitrógeno con 150% más de forraje que al no fertilizar (Bonifaz et al. 2018, p.60).

Al ser una especie forrajera que pertenece a leguminosas presenta características que no están acorde con el proceso de ensilaje, debido a su bajo contenido de materia seca, baja concentración de carbohidratos solubles y su alta capacidad buffer, por ello se recurre a estrategias como presecado, uso de aditivos biológicos para favorecer una capacidad fermentativa alta (Kung Jr et al. 2000, p. 18)

### **3.7.4 Llantén**

El llantén es un forraje de tipo perenne. En condiciones óptimas de suelo supera los 60 cm, tiene un valor de proteína alrededor del 13,5%, presenta una apariencia de flores de color café cuando alcanza la maduración, su forma es de espigas cilíndricas que forman un largo tallo. En la actualidad se lo cultiva por su capacidad de soportar sequías sin disminuir su oferta forrajera y altas temperaturas (Buitrago, 2017, p. 4).

El llantén ha sido una nueva especie que no se reportados resultados en cuanto al proceso de ensilaje, sin embargo, Buitrago (2017), en su investigación reporta que se obtuvo resultados de materia seca alrededor de 24%, lo mas importante es que tuvo en proteína 14,6% resaltando así su gran capacidad de aportar proteína al ensilaje, sin embargo, al tener alto este valor su capacidad buffer va a ser muy alta, lo cual afecta negativamente a la estabilidad del proceso de ensilaje, debido a esto recomienda ensilaje de gramíneas y especies con alto valor de proteína.

### **3.7.5. Aditivos**

Se consideran aditivos a las sustancias químicas que se agregan a ciertos compuestos que hacen que tengan cualidades más óptimas. En el caso de los ensilajes, se los emplea para acelerar el proceso de fermentación como melaza, maíz triturado, pulpa de frutas en especial de cítricos. Cuando el silaje tiene niveles de humedad mayores al 70%, estos aseguran que el nivel de azúcar soluble sea el ideal para cubrir todo el proceso de ensilaje. Garcés et al. (2004), menciona que otro tipo de aditivos son los inóculos que son bacterias vivas disponibles comercialmente y que agregando ciertas bacterias ácido lácticas (BAL) pueden acelerar y mejorar el proceso del ensilaje (p.67).

### **3.8. Inóculos bacterianos**

Los inóculos bacterianos son productos comerciales que están compuestos por altos niveles de bacterias ácido lácticas. Su función consiste en incrementar la población natural de bacterias para producir una eficiente y rápida fermentación del silo. En concordancia con Tobías (2000): “estos aditivos presentan algunas ventajas sobre los otros tipos de aditivos, incluyendo su bajo costo, seguridad en su manejo, baja tasa de aplicación por tonelada de forraje picado y no

contaminan el ambiente”. Es así, que estos son un complemento entre economía y eficiencia productiva.

### **3.8.1 *Lactobacillus plantarum***

Es la especie más común para el proceso de ensilaje, pertenece a especie hetero fermentativo facultativo, son caracterizados por su producción de ácido acético a partir de hexosas y algunas pentosas muy específicas, su producto final pueden ser alguno de estos dos: ácido láctico o ácido acético y etanol. Otra ventaja que presenta es la estimulación del proceso fermentativo, además no presenta alguna actividad como inhibidor del deterioro aeróbico en el ensilaje (Contreras, 2014).

### **3.8.2 *Lactobacillus kefir***

Pertenece al grupo de hetero fermentativo obligatorio, por lo cual el proceso es igual a *Lactobacillus buchneri*, su función principal es la estabilidad aeróbica, es decir, el ensilaje tiene una duración mayor y su pérdida por fermentaciones aeróbicas es menor (Narvaéz, 2013).

### **3.8.3 *Lactobacillus buchneri***

Forma parte del grupo hetero fermentativos obligados, el proceso de catabolismo inicia en hexosas y pentosas para obtener 1 molécula de ácido láctico, una molécula de CO<sub>2</sub> y una molécula de ácido acético o una de etanol. Debido a que su producción de ácido acético mejora la estabilidad aeróbica, inhibe la producción para levaduras y hongos que provocan el aumento de temperatura en el ensilaje (Tabaco et al. 2011).

Se introdujo en el mercado desde el 2002, se ha documentado efectos de aumentar la cantidad de ácido acético y minimizar la cantidad de levaduras y mohos. Li et al. (2022) afirmó en su estudio sobre Efecto de inoculantes de bacterias ácido lácticas homofermentativas sobre las características de fermentación y las comunidades bacterianas y fúngicas en ensilaje de alfalfa que: “el tratamiento con el inoculante en este estudio fue muy beneficioso ya que provocó una caída más rápida del pH y un tipo de fermentación más homoláctica.”

### 3.8.4 *Pediococcus acidilactisi*

Pertenece a la especie homo fermentativo, su proceso para degradar carbohidratos empieza en pentosas para formar ácido láctico o acético, forma parte de las especies que ayudan a mejorar la capacidad fermentativa del ensilaje (Kleinschmit y Kung, 2006).

### 3.9 Consorcio bacteriano

El uso de consorcios bacterianos en la producción de ensilajes se vuelve cada vez más eficiente debido a que las cualidades de cada bacteria por separado interactúan con otras para mejorar las capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica, tal es el caso de *Lactobacillus buchneri* que ayuda en la estabilidad aeróbica, en cambio *Lactobacillus plantarum* actúa en la disminución de pH, por lo cual se complementan para llegar a una capacidad fermentativa excelente (Da Silva et al. 2021).

Tabaco et al.,(2011), en su investigación afirma que la adición de *L. buchneri* mejora la estabilidad aeróbica y mantiene el nivel nutricional a razón de  $1 \times 10^6$  en su aplicación por lo cual aumenta el rango de la no presencia hongos y fermentación aerobia hasta por 7 días desde su primera exposición; sin embargo, se obtuvo datos de pH más altos y valora de ácido acético y concentración más baja de ácido láctico, llegando a la conclusión de que *lactobacillus buchneri* no mejora la capacidad fermentativa del ensilaje pero si aumenta su estabilidad aeróbica hasta por 7 días. Para Kleinschmit y Kung (2006), reportaron que *L. buchneri* y *L. plantarum* afectó la producción de ácido acético lo que conlleva a una reducción de 10 veces menor la población de levaduras en relación al testigo, logrando una estabilidad de 500 horas, sin embargo, la presencia de *lactobacillus plantarum* afectó la rápida disminución de pH contribuyendo a una pronta estabilidad del ensilaje. En la investigación hecha por Da Silva, et al. (2021), confirma que *Peddiococcus spp* y *L. buchneri* aumenta la estabilidad aeróbica en 1.8 veces respecto al grupo de control.

De acuerdo con Narváez (2013), afirma que la adición de producto comercial llamado Lactosilo y Sil-All 4x4, el cual es un consorcio de bacillus más *Pediococcus* y *Enterococcus*, al aplicarlo en ensilaje de maíz contribuye a mejorar la capacidad fermentativa, disminuir en la producción de efluentes en el silo, además de llegar a una estabilidad aeróbica, frente al testigo T1(sin inóculo).

### **3.10 Estabilidad aeróbica**

La estabilidad aeróbica es una característica que consiste en la resistencia del material ensilaje al deterioro al momento de la apertura del silo, es decir, el tiempo en que se demora en cambiar sus propiedades físicas y químicas del forraje ensilado, además para este indicador se toma el tiempo que le toma al silo en aumentar 2°C de temperatura del silaje sobre la temperatura del ambiente (Jobim et al. 2007,p.31).

El uso de aditivos químicos con propiedades antifúngicas ha mejorado la estabilidad aeróbica, como es el ácido propiónico aplicado al 0,3% del forraje fresco, también el uso de sorbato de potasio y benzoato de sodio, sin embargo, estos han presentado ineficacia en el crecimiento de levaduras y mohos. Su modo de acción es atravesar la membrana celular y liberar sus protones en el citoplasma, de esta forma acidificando el medio intracelular (Kleinschmit y Kung, 2006)

Los inoculantes bacterianos han demostrado aumentar el rango de tiempo de estabilidad aeróbica, hay dos cepas comerciales de *Lactobacillus buchneri* a una tasa de aplicación de  $1 \times 10^5$  ufc/g, por último, la eficacia de estos inoculantes bacterianos varía de un año a otro (Muck , 2002).

## **CAPÍTULO IV**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1 Materiales**

**Para el establecimiento de la investigación se necesitaron los siguientes materiales:**

##### **4.1.1 Materiales de vegetativo**

- Forraje de maíz sin mazorca
- Llantén
- Achicoria
- Alfalfa

##### **4.1.2 Materiales de laboratorio**

- Estufa
- Pinza
- Vaso de precipitación
- Probeta
- Pipeta
- Bureta
- Pera de succión
- Papel filtro
- Agar Sabouraud Dextrose agar
- Mechero de alcohol
- Balón aforado
- Sobre de papel

- Embudo
- Ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico (0,1 N)
- Hidróxido de sodio (0,1 N)
- Ácido clorhídrico (0,2 N)
- Ácido Bórico al 4%
- Rojo tashiro 4%
- Pastilla catalizadora
- Agua destilada
- Potenciómetro
- Termómetro

#### **4.1.3 Materiales de campo**

- Fundas de plástico de grosor de 3mm
- Balanza digital gramos (Camry EK3650)

## **4.2 Método**

### **4.2.1 Ubicación**

La presente investigación se llevó a cabo en el caserío Santa Isabel, cantón Mira, provincia del Carchi. El lugar se encuentra en las siguientes coordenadas:

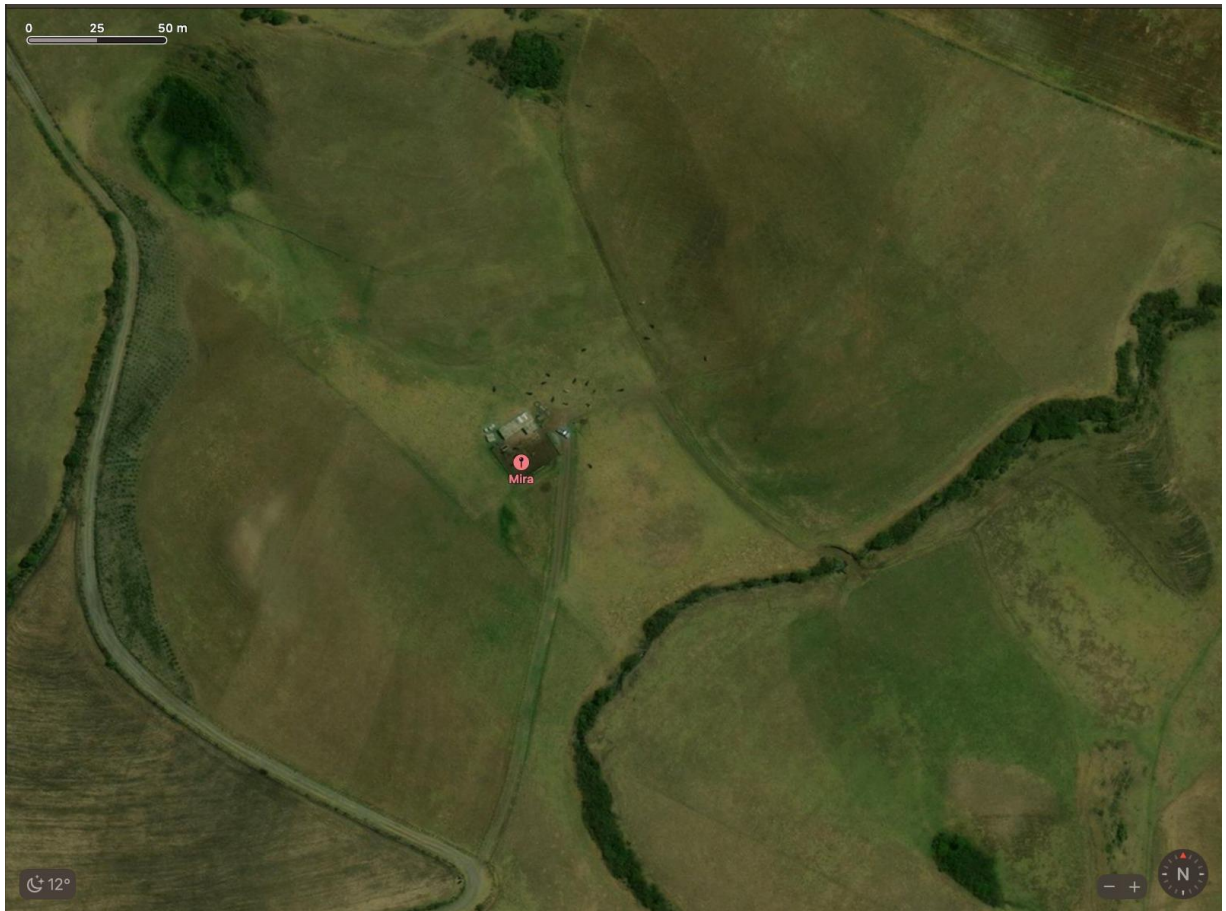
Latitud: N 0°35'38,78"

Longitud: W 78°0' 47,601"

Altitud: 2893 m s.n.m.

### **Figura 1**

*Ubicación del lugar donde se realizó el trabajo de investigación.*



*Nota.* Adaptado de Mapbox (2023)

#### **4.2.2 Tratamientos**

El factor de estudio en la presente investigación fueron la mezcla forrajera, es decir, maíz con alfalfa, maíz con llantén y maíz con achicoria, además a cada tratamiento se trató con dosis única del consorcio bacteriano; a continuación, se detallan los tratamientos:

**Tabla 1***Tratamientos de la investigación*

<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis</b>
T1	50% Planta de maíz + 50% de alfalfa + consorcio bacteriano
T2	75% Planta de maíz + 25% alfalfa + consorcio bacteriano
T3	50% Planta de maíz + 50% achicoria + consorcio bacteriano
T4	75% Planta de maíz + 25% de achicoria + consorcio bacteriano
T5	50% Planta de maíz + 50% llantén + consorcio bacteriano
T6	25% Planta de maíz + 75% llantén + consorcio bacteriano
T7	Testigo (Planta de maíz 65% y 35% Llantén)

*Nota.* Adaptado de (Wang et al. 2021)

#### **4.2.3 Diseño experimental**

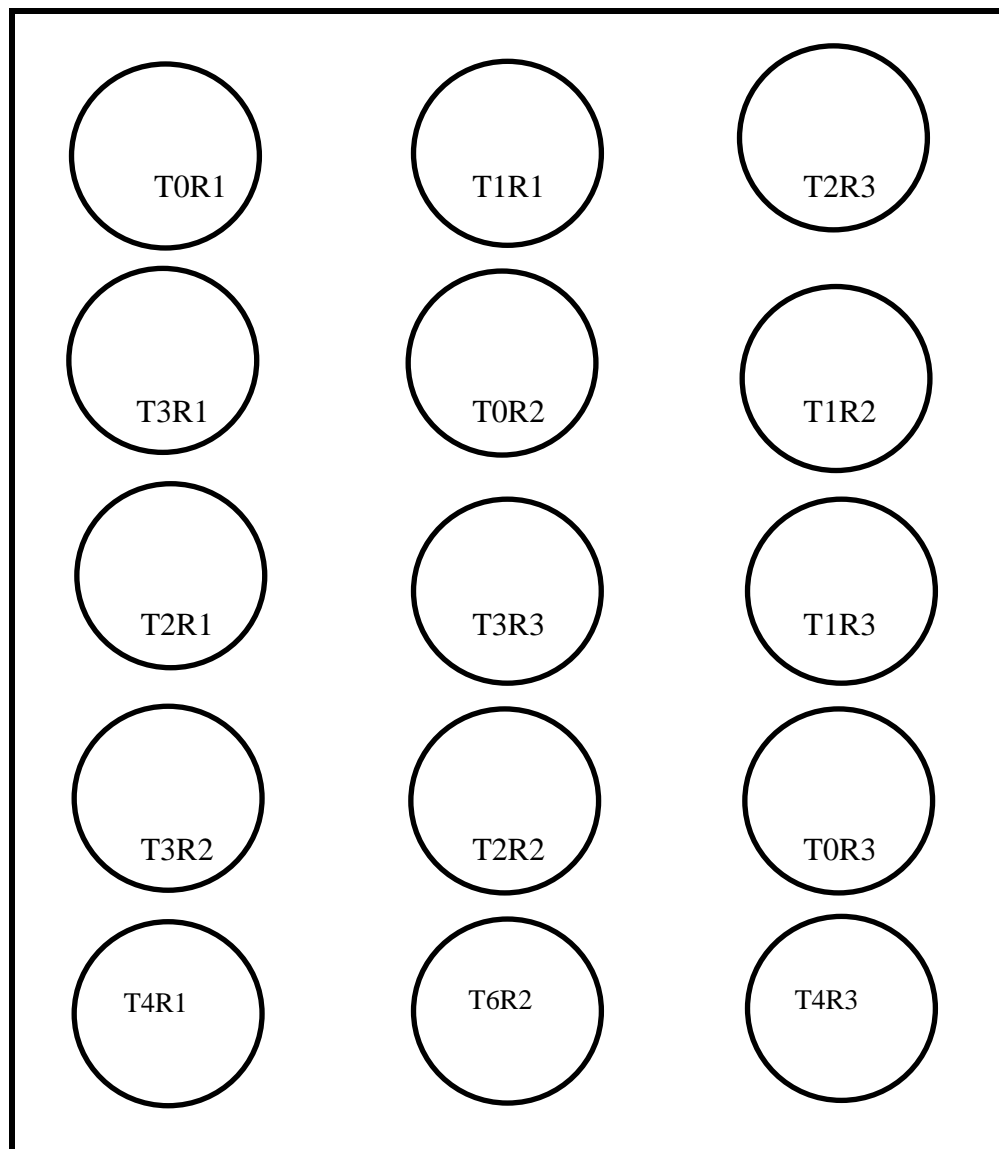
En la presente investigación se utilizó un Diseño completamente al azar (DCA). Se establecieron 6 tratamientos más un testigo con 3 repeticiones por tratamiento, teniendo un total de 21 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue compuesta por 3 fundas de silaje, las cuales son de un peso de 5 kg.

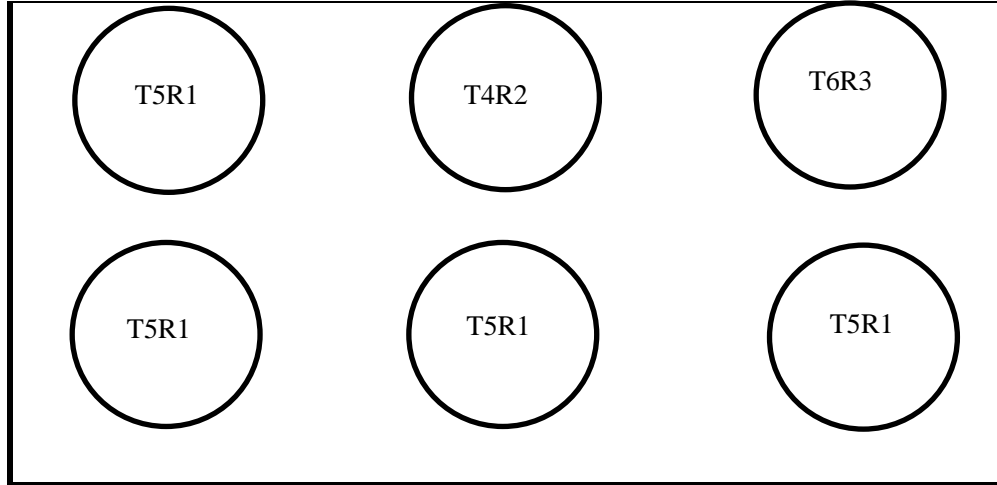
#### 4.2.4 Unidades experimentales

En la figura 3 se detalla el diseño experimental realizado en el campo, para lo cual cada unidad experimental estuvo formada por 3 fundas de silaje de 5 kg, la separación entre cada unidad experimental fue de 50 cm, además estuvieron en un sitio donde no recibían la luz solar directamente, a continuación, se detalla en la siguiente figura:

**Figura 2**

*Ubicación de las diferentes unidades experimentales*





#### 4.2.5 Análisis de varianza

Para el análisis de datos de las variables se aplicó análisis de varianza y posteriormente análisis de Tukey al 5%.

**Tabla 2**

*Análisis de varianza de la investigación*

	<b>FV</b>	<b>GL</b>
Total		20
Tratamientos		6
Error experimental		14

#### 4.3 Variables en estudio

##### 4.3.1 Manejo de la planta de maíz

Para la investigación se utilizó la planta de maíz suave sin mazorca del predio del señor Olmedo Palacios, después de una semana de ser cosechado para choclo, se cortó a una altura de 15 cm del suelo, posteriormente se trasladó a donde se encontraba la picadora de marca TRAPP ES-650G, esto se realizó en la tarde (Tobías, 2000) .

#### **4.3.2 Manejo de la planta de alfalfa**

Se utilizó alfalfa, se cosechó cuando se encontraba en flor, para ello se utilizó una cortadora manual, luego se trasladó a la picadora TRAPP ES-600, se desechó los 5 kg que se picó debido a que este material se consideró que estaba contaminado con maíz, luego se colocó en el suelo sobre una carpa de costal (Cajarville et al. 2007,p.53).

#### **4.3.3 Manejo de la planta de achicoria**

El Material forrajero se recolectó fue del cultivo de la finca “La Merced” del señor Olmedo Palacios, para ello se utilizó tijera y se cortó a una altura de 3 cm, y luego se almacenó en costales y se trasladó al sitio donde se realizaron las unidades experimentales, tenía 40 días desde el último pastoreo, se procedió con la metodología descrita por Pereira et al. (2015).

#### **4.3.4 Manejo de la planta de Llantén**

Para esta especie se cosechó del cultivo de la finca “La Merced” del señor Olmedo Palacios, para ello se utilizó tijera, y se cortó a la altura de 4 cm, se almacenó en costales, cabe mencionar que el cultivo tenía 60 días desde el último pastoreo, para este procedimiento se utilizó y se adaptó la metodología descrita por Buitrago, (2017).

#### **4.3.5 Proceso de ensilaje**

El primer paso que se realizó fue el picado de las diferentes especies forrajeras, en el caso del maíz y alfalfa se realizó en la picadora de marca TRAPP ES-650G, en el caso de la achicoria y llantén se implementó el corte manual, de manera que quede uniforme y no compactado, luego se pesó cada material en función de la mezcla de cada tratamiento, en ese momento se realizó la aplicación del inóculo bacteriano, en 50 ml se mezcló 1 g y se roció de tal manera que tenga contacto con todo el material forrajero, para el almacenamiento se utilizó fundas de plástico de 50 kg, las cuales se cortó por la mitad, se colocó el material forrajero y se apisonó de tal forma que quede una sola masa, luego con la ayuda de la aspiradora se eliminó el oxígeno y se amarró con soga plástica la abertura de la funda, por último, con la ayuda de

cinta de embalaje se cubrió toda la funda para asegurar que no haya ninguna abertura que afecte a la unidad experimental, se tomó la metodología descrita por Ozturk et al. (2006).

#### **4.3.6 Materia seca**

En la investigación realizada por De la Roza Delgado (2002), afirma que la técnica para calcular la materia seca (MS) se basa en la evaporación total de agua entre 100 y 105 °C hasta peso constante y que se considera que la pérdida de peso es agua. Las muestras fueron recolectadas en fundas plásticas previamente identificadas, se llevaron al laboratorio de la Pontificia universidad Católica del Ecuador sede Ibarra; donde se pesó 50 g por cada muestra, las mismas que se colocaron en bandejas y posteriormente se llevaron a estufa a 110 °C, por un tiempo de 24 horas; transcurrido este tiempo cada muestra fue pesada y posteriormente se calculó el porcentaje de materia seca, en base a la siguiente fórmula tomada de Calistro (2011).

$$\%MS = \frac{b}{a} \times 100$$

En donde, A= peso inicial de la muestra; B= peso de la muestra después del secado.

#### **4.3.7 Coeficiente de fermentabilidad**

Para determinar el coeficiente de fermentabilidad se utilizó la metodología descrita por Sainz (2020), para ello se obtuvo en laboratorio el contenido de materia seca (MS), capacidad buffer (CT) y carbohidratos solubles en agua (CSA), con los cuales se aplica la siguiente ecuación:

$$CF = MS (\%) + 8\left(\frac{S}{BC}\right)$$

En donde:

MS: Materia seca

S: Carbohidratos solubles en agua (%)

BC: Capacidad buffer (meq/ MS)

#### 4.3.8 Proteína

Se utilizó el método Kjeldahl, para ello se tomó la Guía de Procedimientos de Bromatología de la PUCESI (2020) y se realizó lo siguiente, primeramente, se pesó una muestra de cada unidad experimental de 2 g, luego se rotuló y se añadió una pastilla catalizadora, se agregó 12 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%, la forma de diluir fue muy despacio y por el borde y después se finalizó con 3,3 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 35%, esta serie de pasos fue llevado a cabo en la campana de extracción. Luego se colocó los tubos en el digestor y se calentó a 80°C. Se selló los tubos y se esperó aproximadamente 2 horas para la extracción de gases y la solución cambió de color negro a amarillo ámbar.

Se retiró los tubos del digestor, se los dejó enfriar por 25 min, se agregó 50 ml de agua destilada y 50 ml de NaOH al 35%, se tuvo mucho cuidado en la forma de aplicación para evitar quemaduras, después se encendió el destilador y a su vez se preparó un matraz Erlenmeyer de 250 ml con una mezcla de 50 ml de ácido bórico y 4 gotas de rojo tashiro y se colocó en el destilador, ya con el tubo con la muestra neutralizada, se presionó inicio y se esperó 3 minutos. Se comprobó si la solución del matraz cambia a color verde y se retiró de ahí.

Con la solución verde del matraz, se añadió HCl al 0,2 normal, y se procede a titular con esta solución hasta que la sustancia del matraz Erlenmeyer cambie a color rosado, se anotó la cantidad necesaria para que cambie de color y se aplicó la siguiente ecuación (Soest, 2017):

$$\%N \text{ total} = \frac{ml \text{ HCL} * 0,14 * 0,2 * 100}{m}$$

$$\%Proteína \text{ bruta} = \%N \text{ total} * 6,25$$

#### 4.3.9 Carbohidratos solubles en agua

Para evaluar carbohidratos solubles totales se tomó la muestra de 0,5 kg de cada unidad experimental las cuales se mezcló de manera homogénea y se tomó 1kg de la muestra compuesta por unidad experimental, la cual se envió al laboratorio de bromatología del INIAP (Estación Santa Catalina), donde se utilizó el método Watada (1955), el resultado se expresó en % MS,

#### 4.3.10 Capacidad buffer

La capacidad buffer del material después de ensilar se determinó mediante la metodología de McDonald (1981), en donde se utilizó 20 g de muestra y 80 ml de agua destilada como diluyente, se agito por 20 minutos y se dejó en reposo por una hora, posteriormente se filtró para obtener la solución, se le midió el pH, con la solución de HCl 0,1 N se le añadió hasta obtener un valor de 3, luego la muestra se llevó a 4, por medio de la titulación de NaOH 0,1 N hasta llegar un pH de 6. Por medio de la fórmula que a continuación se describe, se expresó la capacidad buffer en mEq NaOH por cada 100 g de MS.

$$Cap\ Buffer = \left( \frac{Cn\ NaOH * 1000 * \left( \frac{ml\ NaOH}{1000} \right)}{g\ (muestra) * \frac{\% MS}{100}} \right) * 100$$

#### 4.3.11 Recuento de levaduras

Se utilizó la metodología descrita por Peña (2002), procedió con una muestra de cada unidad experimental, la muestra se colocó en el recipiente estéril, luego se procedió a hacer una disolución 1:10 en tubos de ensayo, a su vez, se realizó la esterilización de cajas Petri, además de preparar el agar Sabouraud Dextrose agar, el lugar para la realización de la siembra fue la campana de flujo del Laboratorio de Biotecnología de la PUCE-I, después de colocar 1 ml en cada caja Petri, se selló con Petri film y fueron llevadas a la estufa a 37°C por 48 horas y se procedió al conteo de colonias.

#### 4.3.12 Medición de temperatura

Para esta variable se tomó y adapto la metodología descrita por Pérez (2018). Para esta variable, se tomó 1 kg de cada unidad experimental y se colocó en la mesa de laboratorio de Física, para esto se necesitó dos termómetros, uno servirá para registrar la temperatura de cada unidad y el otro para registrar la temperatura del ambiente, esta prueba duró 24 horas y se registró el dato.

#### **4.4 Variables de control**

##### **4.4.1 pH**

Se realizó una medición del pH al momento de colocar el forraje en la funda, se anotó el resultado y a los 45 días se volvió a medir, con los datos obtenidos se analizó la eficiencia del consorcio bacteriano dentro del proceso de fermentación anaeróbica (Ogunade et al. 2017p.56).

##### **4.4.2 Temperatura**

Para la temperatura, se realizó registros de datos, a los 10, 21,31 y 45 días mediante un termómetro digital, a fin de evaluar el proceso de fermentación (Kleinschmit y Kung, 2006,p. 32).

## **CAPÍTULO V**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**5.1 Evaluación de la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica en ensilaje de mezclas forrajeras influenciadas por un consorcio bacteriano.**

**5.1.1 Prueba de normalidad y homogeneidad de la varianza**

**Tabla 3***Prueba de normalidad de las variables de la investigación*

Variable	Observaciones	Promedio	Prueba de normalidad						
			Desviación Est	Shapiro test	p-value	raíz	log10	arc_sen	Levene test
MS	21	20,373	2,369		0,413				0,623
pH(0días)	21	6,393	0,019		0,755				0,706
pH (45 días)	21	3,695	0,306		0,416				0,971
Temp (10 días)	21	15,638	0,116		0,488				0,928
Temp (21 días)	21	15,643	0,116		0,830				0,908
Temp (31 días)	21	15,614	0,124		<b>0,004</b>	<b>1,98E15</b>	<b>1,65E-34</b>	<b>2,9148E-29</b>	<b>1,000</b>
Temp (45 días)	21	16,657	0,518		0,416				0,993
Proteína	21	13,100	2,155		0,221				0,772
CSA	21	0,522	0,546		0,873				0,987
Cap. Buffer	21	240,819	0,343		0,970				0,161
Temperatura	21	17,571	1,434		-----				-----
Levaduras	21	181	106,066		0,607				0,083

## 5.2 Análisis estadísticos de las variables

A continuación, se presenta el análisis estadístico de cada una de las variables

### 5.2.1 Variables dependientes

#### 5.2.1.1. Materia seca

En la Tabla 4 se puede observar que para la variable materia seca existe diferencias significativas al 5% entre los tratamientos, esto indica que al menos un tratamiento es diferente a los demás. De la misma forma se tiene un coeficiente de variación de 8,06%, esto es crucial debido a que la variabilidad va a garantizar la coherencia de los datos de la investigación y un promedio de 20,37% de MS.

**Tabla 4**

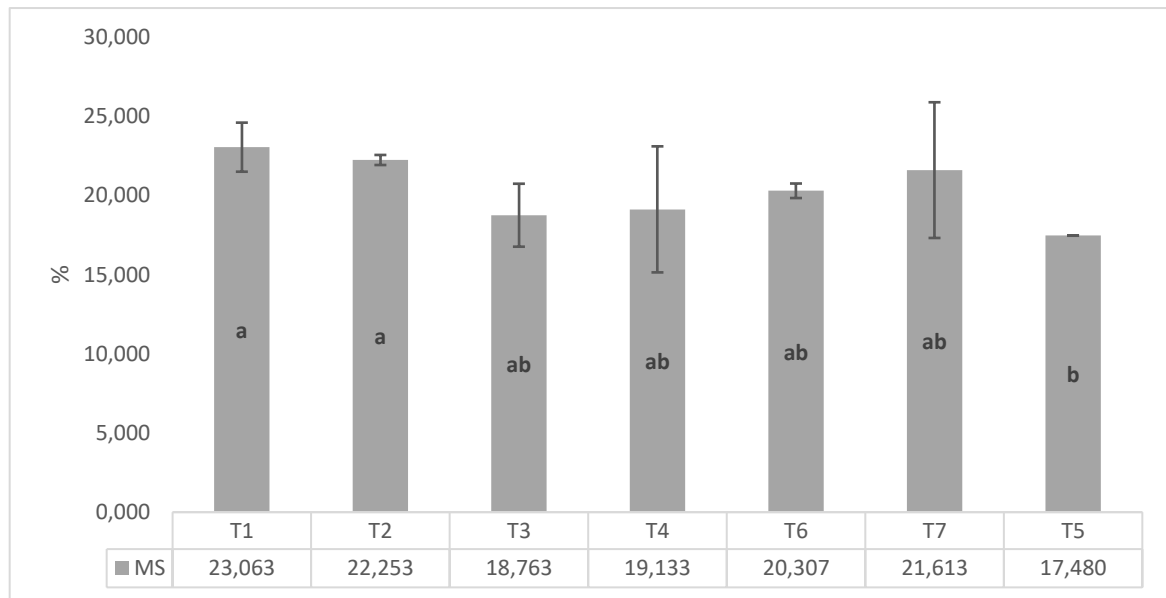
*Análisis de varianza de la variable de materia seca (MS)*

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	6,000	74,441	12,407	4,597	<b>0,009</b>	<b>**</b>
Error	14,000	37,787	2,699			
Total, corregido	20,000	112,228	5,611			

*Nota.* CV= 8,06% Media: 20,373 ‘\*\*\*’= Diferencia significativa

**Figura 3**

*Promedio de la variable de materia seca en ensilajes de mezclas forrajeras a los 45 días*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

La prueba de Tukey al 5% para materia seca muestra que existen tres rangos, en estos se encuentran todos los tratamientos, donde el mejor tratamiento es el T1 con 23,063 % debido a esto se encuentra en el rango A, de la misma forma se encuentra el T2 con 22,253 %, para el T7 con 21,613% , T6 con 20,307 % , T4 con 19,133 % y T3 con 18,763 % se encuentra entre el rango AB, por último, el T5 se encuentra en el rango B con 17,48%.

En la Figura 3 se puede observar que los promedios más altos de los diferentes tratamientos son T1 con 23,063 %, T2 con 22,53 % y T7 con 21,613% estos resultados son menores a lo que reporto Ozturk et al. (2006) debido a que el maíz fue utilizado para esta investigación sin mazorca y esto influye en la composición como lo afirma Roy Negro, (2010): “El ensilaje de maíz hecho de plantas que están en buenas condiciones, pero pobremente polinizadas sin mazorcas o con mazorcas parcialmente llenas, tiene 85-90% del valor materia seca del ensilaje de maíz normal”. De acuerdo con los tratamientos anteriormente mencionados tienen en su

composición alfalfa, lo que influyo en su valor más alto. En cuanto a materia seca en ensilaje de alfalfa se encuentra alrededor del 20-22%, muy superior a diferentes especies forrajeras como la achicoria y llantén, debido a esto, estos tres tratamientos tienen el valor alto. En cuanto al tratamiento T3 y T4 se obtuvo 18,763 % y 19,133% de materia seca, según Pereira et al. (2015) ensilar leguminosas sin realizar un presecado puede modificar el contenido de materia seca, por tal razón la concentración de carbohidratos solubles en agua son los responsables de la variación los resultados del ensilaje. Para el tratamiento T5 y T6 los resultados fueron 17,480 % y 20,307%, la diferencia entre estos tratamientos se debe a la desigualdad del estado fenológico del llantén, y esto afectara directamente al contenido de materia seca en agua Buitrago (2017).

### 5.2.1.2 Proteína

En la Tabla 5 se puede observar mediante los resultados obtenidos de ANOVA para el contenido de proteína, existe diferencia significativa al 5% entre los tratamientos, esto se refiere a que los tratamientos tienen resultados diferentes. Del mismo modo se obtuvo un coeficiente de variación del 3,54%, lo que refleja una confiabilidad en los resultados y un promedio general de tratamientos de 13,100 %.

**Tabla 5**

*Análisis de varianza de la variable de proteína*

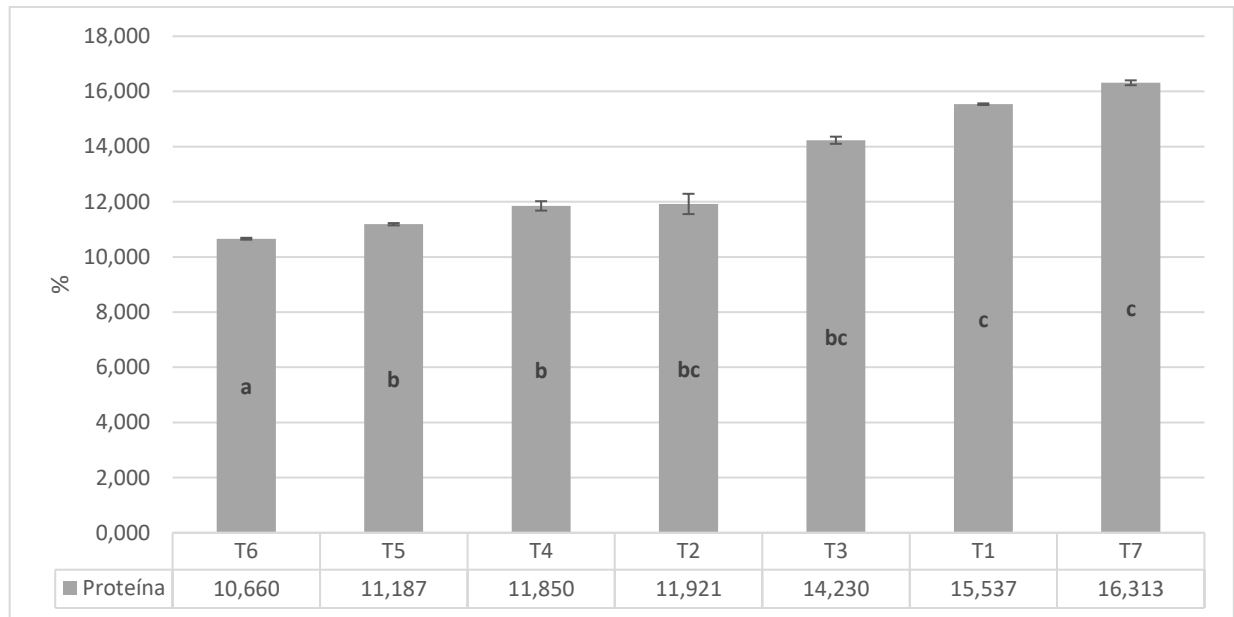
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	6,000	90,323	15,054	81,692	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	14,000	2,580	0,184			
Total, corregido	20,000	92,902				

*Nota.* CV=3,54 % Media:13,100 ‘\*\*\*’= Diferencia altamente significativa

La prueba de Tukey al 5% para la variable proteína, muestra que existen 3 rangos para todos los tratamientos de la investigación, una vez realizada la prueba se obtuvo que el T6 con 10,660 % se encuentra en el rango A, T5 con 11,187 T1 con 15,537 % y T4 con 11,85 % se encuentran en el rango B, para el T3 con 14,230 y T2 con 11,921 % se encuentra en el rango BC, por último, T1 con 15,537 % en y T7 con 16,313% se encuentran en el rango C.

**Figura 4**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable Proteína*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

En la figura 4, se observa los siguientes resultados en cuanto a la variable proteína: el T7 (Testigo) es el que obtiene un mayor valor de proteína con 16,313, corrobora el resultado Wang et al. (2021) a una relación de maíz 60% y alfalfa 40% obtuvo 15,93 %, la variación de la proteína va a depender específicamente del estado fenológico de la planta, La variación del contenido de proteínas en las plantas depende de su estado fenológico. A medida que la planta madura, aumenta el contenido de lignina y disminuye el de proteína. Sin embargo, el resultado del T2 (11,921%) comunicado en esta investigación no coincide con el resultado reportado por el investigador cual fue de: 17,37 %. La causa de este resultado es la edad en la que ha sido cosechado el material forrajero. debido a que el contenido de proteína varía de acuerdo al genotipo utilizado para el ensilaje, además para este resultado se considera que tiene mayor porcentaje de lignina y carbohidratos estructurales que causaron la disminución considerablemente del contenido proteína. En cuanto al T5 y T6 los resultados fueron: 11,18 % y 10,66%, no existe información para contrastar los resultados de esta investigación, sin embargo, existe evidencia de que, a mayor tiempo de cosecha, menor va a ser el contenido de

proteína, para esta investigación se tomó el material cuando la planta tenía flor (Tabaco et al. 2011).

### 5.2.1.3 Capacidad Buffer

En la Tabla 6 se puede observar mediante los resultados obtenidos de ANOVA para la variable capacidad buffer, se detectó que existen diferencias altamente significativas al 5%, esto significa que al menos un tratamiento es diferente a los demás. De la misma forma tiene un coeficiente de variación de 34,30 % y un promedio de 240,819 meqNaOH/kgMS.

En lo que respecta a la variable capacidad Buffer se muestra un coeficiente de variación muy alto, el cual se debe al estado fenológico de la planta y la proporción tallo/hoja. Para Borreani et al. (2018), menciona que la capacidad buffer se viene afectada por iones orgánicos (Ca, K, Na) y la combinación de ácidos orgánicos, además, existe otro factor muy importante al momento de realizar ensilaje, el cual es el tiempo que transcurre en el proceso de ensilaje desde el momento de corte de la pastura hasta el llenado de la funda.

**Tabla 6**

*Análisis de varianza de la variable capacidad buffer*

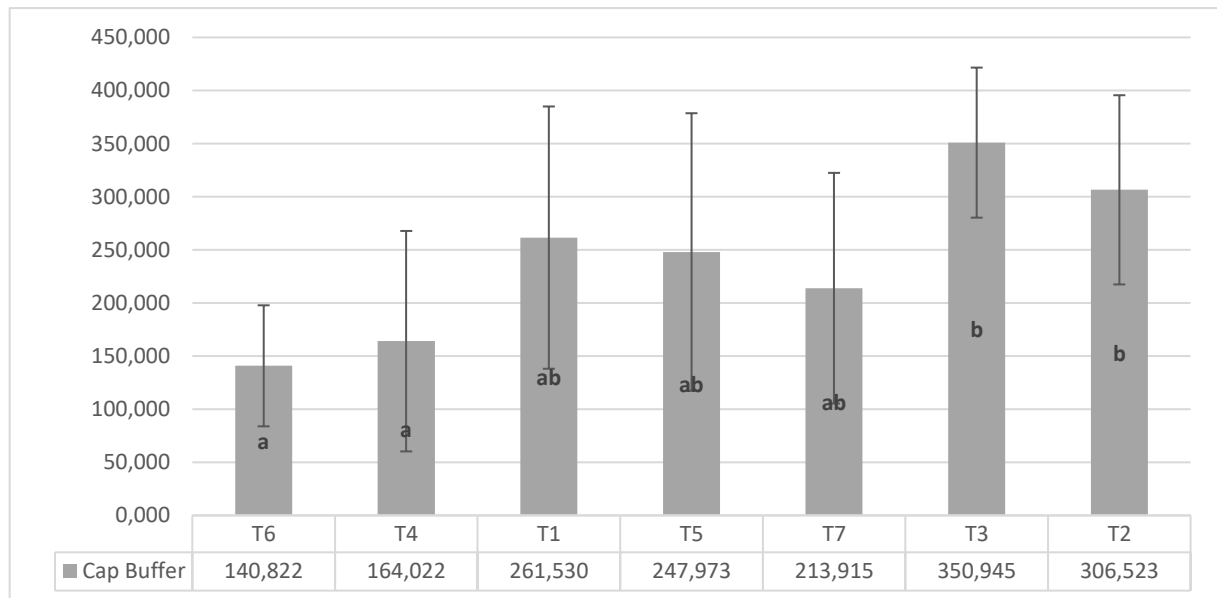
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	6,000	100637,748	16772,958	6,546	<b>0,002</b>	**
Error	14,000	35872,816	2562,344			
Total, corregido	20,000	136510,564	0,0001465			

*Nota.* CV= 34,30% Media: 240,819 \*\*\*= Diferencia significativa

La prueba de Tukey al 5% para la variable capacidad buffer muestra que existen tres rangos dentro de los cuales están todos los tratamientos de la investigación, una vez finalizada la prueba se obtuvo que para el rango A están el T6 con 140,822 meqNaOH/kgMS y el T4 con 164,022 meqNaOH/kgMS; para T1 con 261,530 meqNaOH/kgMS, T5 con 247,973 meqNaOH/kgMS y T7 con 213,915 meqNaOH/kgMS se encuentran entre el rango AB, por último, el T3 con 350,945 meqNaOH/kgMS y T2 con 306,523 meqNaOH/kgMS están en el rango B.

**Figura 5**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable Capacidad Buffer*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

En la figura 5 se observan los siguientes resultados: T4 y T6 con 164,022 y 140,122 meqNaOH/kgMS respectivamente, al no encontrarse investigaciones asociadas a este tipo de tratamientos con llantén , sin embargo, se justifica el resultado debido a su bajo contenido de proteína, su capacidad buffer es baja, ya que para para silaje en asociaciones con especies forrajeras tales como alfalfa, achicoria, sin embargo para lograr una correcta acidificación debe ser menor a 350 meqNaOH/kgMS (Jimenez, 2009).

Para el T3 con 350,945 meqNaOH/kgMS es el promedio más alto de los diferentes tratamientos, esto concuerda con Lindqvist et al. (2012) que para leguminosas se reportó un valor de 429 meqNaOH/kgMS para un ensilaje que ha sido elaborado a partir de alfalfa, además este valor ha sido con alrededor de 13,6 % de proteína, por consiguiente, entre mayor porcentaje de proteína, también aumenta la capacidad buffer.

Para el T2 y T1 son 306,523 y 261,530 meqNaOH/kgMS respectivamente, estos resultados varían de acuerdo a lo reportado por Pursiainen y Tuori (2008) que para ensilaje de

leguminosas se reporta 415 meqNaOH/kgMS, esto siempre va a variar dependiendo de varios factores, tales como: el tiempo en que ha sido cosechado hasta ser ensilado, en que etapa fenológica del cultivo ha sido cosechado, la cantidad de carbohidratos solubles va a influir directamente en la capacidad buffer, y al ser ensilaje de mezcla forrajera, la inclusión de maíz aumentan la cantidad de carbohidratos solubles en agua y disminuye la capacidad buffer.

En cuanto a la capacidad tampón de los distintos tratamientos, se comprobó que era inferior a 360 meqNaOH/kgMS, lo que no impidió que la fermentación alcanzara la estabilidad en 45 días, dando lugar a valores de pH inferiores a 4.

#### 5.2.1.4 Levaduras

En la Tabla 7 se puede observar mediante los resultados obtenidos de ANOVA para la variable levaduras, se detectó que existen diferencias altamente significativas al 5%, hay una diferencia altamente significativa de los tratamientos, esto significa que al menos un tratamiento es diferente a los demás. De la misma forma tiene un coeficiente de variación de 0,5% y un promedio de 1810, 789 UFC

**Tabla 7**

*Análisis de varianza de la variable levaduras*

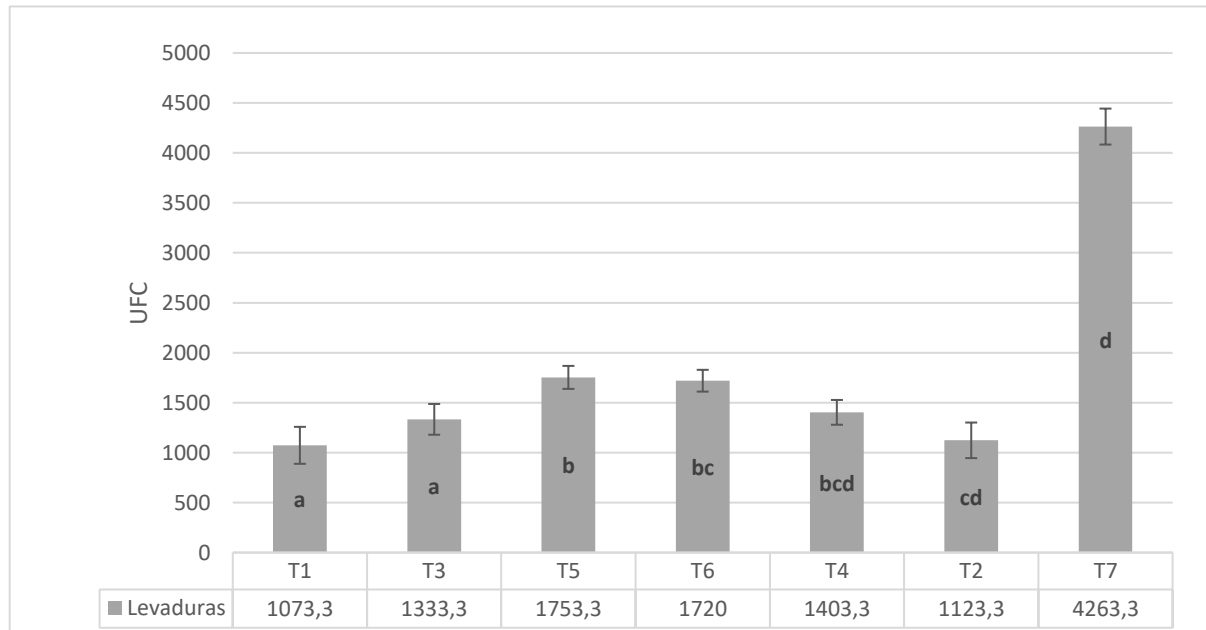
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	6,000	223108,000	37184,667	172,952	<0,0001	***
Error	14,000	3010,000	215,000			
Total, corregido	20,000	226118,000				

*Nota.* CV= 0, 0,587% Media: 1810 ,789 ‘\*\*\*’= Diferencia altamente significativa

La prueba de Tukey al 5% para la variable levaduras muestra que existen cinco rangos dentro de los cuales están todos los tratamientos de la investigación, una vez finalizada la prueba se obtuvo que para el rango A está el T1 con 1073,3 y T3 con 1333 , para el rango B esta T5 con 1753 ,33; el T6 se encuentra en la agrupación de rango BC; el T4 se encuentra entre los rangos BCD y T2 en el rango CD, por último, el T7 están en el rango D.

**Figura 6**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable levaduras*



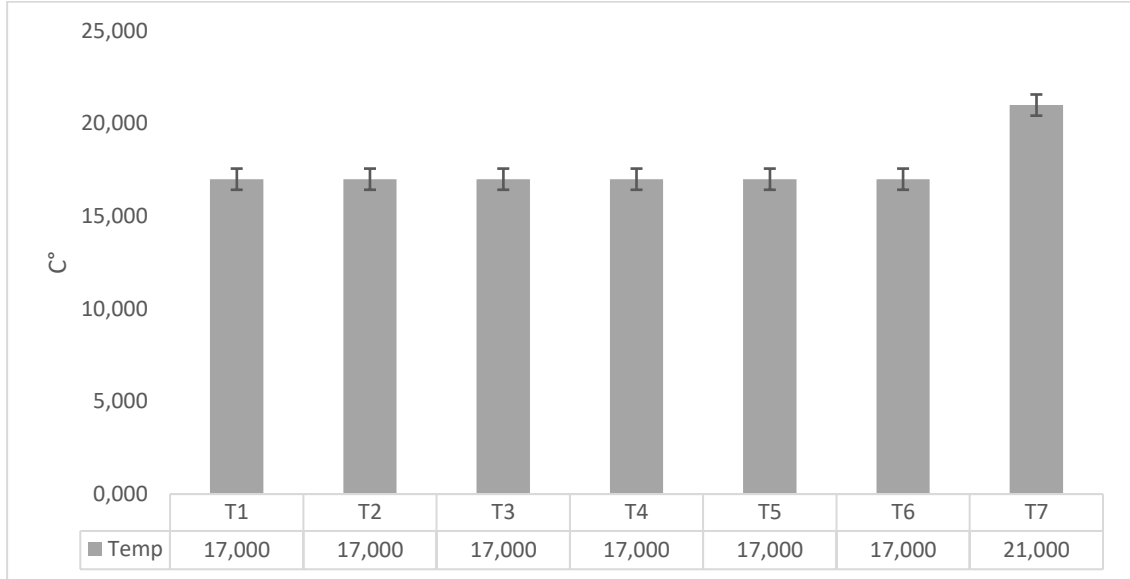
*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

La figura 6 muestra claramente un contraste notable entre los distintos tratamientos que han sido inoculados con el consorcio bacteriano, en comparación con el T7 (Testigo) se observa un aumento significativo de 4263 UFC., frente al resto de los tratamientos que tienen como resultado una población de levaduras que no sobrepasa las 2000 UFC, esto se debe al efecto del inoculante que produce una mayor cantidad de ácido acético y este es el principal promotor de inhibición el crecimiento de levaduras (Kristensen et al. 2010).

### **5.2.1.5 Temperatura (Estabilidad aeróbica)**

**Figura 7**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable temperatura (estabilidad aeróbica)*



Nota. T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

La figura 7 muestra los resultados de la variable temperatura (estabilidad aeróbica) se midió utilizando el método adaptado por Kung Jr et al. (2000). Los resultados obtenidos tras 24 horas de ensayo fueron que T1,T2,T3,T4,T5 Y T6 estaban en 17°C, mientras que T7 (control), que mostró un aumento de 4°C después de 24 horas. Según Schmith et al. (2009), la adición de *Lactobacillus buchneri* 40788 mejoró significativamente la estabilidad aeróbica y el ensilaje de maíz mostró una estabilidad de 74 horas. Kristensen et al. (2010) también confirma que la adición de un consorcio bacteriano aumenta eficazmente el tiempo de exposición al aire sin presentar daños en el material vegetativo, esto se debe a la gran producción de ácido propiónico por parte de las bacterias ácido lácticas.

#### 5.2.1.6 Carbohidratos solubles en agua

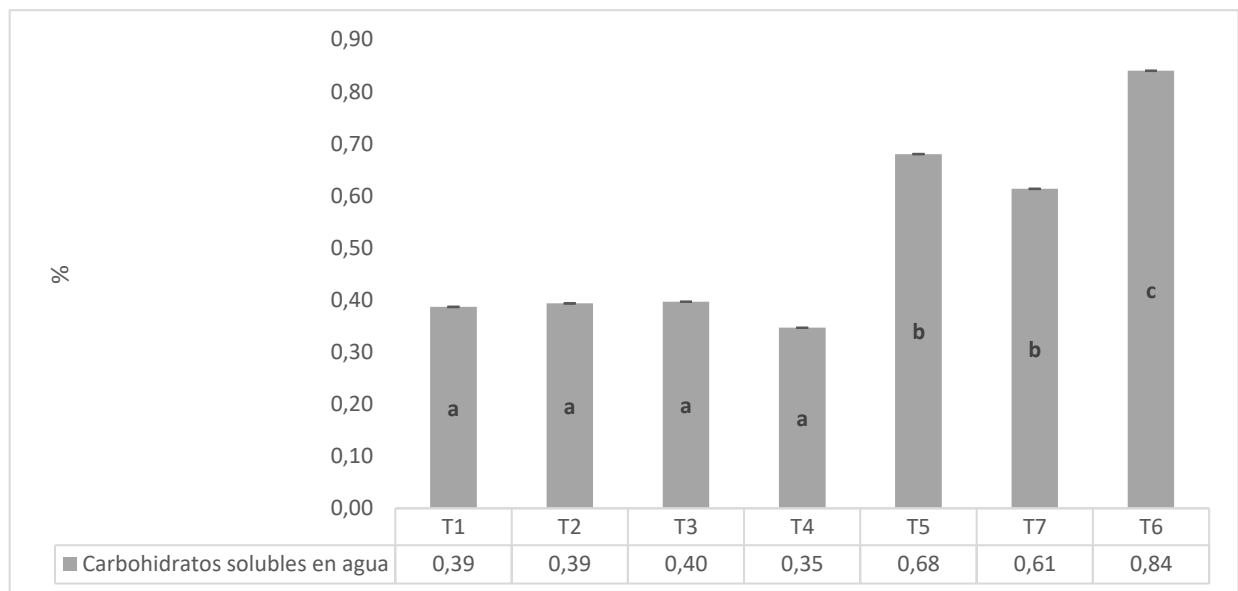
En la Tabla 8 se puede observar mediante los resultados obtenidos de ANOVA para la variable carbohidratos solubles en agua, se detectó que existen diferencias altamente significativas al 5%, esto significa que al menos un tratamiento es diferente a los demás. De la misma forma tiene un coeficiente de variación de 0,5% y un promedio de 0,522%.

**Tabla 8***Análisis de varianza de la variable carbohidratos solubles en agua*

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	6,000	0,647	0,108	161,812	<0,0001	***
Error	14,000	0,009	0,001			
Total, corregido	20,000	0,657				

Nota. CV= 0, 0,587% Media: 0,522 ‘\*\*\*’= Diferencia altamente significativa

En la figura 8 se muestra los resultados para los diferentes tratamientos: T1 con 0,38 %; T2 con 0,39%; T3 con 0,39 %; T4 con 0,34 se encuentran en el rango A, T5 con 0,680 % y T7 con 0,610 % se encuentran en el rango B y finalmente T6 con 0,84 % se encuentra en el rango C.

**Figura 8***Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable carbohidratos solubles en agua*

Nota. T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

Para los diferentes tratamientos que se tuvo en la investigación, existe una diferencia entre estos, para lo cual son menores a lo reportado por Kleinschmit y Kung (2006) los cuales estan alrededor del 0,4 al 0,8%, esto varía de acuerdo al tiempo, donde disminuye hasta los 42 días.

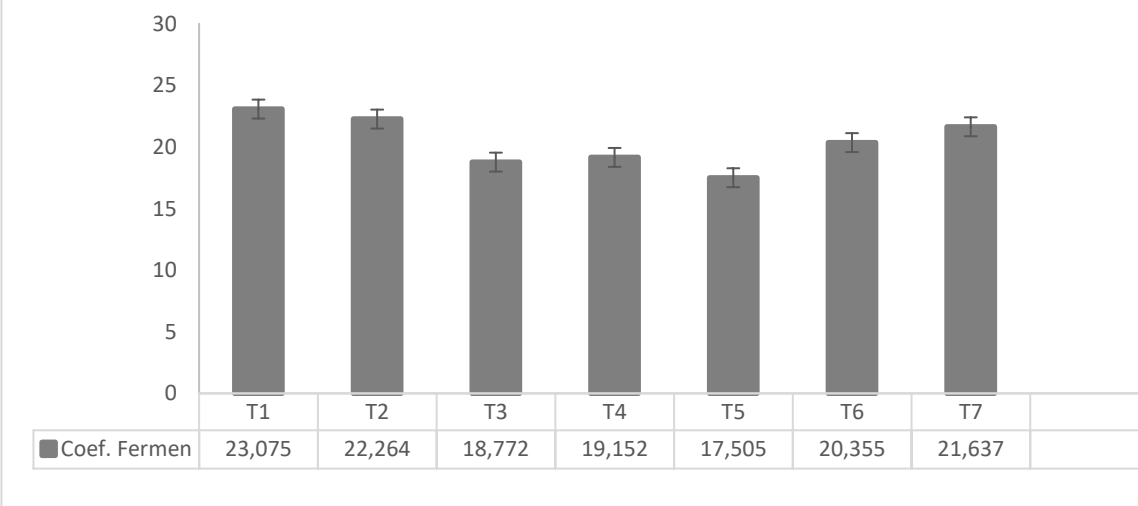
Li et al. (2022) evidencia que la adición de consorcio bacterianos en el proceso de elaboración del ensilaje disminuye la concentración de carbohidratos solubles en agua, esto se debe a un mayor uso de esta fuente energética por parte del consorcio bacteriano. En el caso de esta investigación se utilizó 4 tipos: *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus plantarum* y *pediococcus acidilactisi* y en comparación con el T7 ( Testigo) tiene 0,61% lo que representa su baja población bacteriana. Debido a esto presentan un resultado bajo a los 45 días a lo reportado de Kleinschmit y Kung (2006).

### 5.2.1.7 Coeficiente de fermentabilidad

A continuación, se detalla los resultados de la variable coeficiente de fermentabilidad:

**Figura 9**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable coeficiente de fermentabilidad*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

En la figura 9 se muestra el resultado para los diferentes tratamientos: T1 con 23,07; T2 con 22, 26; T3 con 18,772; T4 con 19,152; T5 con 20, 355; T6 y T7 con 21,64. Para el resultado del coeficiente de fermentabilidad se necesitó los siguientes datos: materia seca (%), carbohidratos solubles en agua (%) y capacidad buffer (meq/MS), donde se aplicó la ecuación descrita por McDonald et al. (1991), obteniendo los resultados descritos en la figura 9.

De acuerdo con Kleinschmit y Kung (2006) reporta que los rangos para el coeficiente de fermentabilidad son: >20 se considera con una capacidad media para ensilar, en este rango se encuentra: T1,T2, T6 Y T7. Se considera que para un coeficiente menor a 20, las materias forrajeras no son aptas para ensilar.

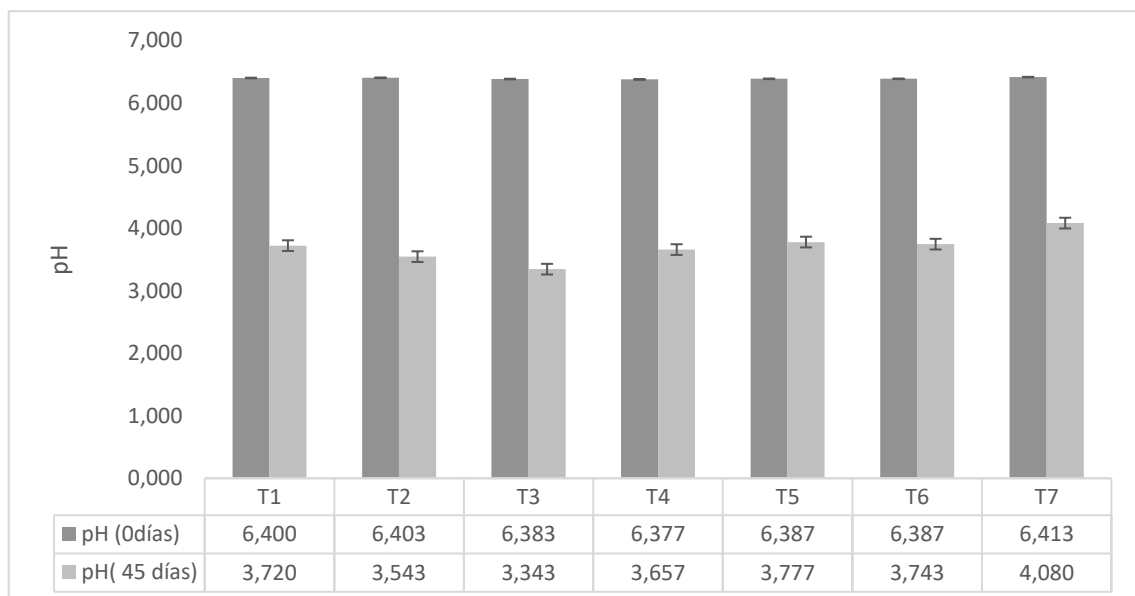
Ninguno de los tratamientos supero el valor de 25, esto quiere decir, que las especies forrajeras son parcialmente aptas para ensilar, sin embargo esto puede deberse a alguna variable que forma parte de la ecuación, como es materia seca (MS) que en los diferentes tratamientos se encuentran entre 17 % y 23 %, otra variable importante es la capacidad buffer, teniendo en cuenta que al tener promedio de 240 meqNaOH/kgMS, su coeficiente de fermentabilidad va disminuir, sin embargo, a los 45 días el resultado de pH fue menor de 4, impidiendo así la proliferación de bacterias del género *Clostridium*.

## 5.2.2 Variables de Control

### 5.2.2.1 pH

**Figura 10**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable de control pH*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

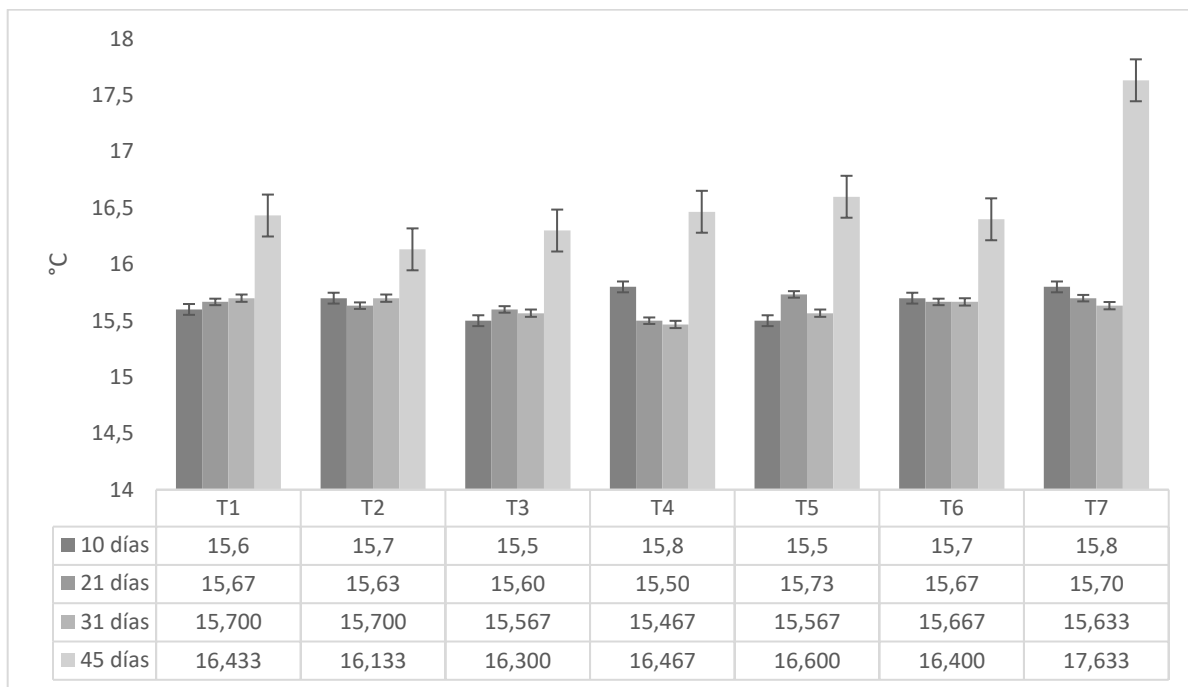
En la figura 10 tal se encuentra los resultados de los diferentes tratamientos, para Contreras et al. (2009) tener un excelente resultado el valor de pH debe ser por debajo de 4, debido a que se inhibe el crecimiento de bacterias del género *Clostridium*, para esta condición cumple todos los tratamientos que han sido inoculados a excepción del testigo (T7). Con estos resultados a los 45 días llego a tener una estabilidad del material ensilado esto gracias al consorcio bacteriano debido a la producción masiva de ácido láctico por parte de las bacterias homo fermentativas y en menor cantidad las heteros fermentativas, al tener este tipo de bacterias producen ácido acético y este es el principal promotor para la estabilidad aeróbica.

Muck y Kung (2008) al analizar 200 ensayos de ensilajes recomienda el uso de consorcio bacterianos para todo tipo de ensilaje, donde hubo evidencia como la mejora de la capacidad fermentativa debido a que a que aumenta la velocidad de acidifican del ensilaje y aumentar la tasa de recuperación de materia seca.

#### **5.2.2.2 Temperatura**

##### **Figura 11**

*Promedio de los tratamientos de la investigación de la variable de control temperatura*



*Nota.* T1(Maíz 50%- Alfalfa 50%), T2 (Maíz 75%- Alfalfa 25%), T3 (Maíz 50% - Alfalfa 50%), T4 (Maíz 75%- Achicoria 25%), T5 (Maíz 50%- Alfalfa 50%), T6 (Maíz 75%- Llantén 25%), T7 (Maíz 65% - Alfalfa 35%)

En la figura 11 se observa los datos de temperatura de los diferentes tratamientos a los: 10, 21, 31 y 45 días. De acuerdo con Kleinschmit y Kung (2006), cuando en el proceso de ensilaje sobrepasa los 25°C se considera que existe una contaminación por aire, y comienza una fermentación aerobia iniciada como bacterias aerobias.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

- Una vez terminado la investigación sobre evaluación de la capacidad fermentativa y estabilidad aeróbica ensilaje de mezclas forrajeras influenciadas por un consorcio bacteriano se ha logrado identificar efectos positivos en las variables tales como: materia seca, proteína, capacidad buffer, carbohidratos solubles en agua y coeficiente de fermentabilidad, los cuales son indicadores de calidad.
- En la variable coeficiente de fermentabilidad se obtuvo que el mejor tratamiento fue T1 con 23,075 frente al testigo, el cual 21,637, cabe mencionar que uno de los indicadores más importantes para obtener este coeficiente es la capacidad buffer, la cual en forrajes que con alto contenido de proteína (>20%) presentan dificultad para mantenerse por debajo de 350 meqNaOH/kgMS sin embargo, gracias al uso del consorcio bacteriano se logró mantener el pH por debajo de 4 en todos los tratamientos, valor necesario para mantener la estabilidad aeróbica del ensilaje.
- Para la variable contenido de proteína los resultados obtenidos variaron entre 10,3% y 16,3%, siendo el valor más alto para T7 (testigo 65% maíz + 35% alfalfa) con 16,31%, frente a los tratamientos, donde el T6 (75% maíz - 25% llantén) obtuvo el menor valor 10,66%; este resultado destaca que los tratamientos no se vieron afectados por la inoculación del consorcio bacteriano, siendo la asociación del maíz con el tipo de forrajera lo cual determinó el contenido proteico.
- En cuanto a estabilidad aeróbica se midió utilizando dos indicadores que fueron: aumento de temperatura del ensilado desde la apertura hasta las 24 horas y el recuento de levaduras a través de la siembra de una disolución de ensilaje, donde en todos los tratamientos no existió incremento de la temperatura en las bolsas de ensilaje comparadas con la temperatura ambiente, mientras que para el T7 (testigo), presentó un incremento de 4°C (21°C), por encima de la temperatura ambiente, la cual fue de 17°C durante la evaluación; en cuanto al recuento de levaduras todos los tratamientos se encontraban en un rango de 1000 y 1800 UFC, el T7 (testigo), obtuvo una población de

4200 UFC, con lo cual el incremento de levaduras en el testigo nos demuestra que el material está sujeto a una degradación acelerada al momento de la apertura.

## CAPÍTULO VII

### RECOMENDACIONES

- El estudio llevado a cabo demuestra que a diferencia de utilizar microorganismos específicos que tiende a actuar en un momento o bajo ciertas condiciones de manejo, el uso de un consorcio bacteriano resulta por mucho ser la mejor opción al momento de utilizar microorganismos en procesos de conservación de pasturas, de manera puntual el ensilaje, objeto de esta investigación, donde la calidad fermentativa, estabilidad aeróbica, pH, temperatura, se obtuvieron resultados favorables en todos los tratamientos a excepción del testigo.
- Para poder recabar mayor información y complementar a los resultados obtenidos en la presente investigación se recomienda en cuanto la variable estabilidad aeróbica establecer un periodo de al menos 72 horas con el fin de identificar la interacción entre las mezclas forrajeras, proporciones y el consorcio bacteriano, lo cual ría mejorar la capacidad fermentativa y toma de decisiones puntuales al momento de conservar y por ende aportar en la producción ganadera.
- Desarrollar la investigación con diferentes asociaciones de bacterias entre hetero fermentativas y homo fermentativas con el fin de establecer que tan efectivas son el procedo de acidificación de mezclas forrajeras.

## CAPÍTULO VIII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

#### Bibliografía

- Birmanía , W. (15 de junio de 2016). Como preparar un buen ensilaje? *IDIAF* , 5(3), 18-22.  
<https://doi.org/https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-nacional-autonoma-de-mexico/biologia-general-i/manual-de-ensilaje/36420190>
- Bonifaz, N., León, R., & Gutiérrez, F. (2018). *Pastos y forrajes del Ecuador*. Quito: Editorial Universitaria Abya-Yala.
- Borreani, G., Tabaco, A., Schmidt, R., Holmes B, & Muck B. (2018). Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of dairy Science*, 101(5), 3952-3979. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>
- Buitrago, M. (Abril de 2017). *UNAD*. Repositorio UNAD:  
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12403/6766102.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- Cajarville , C., Britos , A., Caramelli, Antúnez , M., Zanoniani , R., Boggiano , P., & Repetto , J. (2007, Enero 16). *Sitio Argentino de Producción Animal*. Sitio Argentino de Producción Animal.
- Callejo, A. (2018). Conservación de forrajes(V). Fundamentos de ensilado. *Frisona Española*, 223(1), 70-78. <https://doi.org/oai:oa.upm.es:53336>
- Castillo , M., Rojas, A., & WingChing-Jones, R. (2009). Valor nutricional del ensilaje de maiz en asocio con vigna. *Agronomía Costarricense*, 33(1), 133-146.  
<https://doi.org/https://www.redalyc.org/pdf/436/43612054012.pdf>
- Castillo, A., Hernandez, B., & Lopez, L. (2011). El ensilaje: ¿qué es y para qué sirve? *Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana*, 5-9.

- Cubero, J., Rojas, A., & WingChing, R. (2010). Uso del inóculo microbio elaborado en finca en ensilaje de maiz (zea mays) valor nutricional y fermentativo. *Agronomía Costarricense*, 34(2), 237-250. [https://doi.org/www.mag.go.cr/rev\\_agr/index.html](https://doi.org/www.mag.go.cr/rev_agr/index.html)
- Da Silva, E., Lio, X., Mellinger, C., Stypinski, J., & Moyer, N. (2021). Effect of dry matter content on the microbial community and on the effectiveness of a microbial inoculant to improve the aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 105(6), 5024-5045. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2021-21515>
- De la Roza, B. (2005). El ensilado en zonas húmedas y sus indicadores de calidad. *Alimentación animal*, 1(1), 1-20.
- Ferrari, C., y Alarcón, A. (2011). INTA. INTA: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_ensilaje.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ensilaje.pdf)
- Ferreira, G., Jobim, C., Oliveira, R., Emile, J., Barriere, Y., & Palmieri, A. (2013). Nutritional value of ten earless corn hybrids used for silage. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26(4), 255-262. [https://doi.org/tp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902013000400003&lng=en&tlng=](https://doi.org/tp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902013000400003&lng=en&tlng=).
- Gárces, Berrio, L., Ruiz, S., Serna, G., & Builes, A. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 66-71. <https://doi.org/https://www.redalyc.org/pdf/695/69511010.pdf>
- Gárces, M., Berrio, L., Ruíz, S., Serna, J., & Builes, A. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 66-71.
- Gualoto, A. (10 de Abril de 2013). *Repositorio Univeridad Politécnica Salesiana*. Repositorio Univeridad Politécnica Salesiana: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4767/6/UPS-YT00151.pdf>
- Jimenez, M. (2009). Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). *Revista de ciencias agricolas*, 133-146.
- Jobim, C., Nussio, L., Reis, R., & Scmidt, P. (2007). Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem canservada. *Revista brasileira de zootecnia*, 36(1), 101-119.

- Kleinschmit, D., y Kung, L. (2006). A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4005-4013.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72444-4](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4)
- Kristensen , N., Hojberg, O., Spliid , N., Jensen , S., & Thogersen, N. (2010). Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *Journal of dairy Science*, 93(8), 3764-3774. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2010-3136>
- Kung Jr , l., Chen, j., Oro, M., & Pesek, J. (2000). Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid-Based Preservative. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1479-1486.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75020-X](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75020-X)
- Li, Y., Da Silva, E., Chun, J., & Kung, L. (2022). Effect of Homo-Fermentative Lactic Acid Bacteria Inoculants on Fermentation Characteristics and Bacterial and Fungal Communities in Alfalfa Silage. *Fermentation*, 11(8), 621.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation8110621>
- Lindqvist, H., Nadeau, E., & Jensen, S. (2012). Alpha-tocopherol and  $\beta$ -carotene in legume–grass mixtures as influenced by wilting, ensiling and type of silage additive. *Grass af Forage Science*, 67(1), 119-128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2011.00827.x>
- Lino, A. (25 de Julio de 2014). *San Cayetano*. San Cayetano:  
<https://padrecitozesati.files.wordpress.com/2015/02/ensilaje-en-bolsas.pdf>
- Martínez, A. (12 de Julio de 2003). *Repositorio Universidad de Oviedo*. Repositorio Universidad de Oviedo.
- Martinez, A., Argamentería, A., & De la Rosa, B. (2014). *Manejo de forrajes para ensilar*. Asturias: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentaria (SERIDA).
- McDonald, P., Henderson, A., & Garza, S. (1991). *La bioquímica del ensilaje. Segunda edición*. Publicaciones de Chalcombe.

- Muck, R. (2002). Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions of the ASAE*, 47(4), 1011-1016. <https://doi.org/10.13031/2013.9144>
- Muck, R., y Kung, L. (2007). *Silage production. Forages*. The Science of Grassland Agriculture. <https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/43261125>
- Narvaéz, D. (Julio de 2013). *Repositorio UTEQ*. Repositorio UTEQ: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/279/1/T-UTEQ-0005.pdf>
- Ogunade, M., Jiang, Y., Cervantes, A., Kim, D., Oliveira, A., Vyas, D., . . . Adesogan, E. (2017). Bacterial diversity and composition of alfalfa silage as analyzed by Illumina MiSeq sequencing: Effects of Escherichia coli O157:H7 and silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2048-2059. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2017-12876>
- Ozturk, D., Kizilsimsek, M., Kamalak, A., Cabolat, O., & Ozgur, C. (2006). Effects of Ensiling Alfalfa with Whole-crop Maize on the Chemical. *Asian-Aust. J*, 19(4), 526532. <https://doi.org/https://pdfs.semanticscholar.org/eb73/b3733e4b925b8214a571684bd253e19c535a.pdf>
- Pahlow, G., Muck, R., & Driehuis, F. (2003). *Microbiology of Ensiling*. Sociedad de Ciencias de Cultivos de América.
- Paladines, O. (2010). *Recursos forrajeros para los sistemas de producción pecuaria*. UCE.
- Pereira, S., Valladares, P., Fernández, B., Gonzáles , A., Díaz, N., Resch, C., & Botana, A. (2015). Effect of wilting and use the inoculant of fermentation quality of annual legumes silages. *Pastos y Forrajes del siglo XXI*, 4(6), 169-172. [https://doi.org/file:///C:/Users/Dell/Downloads/1126archivo%20\(4\).pdf](https://doi.org/file:///C:/Users/Dell/Downloads/1126archivo%20(4).pdf)
- Pursiainen, P., y Tuori, M. (2008). Effect of ensiling field bean, field pea and common vetch in different proportions with whole-crop wheat using formic acid or an inoculant on fermentation characteristics. *The Journal of the British Grassland Society*, 63(1), 60-78. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2007.00614.x>

- Rodriguez, M., Vallejo, A., & Batista, P. (2011, Octubre 14). *Estación Experimental Mario Cassinoni*. Estación Experimental Mario Cassinoni:  
[http://www.eemac.edu.uy/cangue/joomdocs/cangue031\\_rodriguez.pdf](http://www.eemac.edu.uy/cangue/joomdocs/cangue031_rodriguez.pdf)
- Roy Negro, J. (2010). *Precios y usos de maíz inmaduro como ensilaje para ganado de carne*. Universidad del estado de Michigan.
- Saldaña, R. (15 de Febrero de 2018). *Repositorio unprg*. Repositorio unprg:  
<https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/4329/BC-TES-TMP-3149.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Schmith, R., Nussio, L., Hallada, C., & Kung Jr, L. (2009). An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to alter fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 1174-1116.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2008-1700>
- Solano, D. (15 de Agosto de 2010). *Repositorio USFQ*. Repositorio USFQ:  
<https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/726/1/98197.pdf>
- Suárez, A., García, S., Cuadrado, H., Pastrana, I., Espinoza, M., & Mejía, S. (2016). Variación en la concentración de sólidos solubles durante el día, en tres pasturas en época seca en el valle medio del río Sinú. *CORPOICA Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 16(2), 181-188.
- Tabaco, E., Quarantelli, A., & Borreani, G. (2011). Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*, 94, 1409-1419.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3538>
- Tobías, C. (2000). Inóculos bacterianos, una alternativa para mejorar el proceso fermentativo. *Revista nutrición animal tropical*, 3(5), 129-133.  
[https://doi.org/https://cina.ucr.ac.cr/index.php/es/recursos/docs/Revista/inoculos\\_bacterianos\\_una\\_alternativa\\_para\\_mejorar\\_el\\_proceso\\_fermentativo\\_en\\_los\\_ensilajes\\_tropicales.pdf](https://doi.org/https://cina.ucr.ac.cr/index.php/es/recursos/docs/Revista/inoculos_bacterianos_una_alternativa_para_mejorar_el_proceso_fermentativo_en_los_ensilajes_tropicales.pdf)

- Valinotti, P. (23 de Junio de 1993). *Repositorio Universidad Católica de Chile*. Repositorio Universidad Católica de Chile.
- Veléz, M. (2002). Producción de Ganado Lechero en el Trópico. *Zamorano Academic Press*, 326.
- Viera, M., y Cardozo, G. (21 de Diciembre de 2016). *Repositorio de la Universidad de la Republica*. Repositorio de la Universidad de la Republica:  
<https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/2144/FV-32509.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Wang , M., Gao, R., Franco, M., David, H., Wencam , K., Ding, D., . . . Guo, X. (2021). Effect of Mixing Alfalfa with Whole-Plant Corn in Different Proportions on Fermentation Characteristics and Bacterial Community of Silage. *Agriculture*, 11(2), 174-185.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agriculture11020174>
- Wang, M., Gao, R., Franco, M., Hannaway, D., Ke, W., Ding, Z., . . . Guo, X. (2021). Effect of Mixing Alfalfa with Whole-Plant Corn in Different Proportions on Fermentations Characteristics and Bacterial Community of Silage. *Agriculture*, 2(174), 11.  
<https://doi.org/https://www.mdpi.com/2077-0472/11/2/174>

## ANEXOS

### ANEXO 1

*Materias primas a ensilar*



### Anexo 2.

*Prueba de laboratorio de materia seca*



**Anexo 3.**

*Unidades experimentales*



**Anexo 4**

*Cultivo de levaduras*



## Anexo 5.

### Análisis de INIAP

MC-LSAIA-2201-07

		INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1. Cutuglagua Tlfs. 2690691-3007134. Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340			
<b>INFORME DE ENSAYO No: 23-083</b>					
*NOMBRE PETICIONARIO: Sr. Omar Sebastián Palacios		*INSTITUCIÓN: Particular		*ATENCIÓN: Sr. Omar Sebastián Palacios	
**DIRECCIÓN: Quito		**FECHA DE EMISIÓN: 23/06/2023		**FECHA DE RECEPCIÓN: 07-06-2023	
**FECHA DE ANÁLISIS: Del 07 al 23 de junio del 2023		HORA DE RECEPCIÓN: 8h30		ANÁLISIS SOLICITADO: Proteína y Azúcares Reductores	

ANÁLISIS	HUMEDAD	PROTEÍNA	AZÚCARES REDUC.	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.04	MO-LSAIA-21	
MÉTODO REF.	U.FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	WATADA 1955	
UNIDAD	%	%	%	
23-0425	76.20	15.27	0.40	Ensilaje T1 R1
23-0426	77.94	11.15	0.39	Ensilaje T2 R1
23-0427	83.23	14.55	0.42	Ensilaje T3 R1
23-0428	78.31	11.11	0.36	Ensilaje T4 R1
23-0429	82.56	11.38	0.65	Ensilaje T5 R1
23-0430	80.23	10.19	0.81	Ensilaje T6 R1
23-0431	75.63	16.58	0.58	Ensilaje Testigo

ANÁLISIS	HUMEDAD	AZÚCARES REDUC.	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-22	
MÉTODO REF.	U.FLORIDA 1970	DUBOIS 1956	
UNIDAD	%	%	
23-0432	75.92	0.41	Ensilaje T1 R2
23-0433	78.69	0.35	Ensilaje T1 R3
23-0434	78.32	0.38	Ensilaje T2 R2
23-0435	76.98	0.41	Ensilaje T2 R3
23-0436	80.18	0.39	Ensilaje T3 R2
23-0437	80.30	0.38	Ensilaje T3 R3
23-0438	81.11	0.35	Ensilaje T4 R2

Página 1 de 2

## Anexo 6

### Tabla de datos

Tratamientos	Ms	Proteína	Cap buffer	Tempe (est)	Azúcar	Levaduras	pH ( 0 días)	pH (45 días)	Temp (10 días)	Temp (21 días)	Temp (31 días)	Temp (45 días)
Unidad	%	%	meqNa OH/kg MS	°C	%	UFC	-----	-----	°C	°C	°C	°C
1	23,80	15,71	242,437	17,00	0,40	1150	6,39	3,33	15,7	15,7	15,7	16,6
1	24,08	15,30	247,924	17,00	0,41	990	6,4	3,88	15,8	15,5	15,8	16,2
1	21,31	15,60	294,228	17,00	0,35	1080	6,41	3,95	15,6	15,8	15,6	16,5
2	22,06	11,15	295,784	17,00	0,39	1230	6,39	3,39	15,8	15,6	15,8	16,1
2	21,68	12,63	324,262	17,00	0,38	1440	6,42	3,33	15,6	15,6	15,6	15,9
2	23,02	11,98	299,522	17,00	0,41	1540	6,39	3,91	15,7	15,7	15,7	16,4

3	16,77	14,66	395,34 9	17,00	0,42	1150	6,4	3,33	15,6	15,5	15,7	16,1
3	19,82	13,78	312,56 3	17,00	0,39	1090	6,38	3,59	15,5	15,8	15,5	16,5
3	19,70	14,25	344,92 4	17,00	0,38	1130	6,39	3,11	15,5	15,5	15,5	16,3
4	21,69	11,34	150,76 1	17,00	0,36	1240	6,38	3,45	15,5	15,4	15,6	16,8
4	18,89	11,86	103,49 4	17,00	0,35	1310	6,39	3,67	15,7	15,5	15,4	16,2
4	16,82	12,35	237,81 2	17,00	0,33	1450	6,38	3,85	15,8	15,6	15,4	16,4
5	17,44	10,90	255,73 4	17,00	0,65	1780	6,36	4,01	15,5	15,7	15,5	16,7
5	17,62	11,34	338,87 6	17,00	0,68	1630	6,4	3,44	15,8	15,7	15,5	16,3
5	17,38	11,32	149,31 0	17,00	0,71	1850	6,39	3,88	15,5	15,8	15,7	16,8
6	19,38	10,43	159,18 5	17,00	0,81	1540	6,37	3,92	15,6	15,7	15,6	16,3
6	20,98	10,67	123,68 9	17,00	0,84	1770	6,37	3,86	15,6	15,6	15,6	16,1
6	20,56	10,88	139,59 1	17,00	0,87	1850	6,4	3,45	15,7	15,7	15,8	16,8
7	24,37	16,58	179,31 9	21,00	0,58	4470	6,39	4,08	15,6	15,8	15,7	17,4
7	21,09	16,46	215,03 1	21,00	0,62	4350	6,38	4,01	15,7	15,6	15,9	17,3
7	19,38	15,90	247,39 4	21,00	0,64	3970	6,35	4,15	15,8	15,8	15,8	17,7