



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final para optar al Grado de Ingeniero Agrónomo

**APLICACIÓN DE INOCULANTE AL SILO DE MAÍZ PARA LOGRAR UN ALIMENTO
CONSERVADO DE ALTA CALIDAD.**

MARTÍN OTERO

DNI: 34.590.872

Directora: Méd.Vet.María Valeria Coniglio

Co-directora: Méd. Vet. María Eugenia Ortiz

Río Cuarto- Córdoba

Septiembre 2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**APLICACIÓN DE INOCULANTE AL SILO DE MAIZ PARA LOGRAR UN
ALIMENTO CONSERVADO DE ALTA CALIDAD**

Autor: Martin Otero

DNI: 34.590.872

Director: Méd. Vet. María Valeria Coniglio

Co-Director: Méd. Vet. María Eugenia Ortiz

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Fecha de Presentación:

_____/_____/_____

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por bancarme en todas, a mis amigos y compañeros que están siempre presentes, a mis directoras de tesis por su apoyo y buena voluntad, a los que participaron directa e indirectamente en la elaboración de este trabajo, a la Universidad Nacional de Río Cuarto por dejarme ser parte.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó los efectos de la inoculación del silaje de maíz, con bacterias heterofermentativas y homofermentativas, sobre los parámetros de calidad y estabilidad aeróbica. Durante el proceso se confeccionaron microsilos utilizando tubos de PVC como contendor, para ello se visitó el establecimiento San Miguel, en la Provincia de Córdoba, donde se obtuvo muestras durante el ensilado de un lote de maíz y fueron llevados al laboratorio de la cátedra de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Río Cuarto. El ensayo se realizó a través de un diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos: **Si1** (silaje con inóculo de bacterias heterolácticas), **Si2** (silaje con inóculo de bacterias homolácticas) y **Ssi** (silaje sin inocular) con tres repeticiones para cada tratamiento. A los 60 días de ensilado se abrieron los microsilos y se midió la concentración de MS, PB, FDN, FDA, LDA, Ácidos Grasos Volátiles y pH como así también la temperatura y el pH durante 12 días luego de la apertura de los mismos. Los resultados obtenidos indicaron que el nivel de proteína disminuyó en ambos tratamientos inoculados, posiblemente debido a un proceso de proteólisis generada por las bacterias. En el resto de las determinaciones no hubo diferencia significativa entre las pruebas. En cuanto a estabilidad aeróbica el silo sin inoculación presentó un aumento de la temperatura a la semana post apertura y ascenso del pH, indicando fermentaciones secundarias y desestabilización del material, no ocurriendo esto en las muestras con aditivo bacteriano. Se concluye que si bien el aditivo disminuyó los niveles de proteína en un silo de buena calidad y óptimas condiciones de fermentación, se mejoró en cuanto a la estabilidad aeróbica del material post apertura manteniendo así su calidad, siendo ventajoso frente a demoras en el suministro del forraje o bien frente a eventuales roturas del bolsón.

SUMMARY

In this paper the effects of corn silage inoculation with homofermentative and heterofermentative bacteria on the quality parameters and aerobic stability was evaluated. During the process microsilos were prepared using pipe as container, for which the establishment San Miguel was visited, in the province of Cordoba, where samples were obtained during the silage of corn and were taken to the laboratory of the Department of Animal Nutrition of the Universidad Nacional de Rio Cuarto. The test was conducted through a completely randomized design with three treatments: Si1 (silage with heterolactic bacterial inoculum) Si2 (silage with homolactic bacteria inoculum) and Ssi (uninoculated silage) with three replicates for each treatment. After 60 days of silage, the microsilos were opened and the concentration of DM, CP, NDF, ADF, LDA, Volatile Fatty Acids and pH was measured as well as temperature and pH for 12 days after opening (thereof was measured). Results showed that the protein level decreased in both inoculated treatments, possibly due to a process of proteolysis generated by bacteria. On remain determinations no significant difference between the tests was found. As regard the silo aerobic stability without inoculation showed an increase on temperature at week post opening and rise of pH, indicating a secondary fermentation and destabilization of the material, this not occurring in samples with bacterial additive. We conclude that while the additive decreased protein levels in a silage quality and optimum fermentation was improved in terms of aerobic stability of the material after opening thus maintaining its quality, being advantageous over delays in providing the forage or face possible plastic breaks.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	6
3. OBJETIVO.....	6
4. MATERIALES Y MÉTODOS	7
4.1 Desarrollo a campo.....	7
4.2.1 Confección de microsilos	9
4.2.2 Diseño Experimental	10
4.2.3 Acondicionamiento del material	10
4.2.5 Caracterización organoléptica	13
4.3 Estabilidad aeróbica	13
4.4 Análisis Estadístico	14
5. RESULTADOS.....	15
5.1 Evaluación sensorial de los ensilajes.....	15
5.2 Estabilidad Aeróbica	15
5.2.1 Variación de la Temperatura	15
5.2.2 Variación del pH	16
5.3 Valor nutritivo	17
5.4 Concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	21
6. DISCUSIÓN	25
7. CONCLUSIÓN	26
8. BIBLIOGRAFÍA.....	27

1. INTRODUCCIÓN

Los buenos resultados económicos de la agricultura generan, más que nunca, la necesidad de optimizar física y económicamente la utilización de los recursos destinados a la producción de carne, como forma de asegurar el sostenimiento de la actividad (De León *et al.*, 2009). Por ello surge en la actualidad la producción con animales estabulados, consumiendo alimentos concentrados o raciones con dietas balanceadas, permitiendo un óptimo consumo con el fin de aumentar la producción ganadera mediante el incremento de la carga animal y/o la producción individual (Santini, 2012).

Entre las características que se destacan en la alimentación a corral podemos mencionar que el tamaño reducido del potrero minimiza el recorrido de los animales teniendo como consecuencia un engorde más rápido, pero también un aumento del contenido graso de la carne. Se destaca a su vez, el uso de alimentos balanceados y la posibilidad de ubicarlos en zonas donde la ganadería tradicional a campo abierto (extensiva) no es posible. Aunque generalmente el encierre se reserva para la etapa final de engorde del animal, dada su eficiencia productiva, es normal que su uso se extienda a períodos cada vez más largos de su crianza como en recría. Es actualmente el método más eficiente para producir proteínas animales a partir de proteínas vegetales. En estos sistemas intensivos, uno de los recursos altamente utilizados es el silo de maíz. Se denomina silaje a todo material vegetal húmedo conservado por fermentación, que impide que otros microorganismos puedan descomponer el forraje y se conserve en estado succulento con su máximo valor nutritivo, sin que su ingestión pueda tener una influencia perniciosa sobre el crecimiento y la salud de los animales (Silveira y Reinaldo, 2006). A su vez permite ser una fuente de alimento ante situaciones adversas como ser en sequías prolongada (Basigalupo y Gallardo, 2007).

El proceso de elaboración de un silaje consiste en cortar, picar y compactar un forraje que se encuentra en valores adecuados de materia seca, donde se desarrollarán bacterias idealmente productoras de ácido láctico, las que harán descender el pH, conservando la masa ensilada (Piñeiro, 2010). La calidad final del material conservado depende tanto de las materias primas como de la aplicación adecuada de la técnica. Entre los factores de la materia prima se destacan la altura de corte, el nivel de humedad, el tamaño de las partículas y la porosidad de la masa forrajera. Además el valor nutritivo del ensilado de maíz puede ser mejorado con inoculantes bacterianos, los cuales contienen bacterias productoras de ácido láctico que se agregan a la población bacteriana natural para ayudar a garantizar una fermentación rápida y eficiente en el silo (Muck y Kung, 2009).

Particularmente un silaje de maíz sin inoculante, al momento de corte tendrá un pH de 6.0 a 6.8 siendo necesario para su conservación un descenso del pH a 3.8 a 4.2 en las primeras 48 horas.

Lograr esto en forma natural es difícil, debido a que la cantidad de bacterias productoras de ácido láctico es muy baja, 10 UFC/g (unidades formadoras de colonias), esto hará que el ensilado tenga una concentración baja de ácido láctico (<3%) (Seale, 2003).

Un parámetro a tener en cuenta es la estabilidad aeróbica del ensilaje, siendo ésta, la resistencia del forraje al deterioro después de la apertura del silo, o dicho de otro modo el tiempo que el ensilaje permanece estable sin alterar sus características tanto físicas como químicas en contacto con el aire (Jobim *et al.*, 2007). La estabilidad aeróbica también puede ser definida como la resistencia al aumento de la temperatura del ensilaje. Según el criterio de Kleinschmit y Kung (2006) y O'Kiely *et al.* (2001), la estabilidad aeróbica se define como la elevación de 2°C de la temperatura del ensilaje por encima de la temperatura ambiente da como medida el rompimiento de la estabilidad aeróbica. Los principales factores que determinan la velocidad con la que el material vegetal se deteriora son el aire, el sustrato y la temperatura, que están estrechamente relacionados (Argamentaría *et al.*, 1997). La estabilidad del ensilaje se ve determinada por la oxidación del sustrato que ocurre después de la abertura del silo, por tanto, la cantidad de material introducido dentro del silo determina la porosidad del ensilaje y por ende la concentración de oxígeno que ingresa una vez abierto (Jobim *et al.*, 2007). Al tratarse de un proceso biológico en el que se genera calor, se produce un aumento de la temperatura en la masa ensilada que puede dar lugar a serias pérdidas de materia seca y disminución de la digestibilidad de la proteína, unido a elevación de los valores de pH, como muestra de la inestabilidad alcanzada (de la Roza, 2005).

Las pérdidas en materia seca en ensilados con un alto porcentaje de humedad, expuestos al aire durante diez días pueden superar el 30 %, el pH puede llegar a alcanzar un valor de 9 y la digestibilidad de la proteína disminuye al incrementarse la temperatura de la masa ensilada incluso por encima de los 60°C Los efectos de los diversos aditivos sobre la estabilidad aeróbica son limitados (Martínez *et al.*, 2001). Cuando se ha restringido la fermentación de la masa forrajera mediante un secado parcial o adición de componentes químicos que ocasionen un descenso brusco del pH, los ensilados son más sensibles al deterioro por fermentación aeróbica, debido a una alteración en el normal desarrollo de bacterias ácido lácticas que cuando ha existido actividad de la flora productora de ácido láctico, ya sea por la propia microflora presente en el medio o por la adición de la misma a través de inoculantes biológicos (de la Roza, 2005), y la actividad de los microorganismos que descomponen ensilajes será más intensa, cuanto mejor sea la calidad del ensilaje, en función de los mayores contenidos de carbohidratos solubles en ácido láctico residual (OudeElferink *et al.*, 1999).

La fermentación en el proceso de ensilado puede ser favorecida por la aplicación de inoculantes bacterianos. Estos son productos naturales o industriales que se agregan a la masa del forraje de

manera que orientan o impiden ciertos tipos de fermentaciones, reduciendo las pérdidas y mejorando la estabilidad del silaje (Bragachini *et al.*, 2008).

Los aditivos bacterianos o inoculantes contienen cepas de bacterias seleccionadas que fermentan los azúcares simples en ácido láctico, acidificando rápidamente el medio, o en ácidos con poder anti fúngico que inhiben el crecimiento de hongos y levaduras que causan deterioro del material. Estas bacterias son clasificadas como homolácticas o heterolácticas. La mayoría de los inoculantes fueron desarrollados con el criterio de Whittenbury (1961), quien recomendaba que los inoculantes bacterianos debieran ser capaces de crecer vigorosamente y dominar la población natural durante la fermentación, ser homofermentativos y altamente tolerantes al medio ácido, para que se produzcan cantidades significativas de ácido láctico. El microorganismo que reunía todas estas características era el *Lactobacillus plantarum*, comúnmente utilizado en inoculantes bacterianos comercializados. *L. plantarum* es considerado como una bacteria homofermentativa cuando la glucosa no es un factor limitante. Así, en silajes con adecuada concentración de azúcares, *L. plantarum* normalmente sintetiza exclusivamente ácido láctico, (McDonald, 1991). Otra bacteria de uso comercial es *Enterococcus faecium* productora de ácido láctico en las primeras etapas de fermentación, usado como inoculante homoláctico en conjunto con *L. plantarum*, para dominar el inicio de la fermentación y rápidamente iniciar la reducción de pH, previniendo así la fermentación secundaria y finalmente reducir el pH a niveles que favorezcan el crecimiento de *L. plantarum* y otros lactobacillus (Filya *et al.*, 2007). Por otra parte están las bacterias heterofermentativas que producen ácido láctico y otros productos como etanol, CO₂ y ácido acético durante la fermentación de las hexosas (Oude *et al.*, 2001). La vía heteroláctica puede ser de interés, ya que esta produce agentes anti fúngicos como acetato y propionato aumentando estabilidad aeróbica de silos de maíz, sorgo y ryegrass (Tabacco *et al.*, 2011). *Lactobacillus buchneri* ha sido usado para aumentar la estabilidad aeróbica del maíz, cebada, alfalfa, sorgo, caña de azúcar, gramíneas y otros cultivos (Huisden *et al.*, 2009). Kung *et al.* (2003) realizaron un meta-análisis de 33 estudios para evaluar el efecto de *L. buchneri* en silos de maíz. Los autores observaron un aumento en la concentración de acetato, reducción de lactato y consecuente disminución de levadura. Los efectos de *L. buchneri* en silo de maíz fueron dependientes de la dosis de inoculante, dosis de 100.000 ufc/g fueron más efectivas que dosis por debajo de los 100.000 ufc/g.

Aunque la producción de ácido propiónico se evidencie en silos tratados con *L. buchneri*, esta bacteria no es responsable directa por la síntesis de este ácido. La combinación de ácido propiónico y acético resulta en un efecto anti fúngico sinérgico, lo cual aumenta la estabilidad del silo. Driehuis y colaboradores (1999) observaron que el silo de maíz tratado con dosis crecientes de *L. buchneri* resultaron en concentraciones crecientes de los ácidos acético y propiónico. Esta hipótesis fue

confirmada por Krooneman *et al.* (2002), que aislaron una nueva cepa de bacteria heteroláctica, conocida como *Lactobacillus diolivorans*. Estas cepas coexisten con *L. buchneri* y convierten 1,2-propanediol en 1-propanol y ácido propiónico. La presencia de ácido propiónico es el resultado de una coexistencia entre las dos bacterias y es por esto que el aumento de este ácido en silos tratados con *L. buchneri* es tan inconsistente.

El rol complementario de las bacterias homolácticas y heterolácticas en la fermentación del silaje ha llevado al desarrollo de inoculantes que contienen ambos tipos de bacterias, de manera de mejorar la fermentación y la estabilidad aeróbica del silaje. Estos inoculantes doble propósito han sido usados exitosamente para mejorar la preservación de los silos de maíz, alfalfa, sorgo y pasto Bermuda (Kung *et al.*, 2003).

Generalmente cada producto inoculante contiene una o más cepas de *Lactobacillus plantarum* y otras especies de lactobacilos, como pediococcus o estreptococos. Estas bacterias crecen rápidamente bajo una gran variedad de condiciones y producen mayormente ácido láctico cuando crecen en los azúcares del cultivo (Ramírez, 1999).

Según Sergio De Olivera (2006) la inoculación es importante para proteger al alimento, aumentando la cantidad de bacterias productoras de ácido láctico, además de impedir el crecimiento de hongos y la consecuente producción de micotoxinas.

El maíz y el sorgo son materiales ricos en azúcares lo que facilita la etapa inicial de la fermentación, acelerando este proceso, permitiendo suministrar el silo a una semana de finalizado el trabajo, siempre y cuando todos los factores que impactan en la confección del mismo hayan sido bien manejados (Perisco, 2012). Al inocular con lactobacilos se agrega una alta concentración de bacterias lácticas vivas, lo cual le otorga al ensilado una alta velocidad de fermentación láctica con elevada producción de ácido láctico (mayor al 6%), generando una rápida reducción del pH hasta valores de 3.8 a 4.2, en las primeras 24 horas, logrando la inhibición de microorganismos indeseables y pudiéndose utilizar en 24 a 48 horas.

Las materias nitrogenadas de las plantas están constituidas en su mayor parte por proteínas (70-80% del total) y en menor cuantía por aminoácidos libres, aminas y formas minerales (iones nitrato y amonio). Las proteínas se degradan a formas más simples del tipo aminoácidos y aminas, entre otros. Las proteasas hidrolizan las proteínas vegetales en péptidos y aminoácidos. Esta proteólisis disminuye a medida que el medio se acidifica, y se detiene cuando el pH desciende por debajo de 4. Esto explica que, incluso en buenos ensilados, el contenido de nitrógeno soluble sea mayor que el de la planta verde y que pueda representar más del 50% del nitrógeno total (Cañete y Sancha, 1998).

En cuanto a la proteína cruda cabe decir que el efecto del aditivo sobre esta dependerá de la variedad del forraje, tipo de inóculo empleado, edad de cosecha del material y condiciones del ensilaje. Pero lo que se debe destacar es el efecto dilución, esto refiere a que los porcentajes de materia seca del silo pueden variar pero la cantidad de proteína siempre es la misma, por ello cuanto mayor contenido de materia seca la cantidad de proteína se verá diluida respecto a un ensilaje con menor contenido de materia seca (Cubero, 2008).

Durante años se han llevado a cabo numerosos estudios demostrando que los inoculantes además de mejorar la conservación, razón tradicional por la que se usan, tienen otras ventajas como la reducción de las pérdidas de silaje y mejorar la digestión y el consumo de los forrajes. Esto conlleva un aumento en la producción individual por animal y por lo tanto un mayor beneficio (Seale, 2003).

2. HIPÓTESIS

La aplicación de inoculante al silaje de maíz mejora los parámetros de calidad y prolonga la estabilidad aeróbica del mismo con respecto a un sin inocular, permitiendo obtener un silaje de mejor calidad y con mayor valor nutritivo.

3. OBJETIVOS

General

Evaluar los efectos de la inoculación del silaje de maíz, con bacterias heterofermentativas y homofermentativas, sobre los parámetros de calidad y estabilidad aeróbica.

Específicos

- Evaluar la estabilidad aeróbica del material ensilado en términos de elevación de temperatura y pH.
- Evaluar la composición química de los materiales con y sin inoculación a través de las proporciones de Materia Seca, Cenizas, Fibra Detergente Ácida, Fibra Detergente Neutra, Lignina Detergente Ácida, Proteína Bruta, Ácidos Grasos Volátiles y pH.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Desarrollo a campo

Material vegetal

El material a utilizar para el ensayo pertenece al establecimiento San Miguel ubicado en la provincia de Córdoba de la república Argentina, provincia fitogeográfica del espinal, Región Pampa Arenosa Alta. Se trata de una llanura que suaviza gradualmente su relieve desde su inicio, en el área del piedemonte a los 600 m.s.n.m., hasta su contacto con la Pampa Arenosa Anegable, a una altitud de 150 m.s.n.m. La pendiente regional es continua y hacia el Este, si bien existen relieves locales definidos por el patrón de las formas individuales, que varían de fuertemente ondulado al Oeste (pendientes de hasta 7%), a plano al Este (pendientes inferiores a 1%).

Las características climáticas de la zona comprenden un régimen monzónico de precipitaciones de 781mm anuales con una temperatura media anual de 17,14°C, mínima media anual de 10,71°C, máxima media anual 23,48°C siendo -7°C la temperatura mínima extrema y 44°C la temperatura máxima extrema registrados en los meses de julio y enero respectivamente.

Los suelos de la región se componen principalmente de hapludoles típicos en un 50% con textura franco arenosa, ubicados en la loma, bien drenada, no sódica, siendo la limitante principal erosión hídrica actual. Como suelo secundario con un 30% se encuentran argiudoles típicos ubicados en la loma y terciario con 10% argiudoles típicos ubicados en pie de loma.

El establecimiento se ubica a 7 Km. al este del cruce “El Esquinazo” sobre el camino rural que conecta la ciudad de Río Cuarto con dicho paraje.

El lote donde se realizó el cultivo de maíz que fue ensilado posee una superficie de 10Ha aproximadamente, este provenía de un cultivo de soja manteniendo así la rotación entre gramíneas y leguminosas.

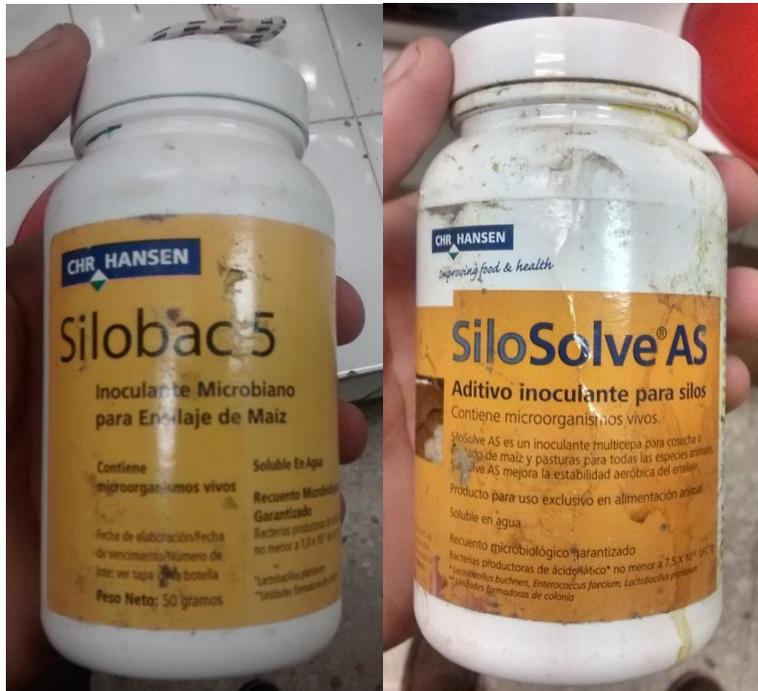
El cultivo de maíz fue sembrado el 29 de noviembre de 2013 con condiciones de humedad óptimas, el híbrido utilizado fue Tijereta 624 MGRR, lográndose una densidad de 62000PI/Ha, a siembra se fertilizó con 100Kg/Ha de PDA y 27 de diciembre de 2013 se aplicaron 100Kg de UREA. El ensilado se realizó el 22 de marzo de 2014 cuando el cultivo estaba en estado fenológico de media línea de leche, la maquina utilizada para el ensilado fue una Class 2012 siendo el tamaño de picado entre 2 y 3cm y el rendimiento total del lote fue de 810TnMV.



1. Lote experimental

Los inoculantes utilizados fueron Silobac 5 y SiloSolve AS de CHR HNSEN. Cada inoculante fue incorporado al material vegetal en la descarga de la corta-picadora de forraje al vagón forrajero. Durante la recolección del primer tercio del lote no se aplicó inoculante, en el segundo tercio se aplicó Silobac 5 y en el último tercio SiloSolve AS. Hacia el final de cada tercio se tomaron muestras de aproximadamente 10 Kg de cada material picado y tratado.

Luego de la recolectar la última muestra en el campo, estas fueron trasladadas a la Universidad Nacional de Río Cuarto a la Cátedra de Nutrición Animal donde se realizó la confección de microsilos.



2. Aditivos utilizados



3. Material ensilado

4.2 Desarrollo en laboratorio

4.2.1 Confección de microsilos

El ensayo se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de la FAV-UNRC.

Para la conservación del material se utilizó la técnica de microsilos, con tubos de PVC para el proceso de ensilado de 50 cm de largo y 110 milímetros de diámetro. Mediante de una prensa hidráulica se compactó el material en los tubos de PVC, que fueron cerrados y sellados herméticamente con cinta de embalaje para evitar el ingreso o salida de gases y asegurar el proceso de fermentación. Los microsilos se almacenaron a temperatura ambiente durante 60 días.



4. Compactación de microsilos

4.2.2 Diseño Experimental

El ensayo se realizó a través de un diseño completamente aleatorizado (diseño simple al azar) con tres tratamientos: **Si1** (silaje con inóculo de bacterias heterolácticas), **Si2** (silaje con inóculo de bacterias homolácticas) y **Ssi** (silaje sin inocular) con tres repeticiones ($r = 3$) para cada tratamiento.

4.2.3 Acondicionamiento del material

Se procedió a secar el material ensilado a 65°C en estufa con circulación forzada de aire durante 8 horas, inmediatamente luego de abrir los tubos de PVC.

El material se procesó mediante un molino tipo Wiley con criba de 1 mm.



5. Microsilos terminados

4.2.4 Determinaciones

- **Materia Seca (MS)**

Expresa el contenido de MS de un alimento y se obtiene secando la muestra en estufa con circulación forzada de aire a 65°C hasta peso constante (Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 1990).

- **Cenizas (C)**

La materia seca de un vegetal se compone de materia orgánica (MO) y de una fracción inorgánica o mineral (MI). Los minerales se mantienen inalterables a altas temperaturas, es posible separarlos de la fracción orgánica por un proceso de calcinado. Las cenizas corresponden al residuo inorgánico que deja una muestra al ser colocada en mufla a 500-600 °C durante tres horas (Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 1990).

- **Proteína bruta (PB)**

Se estima a partir del contenido de nitrógeno total de un alimento, determinado por el Método Kjeldahl, multiplicado por el factor 6,25 (Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 1990).

- **Fibra Detergente Ácido (FDA)**

Se realizó con el método de los Detergentes de Van Soest (Van Soest, P. J., 1966), donde se midió la porción de la muestra del alimento que es insoluble en un detergente ácido compuesta por celulosa lignina y sílice. La importancia de la misma radica en que está inversamente correlacionada con la digestibilidad del forraje y se determina según Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (1990).

- **Energía Metabólica (EM)**

La estimación de la EM se expresa en megacalorías por kilogramo de materia seca (Mcal/kg MS), se realizó a través de la utilización de determinaciones químicas del laboratorio. La ecuación utilizada es específica para cada tipo de alimento. Se utilizó la ecuación de Schmidt, *et al.* (1976) para la estimación de los materiales del ensayo.

$$EM \text{ (Mcal/Kg MS)} = 3.16 - (0.025 \times \%FDA)$$

- **Potencial Hidrógeno (pH)**

Para la valoración de pH se utilizó un potenciómetro sobre un extracto acuoso formado por una fracción de 25 g de ensilado y 250 mm de agua destilada tras una hora de reposo (Chemey and Chermey, 2003).



6. Medición de PH

4.2.5 Caracterización organoléptica

La valoración organoléptica del material se realizó al momento de la apertura de los microsilos según Gallardo (2003).

Color	<ol style="list-style-type: none">1. Verde oliva-levemente amarillento.2. Verde azuláceo, secciones oscuras.3. Marrón tabaco, secciones quemadas.	<ol style="list-style-type: none">1. Condiciones adecuadas.2. Material sobre maduro, ingreso de aire.3. Presencia de hongos, ingreso de aire.
Olor	<ol style="list-style-type: none">1. Agradable, aromático, dulzón.2. Fuertemente avinagrado.3. Rancio, putrefacto.4. A tabaco	<ol style="list-style-type: none">1. Condiciones adecuadas.2. Fermentación acética, material húmedo.3. Fermentación butírica, material contaminado con tierra.4. Material sobre maduro, reacción de Maillard.
Estado de madurez	<ol style="list-style-type: none">1. Hojas verdes, alta humedad al tacto, grano lechoso, efluentes.2. Hojas verdes, tallos flexibles, granos pastoso y procesado.3. Hojas amarillas, tallos duros, granos maduros y enteros, material seco.	<ol style="list-style-type: none">1. Cultivo inmaduro, sin oreo previo.2. Estado óptimo de madurez.3. Cultivo sobre maduro, estrés por falta de agua.
Textura	<ol style="list-style-type: none">1. Firme.2. Blanda y viscosa.3. Floja y mullida.	<ol style="list-style-type: none">1. Adecuado procesamiento.2. Exceso de humedad.3. Maduro, picado grueso, poca compactación.

4.3 Estabilidad aeróbica

La estabilidad aeróbica fue analizada sobre el material ensilado mediante el estudio de la variación de la temperatura, para ello se siguió la metodología propuesta por O'Kiely et al. (2001). Para ello se dispuso a realizar la apertura de microsilos y a colocar en baldes de 5 l alrededor de 800g de material Si1, Si2, Ssi respectivamente.

Se expusieron los baldes a condiciones ambientales y se midió la temperatura cada 12 horas durante 12 días.

Por otra parte los días 0, 3, 6, 9 y 12 se tomaron muestras de cada balde para medir el pH sobre el extracto acuoso de una fracción de 25g de ensilado en 250ml de agua destilada, tras 1 hora de reposo (Chemey and Chermey, 2003).



7. Medición de Temperatura



8. Termómetro de alcohol

4.4 Análisis Estadístico

Las variables de composición química estudiadas en los materiales ensilados, se analizaron por ANOVA en un diseño completamente aleatorizado con 3 tratamientos y 3 repeticiones. Las diferencias entre medias de tratamiento se compararon por el test de Tukey ($\alpha=5\%$).

5. RESULTADOS

5.1 Evaluación sensorial de los ensilajes

La evaluación sensorial se llevó a cabo al momento de la apertura de los microsilos. Todo el material presentó características favorables en cuanto al olor y textura, no hubo presencia de moho en la superficie, lo que indicaría que no se produjo ingreso de aire en los microsilos elaborados. El forraje utilizado presentaba un estado óptimo de madurez, ya que se pudo corroborar sensorialmente la presencia de hojas verdes, tallos flexibles y granos de maíz en estados pastosos y procesados. Por último, el método de elaboración para la realización del ensilado fue correcto u óptimo, ya que la textura del material fue firme.



5.2 Estabilidad Aeróbica

5.2.1 Variación de la Temperatura

En la **Figura 1**, se presenta la evolución de la T° del material ensilado en cada uno de los tratamientos inmediatamente después de la apertura de cada microsilo, observándose que la máxima T° de 32°C se produjo en el Ssi a las 216 hs, luego presenta un descenso de la misma, estabilizándose con la T° ambiente de 21 °C. Con respecto a los tratamientos Si1 y S2, la T° se mantuvo constante a los largo de los 12 días.

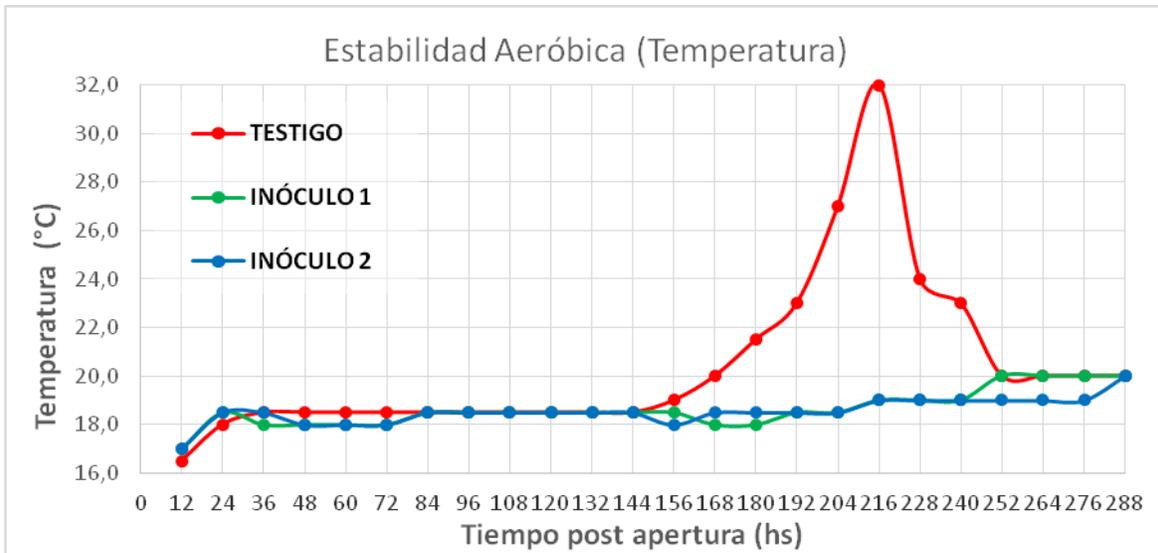


Figura 1: Temperatura (°C) del material ensilado luego de la apertura de los microsilos

5.2.2 Variación del pH

La Figura 2 demuestra el comportamiento del pH luego de la apertura de los microsilos durante 12 días. El pH del tratamiento Ssi se incrementó notablemente a partir del sexto día (144 hs), obteniendo un valor final de pH de 6. Los tratamientos Si1 y Si2 mostraron valores constantes a lo largo de los días, alrededor de un pH de 3,6 durante todo el tiempo evaluado.

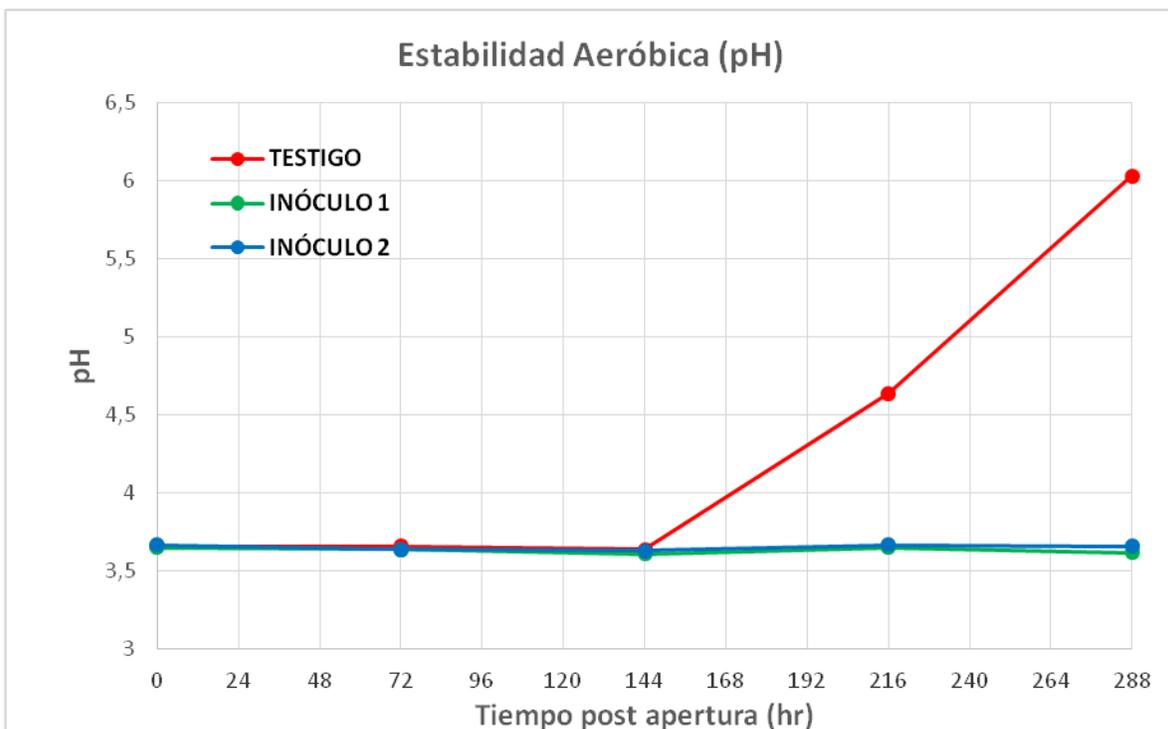


Figura 2: pH del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

5.3 Valor nutritivo

Los valores de las variables de composición química de los tres tratamientos se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Análisis químico nutricional a los 60 días de almacenamiento para el ensilado de maíz con y sin inóculo.

ANÁLISIS DE CALIDAD

	% MS	% C	%PB	%FDN	%FDA	%LDA	McalEM/Kg MS	pH
TESTIGO 1	27,94	8,07	9,3	33,58	18,01	2,41	2,710	3,74
TESTIGO 2	28,42	6,25	9,07	38,52	23,71	4,45	2,567	3,74
TESTIGO 3	26,25	4,62	9,9	37,6	23,3	3,39	2,578	3,64
INOCULO 1 I	27,71	6,8	8,76	36,74	20,26	2,63	2,654	3,72
INOCULO 1 II	27,99	5,79	7,42	36,96	20,8	2,77	2,640	3,75
INOCULO 1 III	29,91	4,37	7,8	37,1	23,8	3,19	2,565	3,59
INOCULO 2 I	29,96	6,5	6,84	45,66	21,34	2,69	2,627	3,75
INOCULO 2 II	29,04	6,41	6,63	43,66	25,51	3,38	2,522	3,75
INOCULO 2 III	30,06	4,38	6,9	40,5	25,6	3,44	2,520	4,38

Los datos del análisis estadístico de las variables de calidad nutricional de los tres tratamientos en estudio, se muestran en la **Tabla 2**. Las proporciones de MS, C, FDA, LDA, concentración energética y pH (**Figuras 3; 4; 5; 6; 7 y 8** respectivamente), no alcanzaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tres silajes en estudio luego de los 60 días de almacenamiento. En cuanto al %PB (**Figura 9**) la media del tratamiento sin inoculación fue superior ($P<0.05$) a la del inóculo 1 y a la del inóculo 2 ($P<0.01$), mientras que la media del inóculo 1 fue mayor ($P<0.05$) a la del inóculo 2. Por último el %FDN (**Figura 10**) fue significativamente mayor ($P<0,05$) en Si2 respecto a Ssi y Si1.

Tabla 2: Media y desvío estándar de las variables químicas nutricionales analizadas a la apertura de los microsilos tras 60 días de almacenamiento.

Variable	Ssi	Si1	Si2
%MS	27,537 ± 1,28	28,537 ± 1,37	29,687 ± 0,37
%C	6,313 ± 2,06	5,653 ± 1,28	5,653 ± 1,38
%PB	9,423 ± 0,35a	7,993 ± 0,76b	6,79 ± 0,16c
%FDN	36,567 ± 2,98a	36,933 ± 0,19a	43,273 ± 2,38b
%FDA	21,673 ± 2,03	21,62 ± 1,36	24,15 ± 2,81
%LDA	3,417 ± 1,03	2,863 ± 0,23	3,17 ± 0,48
McalEM/KgMS	2,618 ± 0,04	2,62 ± 0,05	2,556 ± 0,07
pH	3,707 ± 0,06	3,687 ± 0,09	3,96 ± 0,42

(a, b, c) Medias seguidas por distinta letra dentro de fila difieren significativamente ($P<0.05$)

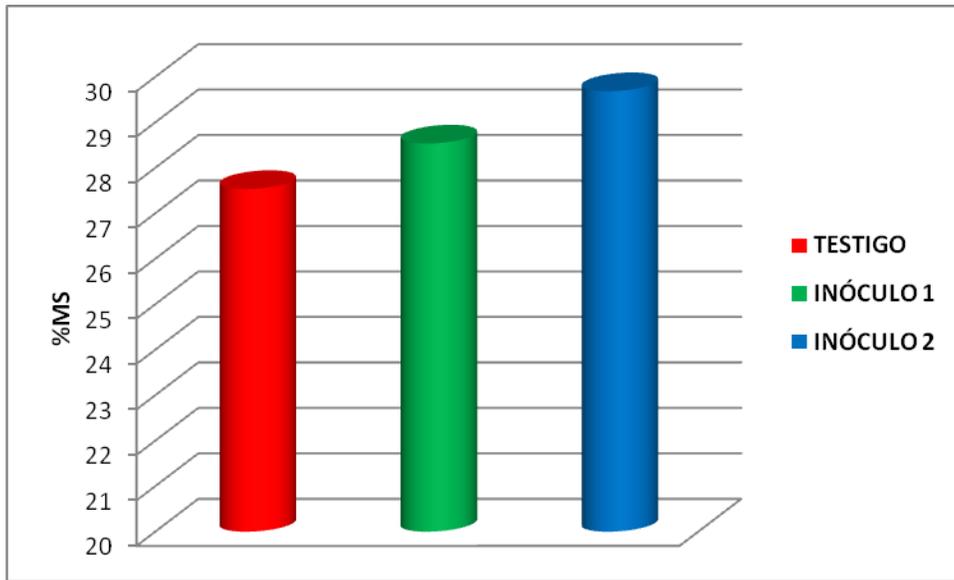


Figura 3: Porcentajes de Materia Secadelmaterial ensilado luego de la apertura de los microsilos

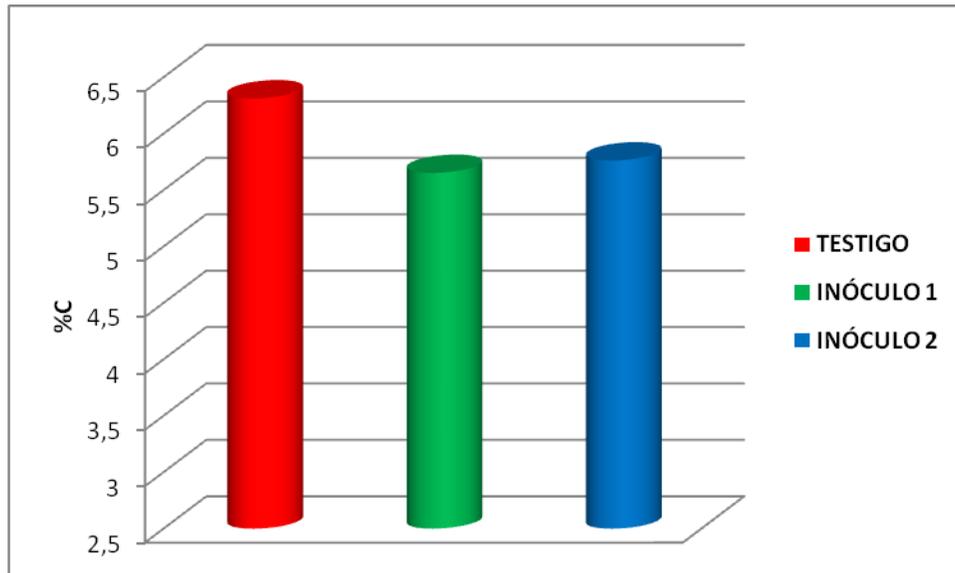


Figura 4: Porcentajes de Cenizadelmaterial ensilado luego de la apertura de los microsilos.

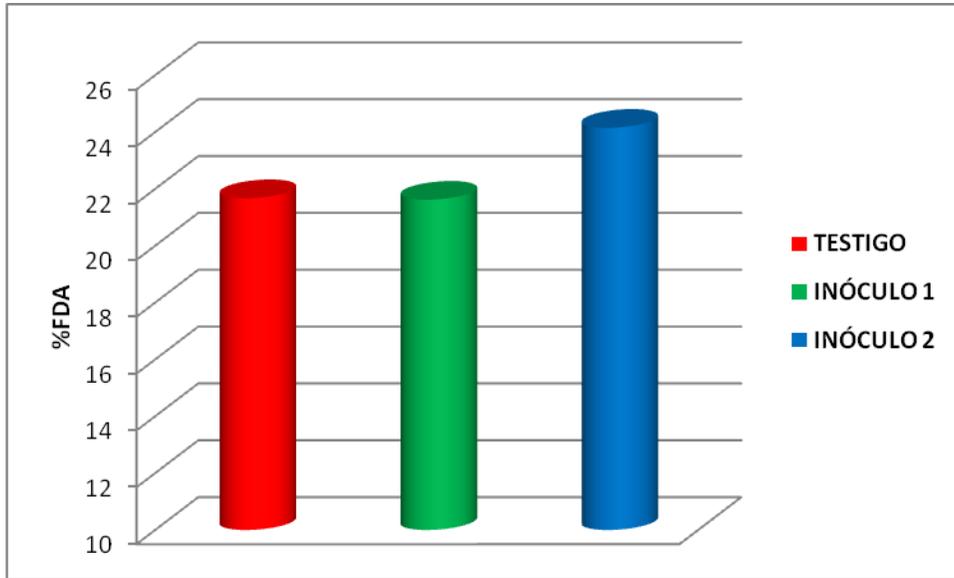


Figura 5: Porcentajes de Fibra detergente Ácido delmaterial ensilado luego de la apertura de los microsilos.

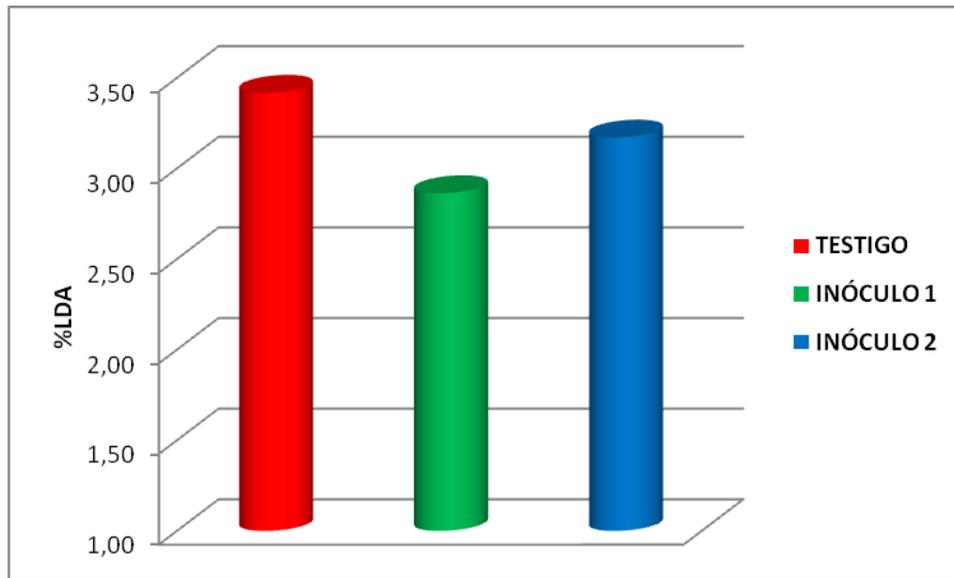


Figura 6: Porcentajes de Lignina Detergente Ácida delmaterial ensilado luego de la apertura de los microsilos

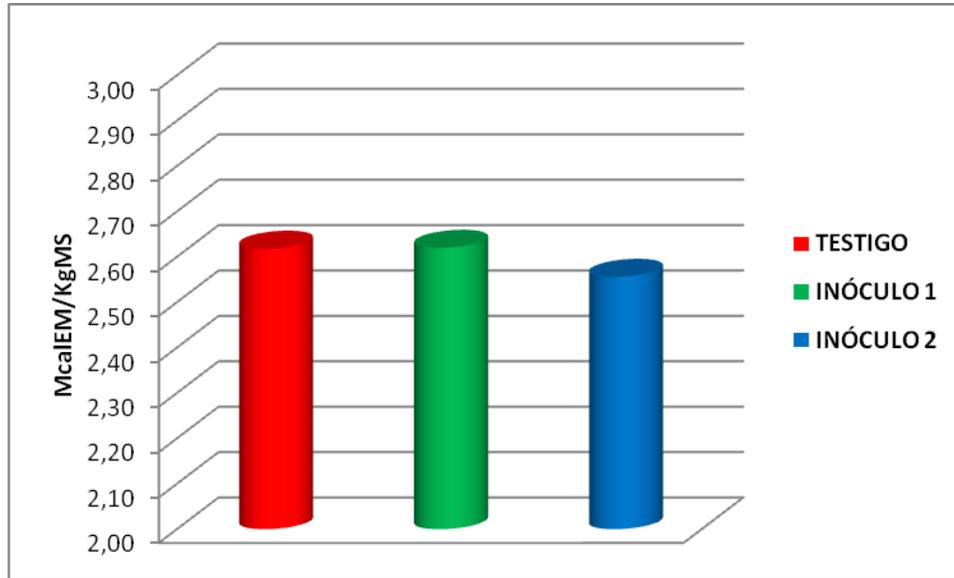


Figura 7: Concentración energética (McalEM/KgMS) del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

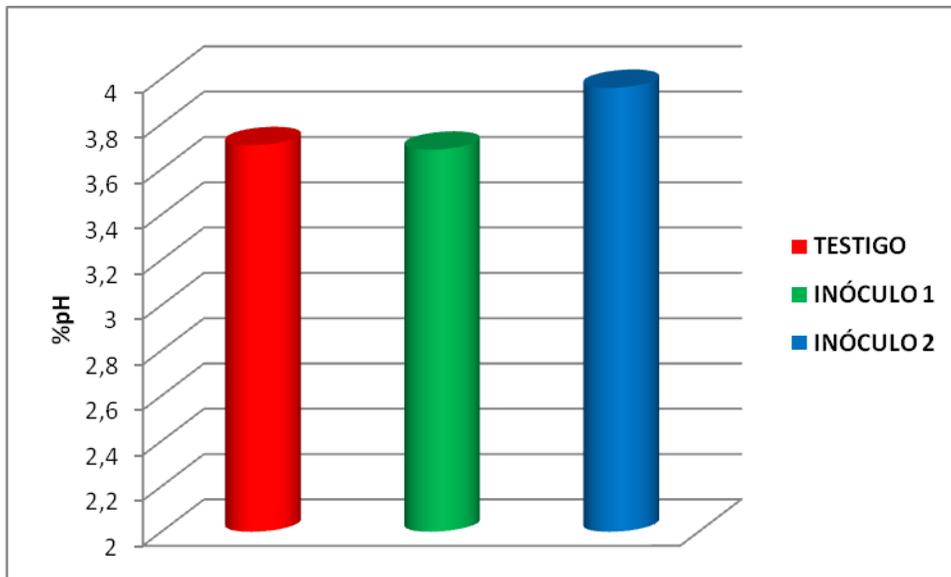


Figura 8: Porcentajes de pH del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

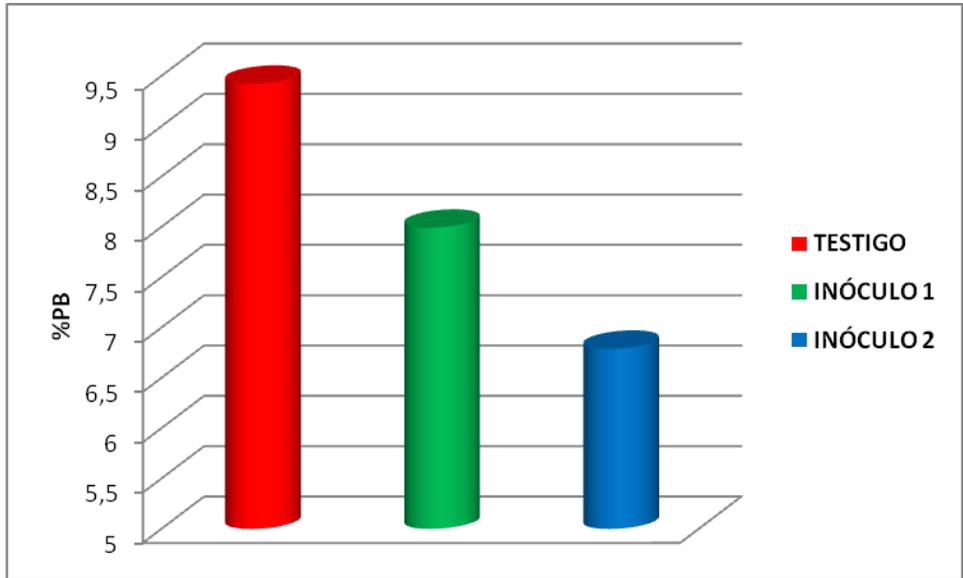


Figura 9: Porcentajes de Proteína Bruta del material ensilado luego de la apertura de los microsilos

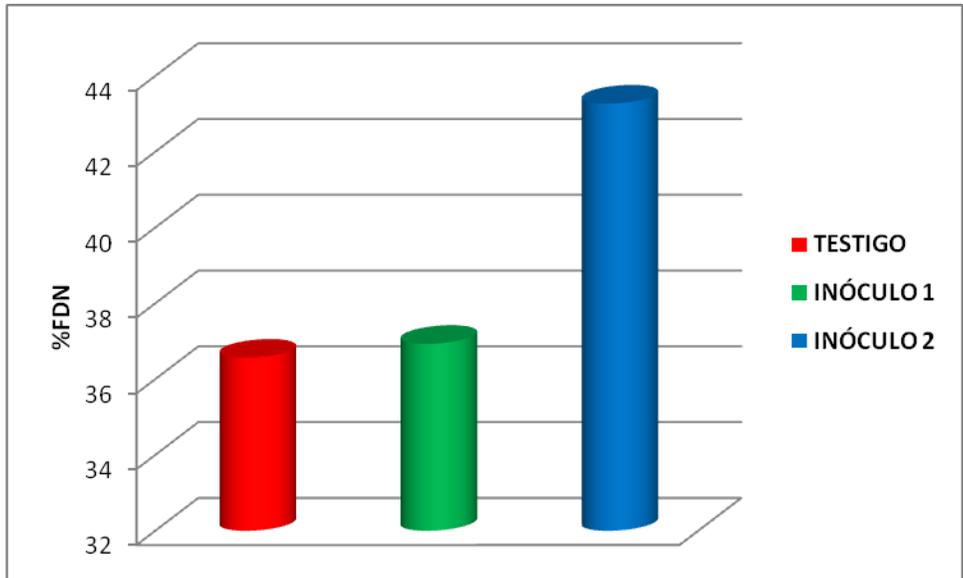


Figura 10: Porcentajes de Fibra Detergente Neutra del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

5.4 Concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

En la **Figura 11** se observa el porcentaje total de AGV con respecto al %MS en los tres materiales en estudio.

En las **Figuras 12, 13 y 14** se aprecian las concentraciones de ácido láctico, ácido acético y 1,2 propanediol en base al porcentaje al %MS respectivamente, a partir del análisis químico de los tres

materiales en estudio. Por último la **Figura 15** demuestra la concentración de ácido láctico respecto a la % AGV totales presentes en los silajes analizados.

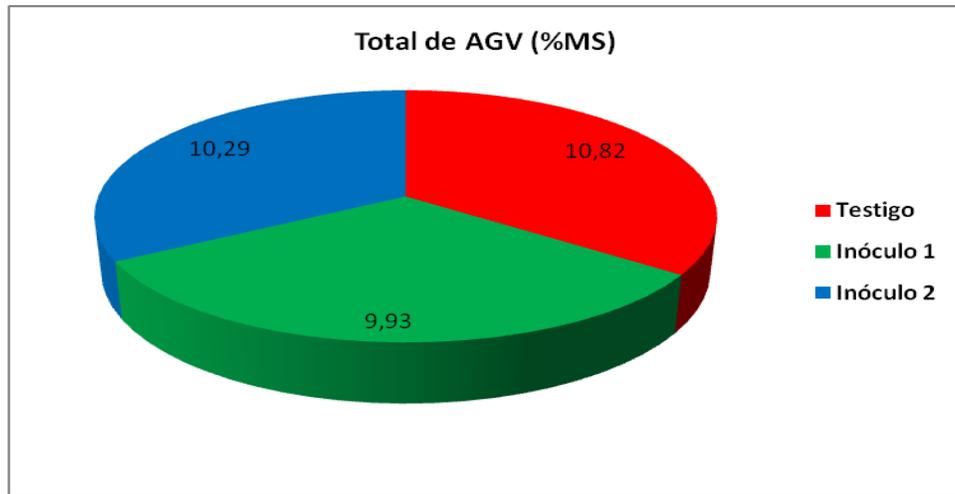


Figura 11: Porcentajes del Total de Ácidos Grasos Volátiles en base a la Materia Seca del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

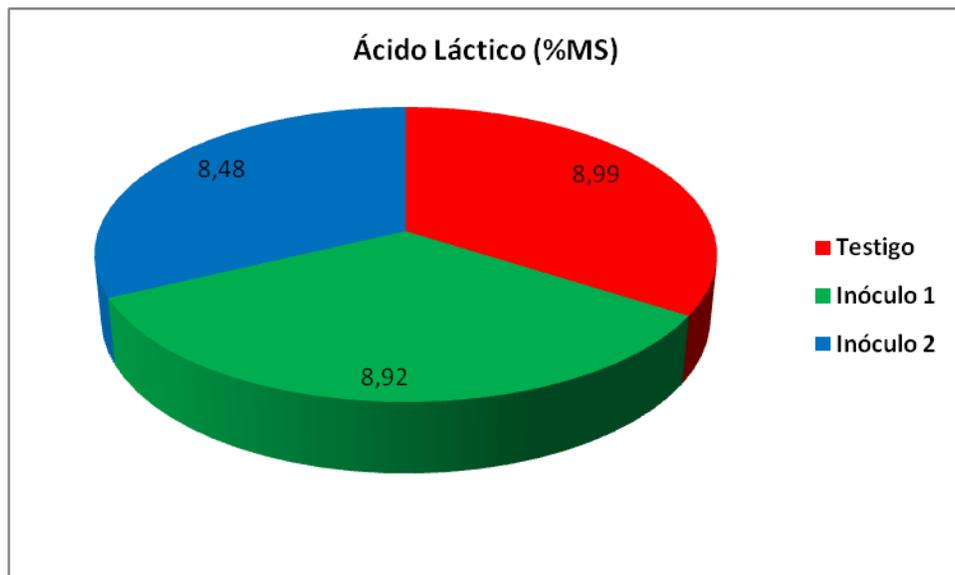


Figura 12: Porcentajes de Ácido Láctico en base a la Materia Seca del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

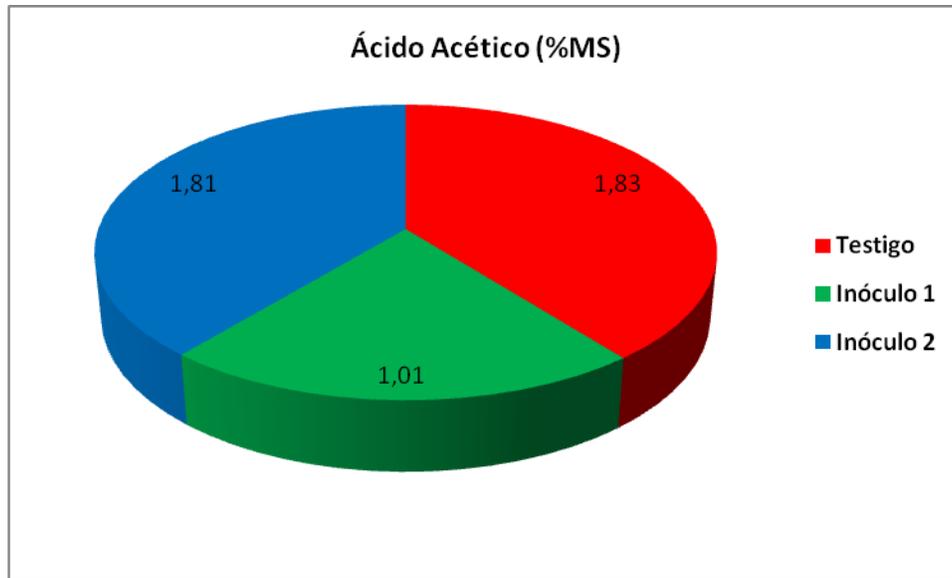


Figura 13: Porcentajes de Ácido Acético en base a la Materia Seca del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

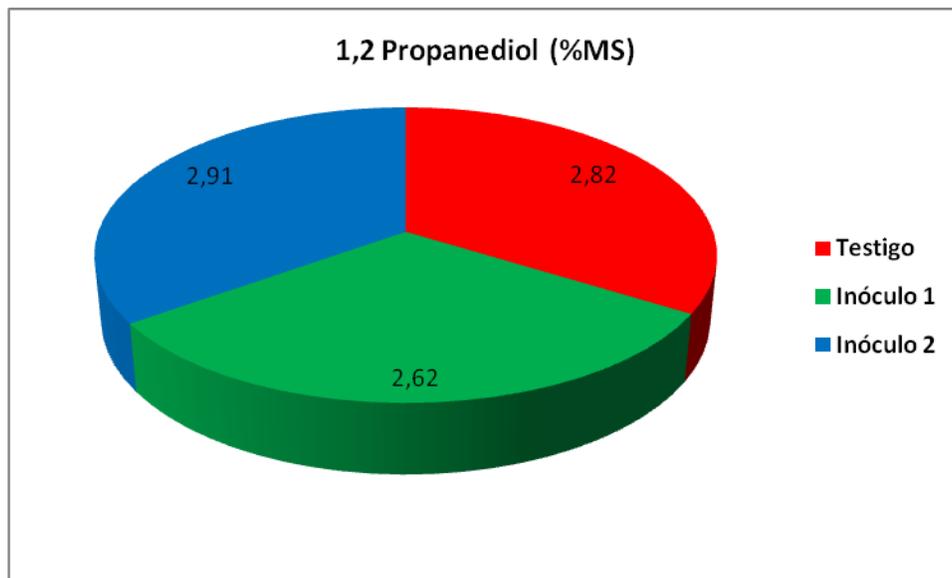


Figura 14: Porcentajes de 1,2 Propanediol en base a la Materia Seca del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

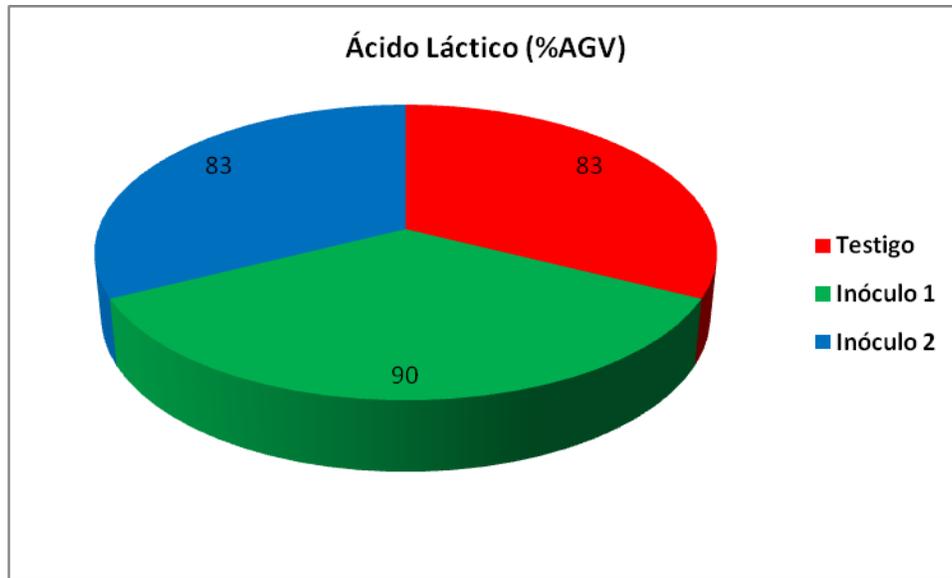


Figura 15: Porcentajes de Ácido Láctico en base a los Ácidos Grasos Volátiles totales del material ensilado luego de la apertura de los microsilos.

6. DISCUSIÓN

Luego de la apertura de los microsilos, realizando la evaluación sensorial de los mismos, se clasificó como materiales de buena calidad según lo señalado por Gallardo (2003), se estableció que el material sin inocular y los inoculados con bacterias hetero y homolácticas, presentaron características favorables en cuanto al olor y textura, en consecuencia durante el proceso de elaboración y almacenamiento de los microsilos, existió una adecuada fermentación (Basigalup y Gallardo, 2007).

Los valores de pH luego de los 60 días de almacenamiento no presentaron diferencias significativas entre tratamientos y estuvieron dentro de los parámetros normales como lo establece Piñeiro (2010), dado por el desarrollo de las bacterias productoras de ácido láctico que logran descender el pH para asegurar la conservación del material ensilado, para lo cual es imprescindible que el forraje utilizado como materia prima presente niveles de humedad adecuados para el proceso fermentativo (Muck y Kung, 2009). En el presente trabajo, el %MS obtenido del material ensilado fue óptimo y no presentó diferencias significativas entre los tratamientos al igual que las variables LDA, FDA, C y la concentración energética del material. En cuanto a los valores de FDN se observó un valor significativamente mayor en Si2 con respecto a los restantes tratamientos aunque dentro de los parámetros normales. La concentración proteica de los materiales inoculados fue menor respecto al testigo, esta reducción fue mayor en el Si2, estos resultados no eran los esperados tal como lo establece Cañete y Sancha (1998) quienes establecen que la proteólisis disminuye a medida que el medio se acidifica, este descenso de pH es favorecido con la incorporación de inóculos bacterianos. Los inóculos evaluados en el siguiente trabajo tendieron a reducir la concentración de proteína bruta, teniendo en cuenta que el porcentaje de materia seca no varió entre los tratamientos esto no pudo deberse a un efecto de dilución como lo indica Cubero (2008).

Luego de la apertura de los microsilos la evolución de la temperatura fue similar en los materiales inoculados manteniéndose constante a los largo de 12 días, en cambio en el tratamiento sin inocular el comportamiento fue diferente ya que hubo un ascenso abrupto de la misma a la semana post apertura coincidiendo con un aumento de pH tal como indica Kung *et al* (2003).

Las concentraciones de AGV en los materiales estudiados han presentado niveles esperados según Persico (2012), Ramirez (1999), Krooneman *et al.* (2012) y Filya y col (2007).

7. CONCLUSIÓN

La adición de inóculos bacterianos en ensilados, es una práctica muy utilizada en estos últimos tiempos para optimizar la conservación y mejorar la calidad.

En el presente estudio la incorporación de bacterias heterolácticas y homolácticas mejoraron la estabilidad aeróbica del silaje de maíz luego de la apertura de los mismos.

Los inóculos evaluados tienden a reducir la cantidad de PB y ejercen escaso efecto sobre el resto de la composición química de material ensilado.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC 1990. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition. Washington, DC, USA.
- ARGAMENTERÍA G., DE LA ROZA, A. MARTINEZ, L. SANCHEZ & A. MARTINEZ. 1997. El ensilado en Asturias. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria (CIATA), p. 1-127.
- BASIGALUPO, M. GALLARDO 2007. El cultivo de alfalfa en Argentina. Ediciones INTA, B. Aires, Argentina. Cap: 16. P. 173-192. Consejos técnicos. Hacer un buen silo hoy es mejorar la producción de mañana. DIARIO EL LITORAL. En: www.ellitoral.com/index.php/.../REG-02.html. Consultado: 09-08-2013.
- BRAGACHINI, M., P. CATTANI, M. GALLARDO & J. PEIRETTI. 2008 g. Forrajes conservados de alta calidad y aspectos relacionados al manejo nutricional. Ediciones INTA, B. Aires, Argentina. Cap: 9. Consultado: 09-08-13.
- CAÑETE M. V. & J. SACHA. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes, p. 1- 260.
- CHERNEY, J & CHERNEY, D. 2003. Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. Silage Science and Technology. Madison, Wisconsin, USA, p.141-198
- CUBERO F. 2008. Comparación del efecto de inóculos comerciales y artesanales sobre el proceso fermentativo del ensilaje de maíz (*Zea mays*). Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 60 p.
- DE LA ROZA B. 2005. El ensilado en zonas húmedas y sus indicadores de calidad. IV Jornadas de Alimentación Animal. Laboratorio de Mourisca de Lalín (Pontevedra), p. 1-20.
- DE LEON, M. 2009. Incremento de la producción de carne bovina en Córdoba. En: <http://inta.gob.ar/proyectos/cordo-620031> Consultado: 09-08-13.
- DÍAZ R., M. BRIZUELA, P. SERRANO, A. MARTINEZ & L. GONZALES. 2001. Inoculantes y otros aditivos en ensilajes. Efecto en el valor nutritivo de la paja de arroz. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, tomo 35, núm. 4, p. 337-343.

- DRIEHUIS F., O. & S. SPOELSTRA. 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *J. Appl. Microbiol.* 87:583–594.
- FILYA I., R. MUCK, & F. CONTRERAS, G. 2007. Inoculants effects on alfalfa silage: Fermentation products and nutritive value. *J. Dairy Sci.* 90:5108–5114.
- GALLARDO M. 2003. Tecnologías para corregir y mejorar la calidad de los Forrajes conservados. Circular planteos ganaderos, aapresid.org.ar. EEA INTA Rafaela-Santa fe, p. 51-61.
- HUISDEN C., A. ADESOGAN, S. KIM, & T. OSOSANYA. 2009. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 92:690–697.
- JOBIM C., L. NUSSIO, R. REIS Y P. SCHMIDT. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista brasileira de zootecnia*, v. 36, suplemento especial, p. 101-119.
- KLEINSCHMIT D. & L. KUNG. 2006. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn, grass and small grain silages. *J. Dairy Sci.* 89: 4005-4013.
- KROONEMAN, J., F. FABER, A. ALDERKAMP, S. OUDE ELFERINK, F. DRIEHUIS, I. CLEENWERCK, J. SWINGS, J. GOTTSCHAL, & M. VANCANNEYT. 2002. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2 – propanediol–degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:639–646.
- KUNGL., M. STOKES, & C. LIN. 2003. Silage additives. Pages 31305–3060 in *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. ASA–CSSA–SSSA, Madison, USA.
- MC DONALD P., N. HENDERSON, & S. HERON. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Chalcombe Publications, Bucks, UK.

- MUCK Y KUNG. Citado por RUIZ B., Y. CASTILLO, A. ANCHONDO, C. RODRÍGUEZ, R. BELTRAN, & J. PAYAN. 2009. Efecto de enzimas inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. Archivos de zootecnia vol. 58, núm. 222, p. 163-171.
- O'KIELY, P., CLANCY, M. & DOYLE, E. 2001. Aerobic stability of grass silage mixed with a range of concentrate feedstuffs at feed-out. In: International grassland congress., São Pedro-SP .Proceedings. Piracicaba - FEALQ, p.794-795.
- OLIVEIRA A. 1995. Inoculación en ensilajes y su importancia para una correcta conservación evitando el desarrollo de micotoxinas www.lactosilo.com/LinkClick.aspx?fileticket=ehHAh6jG7jg%3D&tabid=141&mid=1014
- OLIVEIRA, A. 2006 b. Tecnología para apuntar a silos con mayor calidad .DIARIO LA NACION. En: http://www.lanacion.com.ar/nota.asp?nota_id=781526. Consultado: 15-08-2013.
- OUDE, F., KROONEMAN J., GOTTSCHAL J, & SPOELSTRA S. 1999. Lactobacillus buchneri can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway, the anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol. p. 266-267, in: Pauly, 1999, q.v.
- OUDE, J. GOTTSCHAL, S. SPOELSTRA, F. FABER, & F. DRIEHUIS. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by Lactobacillus buchneri. Appl. Environ. Microbiol. 67:125-132.
- PIÑERO, G. 2006. Mejorando los resultados de silo. Revista Producir XXI, Febrero 2006. Pag:26.
- PIÑERO, G 2010, Manual Práctico LactoSilo Para Lograr Ensilados De Alta Calidad. 3^{ra} edición.
- PERISCO, G. 2012 a. La importancia de los pequeños detalles. Revista PRODUCIR XXI N°256. Pag: 34. Consultado: 15-08-2013.
- RAMÍREZ, E. 1999 a. Aditivos en la confección de silaje. En: www.produccionbovina.com.ar. Consultado: 09-08-2013.
- SANTINI, F. 2012. Hacia una mayor rentabilidad del sector ganadero y su integración en la cadena de valor. Ediciones INTA, Manfredi, Argentina. Pag:59.

- SCHMIDT A., GOODRICH R., GORDAN R., MARTEN G., & MEISKE J. 1976. Relationships among agronomic characteristics of corn and sorghum cultivars and silage quality. *Agronomy Journal*. 68:403-406
- SEALE, D. 2003 a. Uso de inoculantes para mejorar la calidad del silo. DIARIO PLANETA SEMEXESPAÑA. En: http://semex.es/index.php?mod=archive_document_detail&id=55&fil_id_category=2. Consultado: 15-08-2013.
- SILVEIRA P. & F. REINALDO. 2006. Conservación de forrajes: segunda parte. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, ISSN 1695-7504. pdf //www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106/110606. Consultado: 25-08-2013.
- TABACCO, L. 2011. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J. Dairy Sci.* 84:1149–1155.
- VAN SOEST P., J. ROBERTSON & B. LEWIS. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dietary Sci.*, 74: 3583 – 3597.