



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final presentado para optar al Grado de
Ingeniero Agrónomo

Modalidad: Proyecto

EGRADACION IN SITU EN RUMIANTES, DE SILO DE MAIZ
CON Y SIN LA APLICACIÓN DE INOCULANTES

MARCO A. RUIZ DE HUIDOBRO

DNI: 30.638.068

Directora: Méd. Vet. María Eugenia Ortiz

Co-directora: Ing. Agr. Mariela Bruno

Río Cuarto - Córdoba

Mayo 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**DEGRADACION IN SITU EN RUMIANTES DE SILO DE MAIZ CON Y SIN
LA APLICACIÓN DE INOCULANTES**

MARCO ANTONIO RUIZ DE HUIDOBRO

30.638.068

Director: Méd. Vet. María Eugenia Ortiz

Co-Director: Ing. Agr. Mariela Bruno

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

Fecha de Presentación:

____/____/____

Secretario Académico

DEDICATORIA

A mis padres por apoyarme incondicionalmente en este largo camino, por creer siempre en mí, pero sobre todo por brindarme la posibilidad de poder formarme en una casa de altos estudios como lo es la UNRC, a mis hermanos por siempre estar a mi lado por tener siempre un abrazo para contenerme o las palabras justas para darme el aliento necesario para seguir. Y por último a mis dos estrellas que desde algún cielo marcaron mi rumbo para estar hoy aquí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por no dejarme solo jamás y guiarme aun en mis horas más difíciles. A mis Amigos con quienes compartí miles de mates y asados mientras las horas de estudio se acumulaban; las anécdotas y recuerdos que me llevo se trenzaron en lazos de amistad que serán eternos. A mis profesores de la Cátedra de Nutrición Animal de la UNRC por capacitarme, por brindarme la posibilidad de realizar mi Trabajo Final de Grado pero fundamentalmente por dejarme formar parte de un excelente grupo humano. A mi segundo hogar, la Unidad de Viveros de la UNRC, donde siempre encontré un refugio y contención en las palabras de un buen amigo. Y por último agradezco a la UNRC porque con encuentros y desencuentros nos enseña a valorarla, quererla, respetarla y sentirse orgullosos de haber podido formar parte de ella.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	6
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Desarrollo a campo	7
Desarrollo en laboratorio	14
Análisis estadístico	14
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIÓN	20
BIBLIGRAFÍA	21

RESUMEN

Los inoculantes para ensilaje de maíz en base a bacterias homofermentativas y heterofermentativas permiten alcanzar la estabilidad del mismo con mayor rapidez que en forma natural, preservando su calidad. Estudios revelan que aumentan la digestibilidad del silaje, pero no existen suficientes evidencias al respecto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la degradabilidad ruminal del silo de maíz con y sin la aplicación de inoculantes en base bacterias homofermentativas y heterofermentativas. El ensayo se realizó utilizando material (planta entera de maíz picado) cosechado en el suroeste de la Provincia de Córdoba, ensilado en tubos de PVC. Los tratamientos que se realizaron fueron silo sin inoculante (T) y silos tratados con inoculantes comerciales, utilizando bacterias homofermentativas en base a *Lactobacillus plantarum* (L) y heterofermentativas basado en multicepas *Lactobacillus buchneri*, *Enterococcus faecium* y *Lactobacillus plantarum* (M). Luego de 60 días las muestras de cada tratamiento se secaron en estufa a 65°C y se colocaron en bolsas para rumen (Ankom®) a razón de 12,5 mg MS/cm², en dos series (repeticiones) con intervalo de 14 días. Las bolsas se introdujeron en el rumen por cuadruplicado para cada serie, tratamiento y tiempo de incubación (3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 y 72 hs). La degradabilidad a cada tiempo de incubación se calculó por diferencia entre peso seco inicial y final. Los valores de degradabilidad se ajustaron al modelo: $D = a + b(1 - e^{-ct})$; donde D : degradabilidad, a : fracción soluble, b : fracción potencialmente degradable, c : tasa fraccional de degradación y t : tiempo de incubación. La diferencia entre curvas se evaluó en base al solapamiento de los intervalos de confianza (95%), se calculó el coeficiente de correlación dentro de curva y se compararon los parámetros por ANOVA con tres tratamientos y dos repeticiones. En cuanto a los resultados arrojados por el estudio los intervalos de confianza de M no se solapan con los de T y L, indicando una degradación significativamente menor en M, que podría estar asociada a la mayor proporción de FDN en M. Por el contrario, el solapado de los intervalos entre T y L sugieren que no habría diferencias significativas entre estos tratamientos. Se encontró diferencia ($P < 0.1$) en la fracción soluble (parámetro a) de T mayor que la de M. El resto de los parámetros no mostró diferencias significativas entre tratamientos. El inoculante homofermentativo, no produjo diferencias en degradabilidad ruminal respecto del silaje testigo sin inocular, mientras que el heterofermentativo genera un silaje con mayor proporción de fibra, lo que reduciría la degradabilidad y podría afectar la digestibilidad del material.

SUMMARY

The corn silage inoculants based on homofermentative and heterofermentative bacteria allow to reach stability faster than it naturally, preserving its quality. Studies show that increase the digestibility of silage, but there is insufficient evidence for it. The aim of this study was to evaluate the ruminal degradability of corn silage with and without the application of inoculants based homofermentative and heterofermentative bacteria. The test was performed using the material (whole plant chopped corn) harvested in the southwest of the province of Cordoba, ensiled in PVC pipes. The treatments performed were silo without inoculant (T) and treated with commercial inoculants silos, using homofermentative bacteria *Lactobacillus plantarum* based (L) and heterofermentative *Lactobacillus buchneri* based on multi-strain, *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus plantarum* (M). After 60 days the samples of each treatment were oven dried at 65 ° C and placed in bags for rumen (Ankom®) at a rate of 12.5 mg MS / cm² in two series (repetitions) with 14-day interval. The bags were introduced into the rumen in quadruplicate for each series, treatment and incubation time (3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 and 72 hours). Degradability each incubation time was calculated as the difference between initial and final dry weight. Degradability values were adjusted to the model: $D = a + b(1 - e^{-ct})$; where D: degradability, a: soluble fraction, b: potentially degradable fraction, c: fractional rate of degradation and t: time of incubation. The difference between curves was evaluated based on the overlap of confidence intervals (95%), the correlation coefficient curve was calculated within and parameters by ANOVA with three treatments and two replications were compared. As for the results obtained from the study of the confidence intervals do not overlap M with T and L, indicating significantly less degradation in M, which could be associated with the highest proportion of NDF in M. Conversely, the overlap interval between T and L would suggest that no significant difference between these treatments. (P <0.1) was found in the soluble fraction (parameter a) greater than T M. The other parameters showed no significant difference between treatments. The homofermentative inoculant produced no differences in ruminal degradability respect uninoculated silage, while the heterofermentative generates a silage with a higher proportion of fiber, reducing the degradability and could affect the digestibility of the material.

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.*, 2012). 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 la producción individual (Santini, 2012).

La actual intensificación determina altos requerimientos nutricionales y esto hace necesario contar con forrajes de alta calidad para no comprometer la producción de los animales. Para lograr mantener producciones elevadas y continuas durante el año, con cargas medianas a altas, es necesario compensar el déficit estacional con el uso de forrajes conservados y granos. Los primeros pueden ser obtenidos con los excedentes de las pasturas o con cultivos sembrados para tal fin. Existe una diversidad importante de cultivos que pueden ser conservados, difiriendo en rendimiento de materia seca por hectárea (MS/ha) y calidad. La elección de un sistema de conservación dependerá principalmente de la especie forrajera disponible y las condiciones climáticas imperantes en la región. Como métodos de conservación más relevantes utilizados en la producción ganadera en Argentina, se destacan los procesos de henificación utilizados para la alfalfa y el silaje llevados a cabo con forrajes de gramíneas tal como el maíz y el sorgo (Bruno *et al.*, 1997). Particularmente los silajes ya no son considerados como una reserva forrajera de uso ocasional, ya que su utilización en la actualidad es un elemento estratégico en la planificación de sistemas intensivos de alta producción y rentabilidad (De León, 2014). En estos sistemas uno de los recursos altamente utilizados es el silo de maíz, ya que posibilita conservar al forraje, permitiendo mejorar el desbalance nutricional durante todo el año y ser una fuente de alimento ante situaciones adversas como una sequía prolongada (Basigalup y Gallardo, 2007).

La calidad de un silaje resulta de la interacción entre la calidad del material de origen y la calidad del proceso de ensilado. En el mismo se debe poner particular atención, en la siembra del material y en su confección (Piñeiro, 2006). La conservación del material vegetal verde se logra por los procesos fermentativos naturales donde la intervención de los microorganismos presentes en la masa ensilada crean un medio ácido, producto de su propio metabolismo, que impide que otros microorganismos puedan descomponer el material conservado. El silaje permite que el forraje, rico en carbohidratos solubles, se conserve en estado succulento con su máximo valor alimenticio, sin que su ingestión pueda tener una influencia perniciosa sobre el crecimiento y la salud de los animales

(Silveira y Reinaldo, 2006). Para lograr el objetivo de la conservación del forraje, el mismo, se corta, pica y compacta. Para ello el material a utilizar deberá poseer valores adecuados de materia seca para permitir el desarrollo de bacterias idealmente productoras de ácido láctico, las que harán descender el pH, conservando la masa ensilada (Piñeiro, 2010).

El silaje de maíz, particularmente se caracteriza por poseer al momento de corte un pH de 6.0 a 6.8, siendo necesario para su conservación un descenso del mismo a valores de 3.8 a 4.2, en las primeras 48 horas, esta rápida variación no es posible de lograr en forma natural, debido a que la concentración de bacterias productoras de ácido láctico es muy baja, siendo alrededor de 10 unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g), resultando en que la velocidad de fermentación láctica sea muy baja con la consiguiente insuficiencia en producción de ácido láctico, favoreciendo la fermentación aeróbica en la primeras horas del proceso, retardando el momento óptimo para su utilización (Seale, 2003). En razón de esto, la aplicación de inoculantes bacterianos acelera la fermentación, favoreciendo la estabilidad del material en un corto plazo. Estos inoculantes son productos naturales o industriales que se incorporan 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). De Olivera (2006) establece que 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. 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). Particularmente *L. plantarum* es una bacteria gram positiva que se encuentra en alimentos fermentados y silajes (Kung *et al.*, 2003). La capacidad de sobrevivencia de este microorganismo y sus propiedades fisiológicas y bioquímicas hacen que sea un perfecto candidato para incorporar como inoculante en los silajes (Archibald and Fridovich, 1981). Actualmente esta bacteria es considerada herterofermentativa facultativa, ya que en ausencia de glucosa, puede fermentar pentosas hasta ácido láctico, gas carbónico y ácido acético por vías heterofermentativas (Holzer *et al.*, 2003). No obstante la misma puede ser considerada como homofermentativa cuando la glucosa no es un factor limitante. Así en silajes con adecuada concentración de azúcares como el de maíz, normalmente sintetiza exclusivamente ácido láctico (Mc Donald, 1991).

El maíz y el sorgo inoculados al ser materiales ricos en azúcares, facilita la etapa inicial de la fermentación, acelerando este proceso, permitiendo suministrar el silo una semana luego de finalizado el trabajo, siempre y cuando todos los factores que impactan en la confección del mismo

hayan sido óptimos (Perisco, 2012). Al inocular con lactobacilos se agrega una elevada concentración de bacterias lácticas vivas, lo cual le otorga al ensilado una rápida velocidad de fermentación láctica con alta producción de ácido láctico (mayor al 6%), transfiriéndole una rápida reducción del pH inicial a 3.8 - 4.2 en las primeras 24 horas, logrando la inhibición de microorganismos indeseables y pudiendo utilizarse en 24 a 48 horas. En el mercado hay disponibles otras cepas utilizadas en combinación con las mencionadas anteriormente, tal es el caso de *Enterococcus faecium*, que se caracteriza por crecer en un rango de pH entre 4,5 - 9. Ambas trabajan complementándose y sus producciones están dirigidas a la formación de ácido láctico. Esta combinación está dada por la necesidad de lograr dominar rápidamente el inicio de la fermentación y comenzar la reducción de pH, previniendo las fermentaciones secundarias y favoreciendo el crecimiento de *L. plantarum* y otros lactobacillus (Cai, 1999).

Con respecto a las bacterias heterofermentativas, las mismas producen ácido láctico y otros productos como etanol, CO₂ y ácido acético durante la fermentación de la hexosa (Oude Elferink *et al.*, 2001). Otra característica asociada a las mismas es la producción de agentes antifúngicos como acetato y propionato (Krooneman, 2002). La principal representante de este grupo es la bacteria *Lactobacillus buchneri*, quien es el inoculante heterofermentativo comúnmente usado en el mercado, caracterizada por ser gram positiva y de respiración anaeróbica. Una de sus propiedades más importantes es la capacidad de producir ácido acético en un medio ácido (Queiroz, 2014).

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

En cuanto a la mejor digestión que producen los inoculantes, se ha documentado en ovinos, que la adición al alimento de ciertos microorganismos resulta una disminución de bacterias patógenas en el intestino, mejorando el crecimiento, engorde y el índice de conversión, además de incrementar la digestibilidad de la fibra (Lema *et al.*, 2001). Algunos inoculantes pueden mejorar la performance animal por incremento del consumo, ganancia de peso, producción de leche y/o eficiencia en la conversión. Estas mejoras son debidas principalmente al aumento de la digestibilidad aunque también contribuyen otros factores, como los niveles reducidos de alcohol y ácido acético que incrementan la palatabilidad del silaje y ayudan a mejorar el desarrollo microbiano en el rumen (Ramirez, 1999).

Existen distintos métodos para estimar digestibilidad de los alimentos, entre ellas podemos mencionar a la digestibilidad de la materia orgánica in vivo (DMO), definida como la proporción de

materia orgánica del alimento digerida en todo el tracto digestivo, es una medida de la energía disponible para los rumiantes (Tamminga *et al.*, 1994). Experimentos in vivo para determinar la DMO de los forrajes son costosos y laboriosos, siendo muchas veces perjudiciales para el bienestar animal. Por lo tanto, se han desarrollado técnicas alternativas in vitro para predecir la digestibilidad de la materia orgánica, entre las cuales se encuentra la técnica de Tilley and Terry (1963) y la técnica de pepsina - celulasa (McLeod and Steingass, 1998). Estas técnicas muestran una alta correlación con la DMO y son utilizadas en laboratorios a nivel mundial para la evaluación de alimentos (Gosselink *et al.*, 2004^a, b). La degradabilidad ruminal in situ (Mehrez and Orskov, 1997) es posiblemente la más utilizada por su posibilidad de predecir la digestibilidad in vivo, incluso el consumo, ha sido reportada en varios trabajos (Orskov and Mc Donald, 1979; Orskov, 2000; Ahmed and El-Hag, 2004). Una de las aplicaciones de los procedimientos para la evaluación de alimento destinado a los animales es la predicción de su digestibilidad. El tamaño y naturaleza de las partículas de los forrajes que consume el animal afectan la tasa de pasaje en el rumen, por lo tanto su accesibilidad y tiempo de exposición. Así, la tasa y extensión de la degradación varía según las proporciones de determinados tejidos, la madurez de la planta, el engrosamiento y la lignificación de las paredes celulares y la presencia de metabolitos secundarios que impiden la acción microbiana (Wilson, 1993; Alves de Brito *et al.*, 1999).

Di Marco (2013) señala que la Degradabilidad del conjunto de hojas y tallos (stover) de distintos híbridos de sorgo, incluyendo los BMR (escasa lignina y alta digestibilidad), se encuentra en el rango de 40 a 45%, siendo comparable a la degradación de la planta de maíz.

Estudios realizados sobre la degradabilidad in situ del silo sin inocular (INTA Manfredi) revelaron que la degradabilidad del mismo varía de 22 a 63% dependiendo del tiempo de incubación (De León, 2012). Aello (2007) realizó una investigación sobre la degradabilidad in situ para silajes de maíz con distintos niveles de inclusión de granos, reportando valores que fueron desde 20,2% para tratamientos sin grano, hasta 83,4% para el tratamiento con una inclusión del 50% de granos. Continuando con esta línea de investigación (Lopez de Armentia *et al.* 2008) reveló valores de degradabilidad en un rango de 29 a 54% para tratamientos con mayor o menor inclusión de grano utilizando la técnica de in vitro. En EEA INTA Balcarce, Gutiérrez (2008) reportó valores de degradabilidad de la materia seca (DMS) de ensilado de Raigrass (*Lolium multiflorum*) de 54,6. En otro ensayo realizado por Gutiérrez (2012) al comparar un silo de maíz inoculado con respecto a otro sin inocular, observó que la inoculación produjo una mejora del 6% en su digestibilidad (67.2% vs 63.8%) relacionándose esto con la disminución de la fracción de fibra detergente neutra (FDN). Por su parte Ruiz *et al.* (2009) estudió el efecto de enzimas e inoculantes sobre la

composición del ensilaje de maíz, reportando que la adición de inoculantes bacterianos incrementó el contenido de FDN en los híbridos de maíz tratados.

Otero (2015) determinó en su estudio que la proporción de FDN varía, según se utilicen cepas bacterianas homofermentativas o heterofermentativas (36,93% y 42,27% respectivamente).

El silo de maíz, al ser utilizado como una herramienta muchas veces insustituible para estabilizar la oferta forrajera, el valor nutritivo del mismo indudablemente repercutirá en aquellas producciones ganaderas donde se utilice, donde conocer la degradabilidad ruminal del mismo será de gran utilidad (Abdelhadi, 2006).

HIPÓTESIS

La aplicación de distintos inoculantes en el silaje de maíz aumenta la degradabilidad en rumiantes.

OBJETIVOS

➤ General

Evaluar la calidad del silaje inoculado a través de la degradabilidad in situ, en comparación con un silaje sin inocular.

➤ Específicos

- Implementar la técnica de degradabilidad in situ.
- Estimar la degradabilidad ruminal a través de los resultados de la técnica in situ.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Desarrollo a Campo

1.2 Material vegetal

El presente trabajo se llevó a cabo en el establecimiento “San Miguel” situado en un ambiente representativo del centro-sur de la provincia de Córdoba, departamento Río Cuarto, Argentina. El departamento de Río Cuarto está conformado por cuatro grandes unidades ambientales, ubicándose Río Cuarto en la llanura subhúmeda bien drenada con suelos, en su mayoría, hapludoles típicos, sin problemas de drenaje interno o externo, caracterizándose por un relieve plano con pendientes menores al 2%, y bien desarrollados, sobre materiales loésicos, franco-arenosos (Cantero *et al.*, 1998).

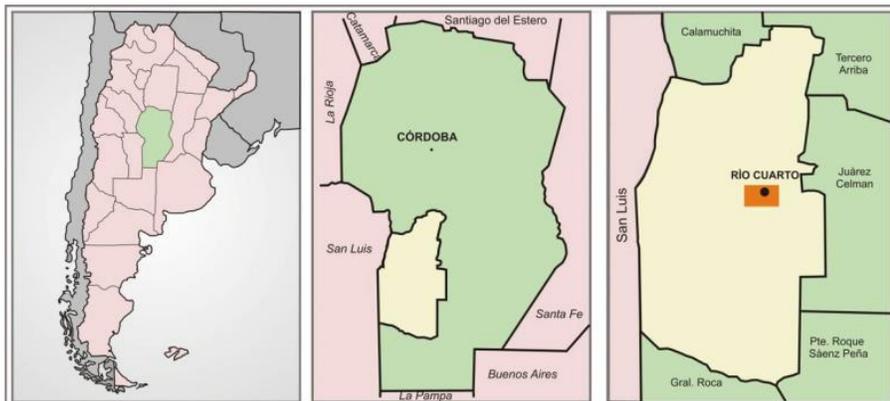


Figura 1: Ubicación del departamento Río Cuarto

El clima es templado-subhúmedo, con una media anual de precipitaciones de 805,1 mm (serie 1974-1994), concentrándose entre los meses de octubre y abril.

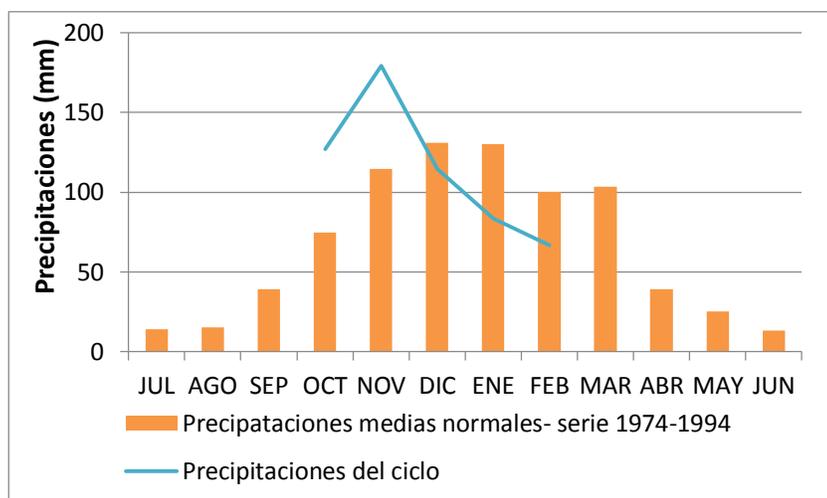


Figura 2: Valores medios normales de precipitaciones serie 1974-1994 y valores del ciclo del cultivo 2013-2014

El régimen térmico es templado-mesotermal, caracterizado por una temperatura media anual de 16,5°C, con máxima media para el mes más cálido (enero) de 29°C y una mínima media de 3°C para el mes más frío (julio). El periodo medio libre de heladas es de 255,7 días, la fecha media de la primera helada es el 25 de mayo ($\pm 14,3$ días) y de la última el 12 de septiembre con una desviación de $\pm 20,3$ días (Seiler *et al.*, 1995).

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 10 ha aproximadamente, esta provenía de un cultivo de soja, manteniendo así la rotación entre gramíneas y leguminosas.

La siembra del cultivo se realizó el 29 de noviembre de 2013, con una densidad de 62.000 plantas ha^{-1} , a un distanciamiento entre hileras de 0,525 m, utilizando un híbrido simple de La Tijereta (624 MGRR). Con una fertilización a la siembra de 100 kg ha^{-1} de fosfato diamónico y el 27 de diciembre se aplicaron 100 kg de UREA (46% N). Las dosis de fertilización se determinó analizando el aporte del suelo y el requerimiento del cultivo. El ensilado se llevó a cabo el día 22 de marzo de 2014, cuando el cultivo estaba en estado fisiológico de media línea de leche. La máquina utilizada para llevar a cabo el ensilado fue una Class® 2012, siendo el tamaño del picado entre 2 y 3 cm y el rendimiento del lote fue de 810 Tn de materia verde.



Imagen 1: Lote experimental

Los inoculantes utilizados fueron Silobac 5 y SiloSolve AS de CHR HANSEN®. 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 con SiloSolve. Hacia el final de cada tercio se tomaron muestras de aproximadamente 10 kg de cada material picado y tratado.

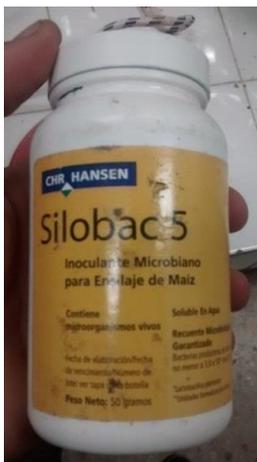


Imagen 2: Inoculantes utilizados y material procesado

2. Desarrollo en Laboratorio

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 11 cm de diámetro. Mediante el uso de una prensa hidráulica se logró compactar el material en los tubos de PVC, que fueron cerrados y sellados herméticamente mediante el uso de cintas y una tapa de PVC para evitar la salida de gases y material, de esta forma asegurar el proceso de fermentación durante 60 días.



Imagen 3: Microsilos

2.2 Diseño Experimental

El ensayo se realizó a través de un diseño completamente aleatorizado (diseño simple al azar) con tres tratamientos: **T** (silaje sin inocular), **L** (silaje inoculado con bacterias homofermentativas) y **M** (silaje inoculado con bacterias heterofermentativas).

2.3 Acondicionamiento del material

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

El material se procesó mediante un molino tipo Wiley con criba de 1mm obteniendo un tamaño uniforme de partículas.



Imagen 4: Molino tipo Wiley



Imagen 5: Procesamiento de muestra

2.4 Determinaciones

- **Materia Seca (MS)**

Expresa el contenido de MS de un alimento y se obtuvo 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).

- **Valor Nutritivo**

Los datos del análisis de calidad nutricional de los tres tratamientos en estudio se muestran en la tabla 1.

	% MS	% C	%PB	%FDN	%FDA	%LDA	pH
TESTIGO 1	27,94	8,07	9,3	33,58	18,01	2,41	3,74
TESTIGO 2	28,42	6,25	9,07	38,52	23,71	4,45	3,74
LACTOB. 1 I	27,71	6,8	8,76	36,74	20,26	2,63	3,72
LACTOB. 1 II	27,99	5,79	7,42	36,96	20,8	2,77	3,75
MULTICEP. 2 I	29,96	6,5	6,84	45,66	21,34	2,69	3,75
MULTICEP 2 II	29,04	6,41	6,63	43,66	25,51	3,38	3,75

Tabla 1: Análisis de calidad del material ensilado

- **Degradabilidad in situ**

Se incubaron muestras de silaje de maíz (*Zea mays*) (5 g) en el rumen de un novillo (450 kg de peso vivo) provisto de fistula ruminal, alimentado a nivel de mantenimiento con heno de alfalfa, siguiendo el procedimiento de Vanzant *et al.* (1996).



Imagen 6. Alimentación previa a la realización del estudio para realizar el acostumbramiento ruminal correspondiente.

Las muestras fueron colocadas en bolsas para rumen (ANKOM[®]) de 10 x 20 cm y 50 x 20 μ m de poro, resultando una relación muestra superficie de la bolsita de 12,5 mg MS/cm² (Ankom, Fairport, NY, EE.UU). Las bolsas se sellaron colocando banditas elásticas en su extremo, luego de lo cual se sujetaron a una botella de plástico provista en su interior de grava para lograr un peso de 250 g y se colocaron en una malla plástica de 30 x 25 cm.



Imagen 7. Bolsas para rumen y malla de plástico.

Las bolsas se incubaron durante 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48 y 72 hs, en dos tandas diferentes. En cada tanda de incubación se incluyeron bolsas duplicadas de cada una de las muestras para cada tiempo de incubación y el promedio de las dos bolsas por tratamiento se consideró como unidad experimental. Una vez extraídas, las bolsas se lavaron individualmente y luego se lavaron con agua fría en una lavadora semiautomática (3 ciclos de 10 minutos).



Imagen 8. Extracción y lavado de las bolsas

Posteriormente se secaron a 105°C durante 48 hs para la determinación de la desaparición de MS a los distintos tiempos de incubación. Para la estimación de la fracción soluble del material se sumergieron en agua a 3 °C durante 20 minutos y luego se secaron en estufa a 105°C. Se analizó la MS del residuo de incubación, para estimar su cinética de desaparición. La degradabilidad a cada tiempo de incubación se calculó por diferencia entre peso seco inicial y final.

3. Análisis Estadístico

A los valores de degradabilidad se los ajustó al siguiente modelo:

$$D = a + b(1 - e^{-ct})$$

Donde *D*: Degradabilidad, *a*: fracción soluble, *b*: fracción potencialmente degradable, *c*: tasa fraccional de degradación y *t*: tiempo de incubación.

Los parámetros de degradabilidad de los materiales ensilados, se analizaron por ANOVA en un diseño completamente aleatorizado con 3 tratamientos y dos repeticiones.

Para evaluar la confiabilidad de los modelos usados para describir los datos, sin sobre o subestimar sistemáticamente ninguna sección de la curva, se determinó el número de corridas de signo de los residuales. Con respecto a la evaluación con bondad de ajuste se estableció la proporción de la variación explicada por R^2 , calculada como: $1 - \text{RMS}/S^2$, donde RMS es la media de residuales cuadrados y S^2 es la varianza total de variable Y. Por último se determinó el tiempo a partir del cual la curva se presenta asintótica. La diferencia entre curvas se evaluó en base al solapamiento de los intervalos de confianza (95%).

RESULTADOS

La desaparición del material en las bolsas de rumen a través del tiempo permitió estimar la degradabilidad de la MS del alimento por la actividad microbiana ruminal. En función de esto los datos obtenidos para la primer lectura correspondiente a las 3 hs de incubación, se determinó una degradabilidad del silo de 36; 35 y 33,5% para T; L y M respectivamente y de 56; 56 y 54% para los mismos tratamientos realizados a las 72 hs.

	Testigo	Lactobacilus	Multiceps
<i>a</i>	32.8971 ± 0.6797	32.444 ± 0.5994	30.994 ± 0.4255
<i>b</i>	25.08 ± 0.8431	26.8255 ± 0.9358	25.713 ± 0.6720
<i>c</i>	0.0382 ± 0.0041	0.033 ± 0.0055	0.0326 ± 0.0026
R^2	0,9704	0,9728	0,9496

Tabla 2. Parámetros (desvío estándar y R^2) de cada tratamiento

Al analizar estadísticamente los tratamientos se observó que los intervalos de confianza de M no se solapan con los de T y L, indicando una degradación significativamente menor ($P<0.05$) en M (Figura 3). Por el contrario, el solapado de los intervalos entre T y L sugiere que no presenta diferencias significativas entre estos tratamientos.

En la tabla 2 pueden observarse los parámetros correspondientes al modelo empleado, el cual demuestra una diferencia significativa ($P<0.1$) en la fracción soluble (a) de T mayor que la de M. El resto de los parámetros no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.

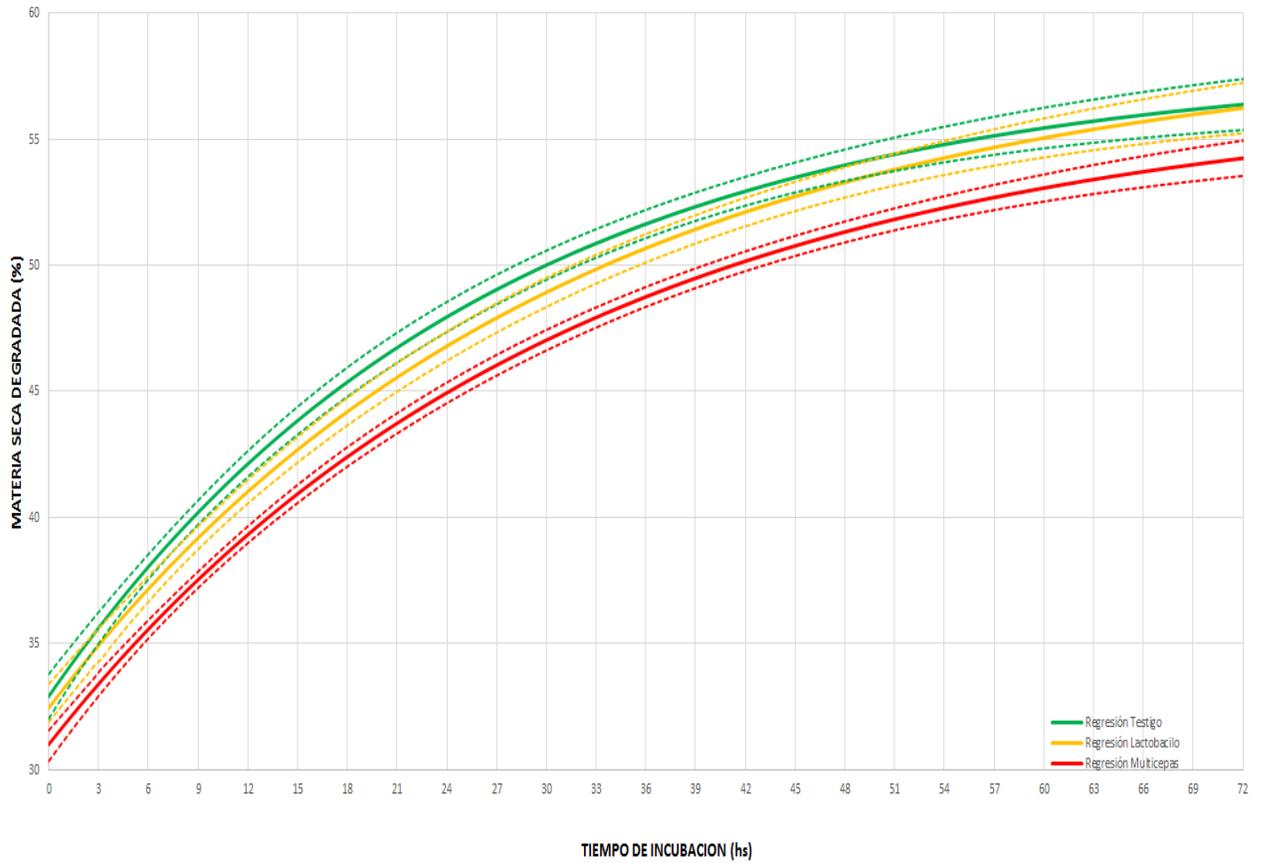


Figura 3. Curvas de degradación de materia seca. Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza 95% y las líneas llenas las degradabilidad.

DISCUSIÓN

Al realizar la técnica de degradabilidad *in situ* en un novillo con fistula ruminal, pese a sus limitaciones, es una herramienta valiosa disponible para el uso en nutrición animal. Según Adesogan *et al.* (1998); Dhanoa *et al.* (1999); Valentin *et al.* (1999) un importante factor a considerar es que generalmente la fracción soluble (a) es sobrestimada, debido a que su determinación puede estar influenciada por las pérdidas de pequeñas partículas que pasan a través de los poros de las bolsitas, principalmente durante los primeros horarios de incubación. Molina *et al.*, (2002) determinó la fracción “a”, constituida por sacarosa, fructuosa, glucosa, pequeñas cantidades de manosa y galactosa, presentó valores bajos con respecto a la bibliografía consultada, por lo cual este parámetro obtenido en el ensayo no fue tenido en cuenta para el análisis estadístico de los datos, el mismo se estimó en función del modelo Mehrez y Orskov (1997). Sólo se analizó la fracción degradable del material (b) en estudio.

La técnica de degradabilidad ruminal *in situ* reportado por Mererv y Orskov (1997) permite predecir la digestibilidad *in vivo* con un alto grado de confiabilidad. Si bien la digestibilidad aparente *in vivo* se puede obtener a partir de la diferencia entre las cantidades consumidas de alimento y las excretadas en heces, la misma requiere del uso de arneses especiales o jaulas metabólicas durante un período de tiempo preestablecido (Minson, 1990), lo cual hace a esta metodología laboriosa, requiriendo de tiempo y de gran cantidad de recursos económicos y humanos. Por lo que es utilizada solamente con fines experimentales en escasas ocasiones (Adesogan, 2002; Siciliano-Jones, 2002). Otra técnica utilizada es la *in vitro*, que consiste en utilizar enzimas y licor ruminal simulando los procesos de digestión del rumiante, la cual presenta como principal desventaja el requerimiento de animales dadores de inóculo. Estas técnicas tienen la limitante de que si bien estima la digestibilidad final del sustrato, las mismas no proveen información sobre la cinética de digestión (Getachew *et al.*, 1998).

El material utilizado no presenta variación en cuanto a la proporción de granos que posee, por lo tanto los valores de degradabilidad no serían a causa de una mayor o menor inclusión de granos en el mismo, tal como lo estableció Aello (2007), donde los valores reportados de degradación *in situ* fueron una consecuencia de los distintos niveles de inclusión de grano en los silos de maíz.

Con respecto a la calidad del silo de maíz, los tres materiales en estudio presentaron características similares a excepción del material original utilizado para el tratamiento M, el mismo arrojó valores de FDN superiores a los encontrados en T y L; lo cual se correspondería con lo encontrado por Otero (2015) quien reportó que los valores de FDN para silos inoculados podrían ser

levemente superiores respecto al control. Similares resultados a nuestro trabajo han sido reportados por Ruiz *et al.* (2009) quienes encontraron mayores valores de FDN para los silos tratados con inoculantes respecto al tratamiento control. En cambio Gutiérrez (2012) reportó en su trabajo que los silos inoculados presentaban una menor fracción de FDN que impactaría en forma directa sobre la digestión del forraje, corroborando lo encontrado por Seale (2003) quien sostuvo que la aplicación de los mismos mejoraba la digestión del forraje. Esta mayor proporción de FDN encontrada en M podría estar asociada a la menor degradación que presentó el tratamiento M, respecto a los otros tratamientos. Esto podría explicarse debido a la mayor utilización por parte de las bacterias de las fracciones más solubles de la planta de maíz respecto a las fracciones fibrosas, lo cual estaría indicando que la suma de todas las diferencias de los parámetros a, b y c no alcanzarían a ser significativas para decir con certeza que existen diferencias, pero sí que quizás exista una tendencia marcada por el parámetro “a” que implique mayores valores para T respecto de M.

CONCLUSIÓN

La técnica de degradabilidad in situ realizada en el presente ensayo permitió evaluar la calidad de los materiales estudiados. En cuanto a la degradabilidad ruminal no se encontraron diferencias significativas, por lo tanto sería necesario evaluar la digestibilidad total para concluir definitivamente sobre el efecto de los inoculantes utilizados sobre la calidad del silaje. De todas formas habría que aumentar el número “n” de muestras ya que quizás incrementando su número se puedan encontrar mayores variaciones.

A fin de de precisar los efectos de los inoculantes, sería necesario secar las muestras para analizar por liofilización, dado que las pérdidas de ácidos grasos volátiles en el secado en estufa, podrían llegar a incrementar dichas pérdidas.

De todas formas al no existir demasiados antecedentes en el país respecto al efecto de los inoculantes bacterianos sobre la degradación ruminal en silo de maíz, los resultados expuestos en el presente trabajo son preliminares para una futura profundización sobre el estudio de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

ABDELAHADI, L. and F. SANTINI. 2006. Corn silage vs. grain sorghum silage as a supplement to growing steers grazing high quality pastures: *Effects on performance and ruminal fermentation*. *Anim Feed Sci Technol*. 127(1-2):33-43.

ADESOGAN, A.; OWEN, E. and D. GIVENS. 1998. Prediction of the in vivo digestibility of whole crop wheat from in vitro digestibility, chemical composition, in situ rumen degradability, in vitro gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci*. 74: 259-272.

ADESOGAN, A. 2002. What are feeds worth? A critical evaluation of selected nutritive value methods, Proceedings. *13th Annual Florida Nutrition Symposium*, P. 33-47.

ALVES DE BRITTO C.; R. RODELLA and F. DESCHAMPS. 1999. Anatomia quantitativa e degradacao *in vitro* de tecidos em cultivares de capim – elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 28(2): 223-229.

ARCHIBALD, F.; and I. FRIDOVICH. 1981. Manganese and defenses against oxygen toxicity in *Lactobacillus plantarum*. *J. Bacteriol*. 145: 442-451.

BASIGALUP, D. y M. GALLARDO. 2007. El cultivo de alfalfa en Argentina. 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.

BLUMMEL M. and E.ORSKOV. 1993. Comparasion of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting of food intake in cattle. *Anim Feed Sci and Technol*. 142: 44 - 58.

BRAGACHINI, M.; P. CATANI; M. GALLARDO y J. PEIRETTI. 2008. Forrajes conservados de alta calidad y aspectos relacionados al manejo nutricional. Ediciones INTA, B. Aires, Argentina.

BRUNO, O.; L. ROMERO y E. USTARROZ. 1997. Invernada bovina en zonas mixtas. Agro 2 de Córdoba. INTA, Centro Regional Córdoba, EEA Marcos Juárez. III: 58-92

CAI, Y.; Y. BENNO; M. OGAWA and S. KUMAI. 1999. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forages crops on fermentations characteristics and aerobic deterioration of silage. *J. Dairy Sci.* 82: 520-526.

DE LEÓN, M. 2012. Impacto de los forrajes conservados en los sistemas de producción. *3^{ra} Jornada Nacional de Forrajes Conservados*. EEA INTA Manfredi – Córdoba, Argentina. 79-85.

DE LEÓN, M. 2014. Utilización de silajes en los sistemas ganaderos. *5^{ra} Jornada Nacional de Forrajes Conservados*. EEA INTA Manfredi – Córdoba, Argentina. 145-152.

DE LEÓN, M. y R. GIMENEZ. 2012. Efecto del tipo de sorgos para silajes sobre el valor nutritivo y la respuesta animal. *32 Congreso Argentino de Producción Animal*. P 167.

DEMARQUILLY D. and M. CHENOST. 1969. Etude de la digestion de fourrages dans le rumen par la methode des sachets de nylon liaison avec la valeur alimentaire. *Animal Zootechnology*. 18: 419-436.

DE OLIVEIRA, S. 2006. Tecnología para apuntar a silos con mayor calidad. En: <http://www.lanacion.com.ar/781526-tecnologia-para-apuntar-a-silos-con-mayor-calidad>. Consultado: 05-11-2014.

DHANOVA, M.; J. FRANCE; S. LÓPEZ; J. DIJKSTRA; S. LISTER; D. DAVIES and A. BANNINK. 1999. Correcting the calculation of extent of degradation to account for particulate matter loss at zero time when applying the polyester bag method. *J. Anim. Sci.* 77:3385-3391.

DI MARCO, O. 2013. Características de los ensilajes de maíz y sorgo. *Producir XXI*. 265:20- 28.

FONSECA A. 1998. In sacco degradation characteristics as predictors of digestibility and voluntary intake of roughages by mature ewes. *Anim Feed Sci Technol*. 72:205-219.

GETACHEW, G.; M. BLÜMMEL; H. MAKKAR and K. BECKER. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim feed sci technol*. 72:261-281.

GOSSELINK, J. and J. DULPHI. 2004a. Prediction of forage digestibility in ruminants using *in situ* and *in vitro* techniques. *Animal Feed Sci Technol.* 115:227-246.

GOSSELINK, J.; J. DULPHI and C. PONCET 2004b. A comparasion of *in situ* methods to estimate *in vivo* fermentable organic matter of foragein ruminants. *NJAS – Wageningen Journal of life Science.* 29-45.

GUTIERREZ, L. y E. VIVIANI ROSSI. 2008. Efecto de la aplicación de un inoculante bacteriano en la calidad nutricional y fermentativa con silaje de raigrás Tama. Congreso Argentino de Producción Animal. Potrero de los Funes – San Luis. 107.

GUTIERREZ, L. 2012. Utilización de Soiker silo en silajes de pasturas, maíz y sorgo y en ensilaje de grano húmedo de maíz. En: http://www.biotay.com/upfiles/documento/archivo/18_1315539601.pdf. Consultado el 19-3-1984.

HOLZER, M.; H. MAYRHUBER; M. DANNER and R. BRAUN. 2003. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. *Trends Biotechnol.* 32:282-287.

KROONEMAN, J.; F. FABER; A. ALDERKAMP; W. OUDE ELFERINK; F. DRIEHUIS; L. CLEENWERCK; J. SWINGS; J. GOTTSCHAL and M. VANCANNEYT. 2002. *Lactobacillus diolivorans* sp. Nov., a 1,2 – propanediol, degrading bacterium isolated from aerobically satble maize silage. *J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:639-646.

KUNG, L.; M. STOKES and C. LIN. 2003. Silage additivies. *Silage Science and technology.* ASA-CSSA-SSSA, Madison, USA. 31305-3060.

LEMA, M. 2001. Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O 1 57:H7 in lambs by feeding microbial feed supplement. *Small Rumin.* 39:31-39.

LOPEZ DE ARMENTIA, C.; M. AELLO; O. DI MARCO; D. COLOMBATTO y A. GARCIAARENA. 2008. Predicción de la degradabilidad ruminal in vitro de silajes de maíz por producción de gas. Congreso Argentino de Produccion Animal – Potrero de los Funes, San Luis. 33.

MAC DONALD, P; N. HENDERSON and S. HERON. 1991. The biochemistry of silage. 2nd ed. Chalcombe Publications, Bucks, UK.

MC LEOLD, M. and D. MINSON. 1978. The accuracy of the pepsin cellulose technique for estimating the dry matter digestibility in vivo of grasses and legumes. *Anim Feed Sci Technol.* 3: 277-287.

MINSON, D. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press, New York. 483.

MOLINA, L.; GONÇALVES, L.; RODRIGUEZ, N.; RODRIGUES, J.; FERREIRA, J. y CASTRO NETO, A. 2002. Degradabilidade in situ da material seca e Proteína Bruta das Silagens das silagens de seis Genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em Diferentes Estádios de Maturação. R. Bras. Zootec. 31:148-156.

ØRSKOV, E. and I. McDONALD. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighed according to rate of passage. *Journal Agricultural Science, Cambridge.* 92, 499-503.

OTERO, M. 2015. Aplicación de inoculante al silo de maíz para lograr un alimento conservado de alta calidad.

OUDE, J.; S. GOTTSCHAL; F. SPOELSTRA FABER and F. DRIEHUIS. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:125-132.

PERISCO, G. 2012. La importancia de los pequeños detalles. *Revista Producir* xxi. 256:34.

PERISCO, G. 2012. ¿Por qué debemos inocular un silo de maíz o sorgo? *Revista Producir* xxi. En: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/210inocular.pdf. Consultado 23-11-2014.

PIÑERO, G. 2006. Mejorando los resultados de silo. *Revista Producir* xxi. 26.

PIÑERO, G. 2010. Manual Práctico LactoSilo Para Lograr Ensilados De Alta Calidad. 3^{ra} edición.

QUEIROZ, O.; B. RABALIGNO; A. ADESOGAN y S. KIM. 2009. Can bacterial inoculants improve the quality of rust-infested corn silage? *J. Anim Sci Technol.* 87: 543-663.

RAMÍREZ, E. 1999 a. Aditivos en la confección de silaje. En: www.produccionbovina.com.ar. Consultado 09-11-2014.

RUIZ, B., Y. CASTILLO, A. ANCHONDO, C. RODRÍGUEZ, R. BELTRÁN, O. y J. PAYÁN. 2009. Efectos de enzimas e inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. En: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-05922009000200001. Consultado el día 19-05.2016.

SANTINI, F. 2012. Hacia una mayor rentabilidad del sector ganadero y su integración en la cadena de valor. Ediciones INTA. 59.

SEALE, D. 2003. Uso de inoculantes para mejorar la calidad del silo. Diario Planeta. En: http://semex.es/index.php?mod=archive_document_detail&id=55&fil_id_category=2.

SICILIANO-JONES, J. 2002. Using digestibility values in ration formulation. En: http://www.milkproduction.com/Library/Articles/Using_digestibility_values_in_ration_formulation.htm. Consulta: 27/07/2006.

SILVEIRA, P. y F. REINALDO. 2006. Conservación de forrajes: segunda parte. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, ISSN 1695-7504. En: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106/110606>

TAMINGA, S. 1994. The dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livestock Production Science*. 40: 139-155.

TILLEY J. and R. TERRY. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18: 104-111.

VALENTIN, S.; P. WILLIAMS; J. FORBES and D. SAUVANT. 1999. Comparison of the *in vitro* gas production technique and the nylon bag degradability technique to measure short - and long - term processes of degradation of maize silage in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:81-99.

WILSON J. 1993. Organisation of forage plant tissues. In H.G. Jung *et all* (eds) Forage cell wall structure and digestibility. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 1-32.