



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE PECUARIA

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA
FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ
(*Zea mays*)**

AUTORES:

ARTURO JOSÉ VERA MENDOZA

BORIS ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO

TUTOR:

DR. ERNESTO HURTADO, PhD.

CALCETA, MAYO 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

ARTURO JOSÉ VERA MENDOZA y BORIS ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

.....

ARTURO J. VERA MENDOZA

C.C.1311675860

.....

BORIS A. ZAMBRANO ZAMBRANO

C.C. 1723994966

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

DR. ERNESTO HURTADO, PhD, certifica haber tutelado el proyecto **INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ (*Zea mays*)**, que ha sido desarrollada por **ARTURO JOSÉ VERA MENDOZA y BORIS ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....

DR. ERNESTO HURTADO, PhD.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ (*Zea mays*)**, que ha sido propuesto, desarrollado por **ARTURO JOSÉ VERA MENDOZA y BORIS ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....

.....
DR. FREDDY ZAMBRANO Z, Mg. Sc
MIEMBRO

.....
Q.F. JOHNNY BRAVO LOOR, MPA
MIEMBRO

.....
ING. JESÚS OLIVERIO MUÑOZ, Mg. Sc
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que nos dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual hemos forjado nuestros conocimientos profesionales día a día;

A Dios como principal fortaleza a lo largo de nuestra carrera, a nuestros padres quienes con su esfuerzo y dedicación lograron brindarnos la herencia más valiosa que hemos podido recibir,

A todos nuestros profesores que impartieron sus conocimientos durante nuestra etapa de formación,

Al Ing. Diego Zambrano Pazmiño y al Mvz. José Ormaza Donoso por los conocimientos impartidos día a día durante todo el proceso del desarrollo de esta investigación,

A nuestros amigos, quienes durante la formación profesional nos brindaron su apoyo incondicional.

.....

ARTURO J. VERA MENDOZA

.....

BORIS A. ZAMBRANO ZAMBRANO

DEDICATORIA

A Dios, quién nos llenó de sabiduría y fortaleza para seguir adelante ante cualquier adversidad a lo largo de nuestra carrera universitaria.

A mis queridos Padres Mercy Zambrano Zambrano y Boris Zambrano Mendoza quienes, con su apoyo, y sacrificio hicieron posible la culminación de mis estudios universitarios para obtener el título de Médico Veterinario, y finalmente a mis amigos, quienes me apoyaron en todo momento y ante cualquier mala circunstancia.

A mis padres Carmen Mendoza Perero y José Rafael Vera Giler por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

Gracias madre y padre.

.....
ARTURO J. VERA MENDOZA

.....
BORIS A. ZAMBRANO ZAMBRANO

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE CUADROS	ix
RESUMEN	x
PALABRAS CLAVE.....	x
ABSTRACT	xi
KEY WORD	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3. OBJETIVOS.....	7
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	7
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
1.4. HIPÓTESIS	7
II. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1. CARACTERÍSTICAS DEL MAÍZ COMO FUENTE DE ALIMENTO	8
2.2. CONSERVACIÓN DE FORRAJES	11
2.2.1. ENSILAJE.....	11
2.2.1.1. FASE AERÓBICA	12
2.2.1.2. FASE ANAERÓBICA	12
2.3. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL ENSILAJE	13
2.4. pH.....	13
2.5. TEMPERATURA.....	14
2.6. INDICADORES SENSORIALES DEL ENSILAJE	14
2.6.1. EXCELENTE CALIDAD	14
2.6.2. BUENA CALIDAD	15

2.6.3. REGULAR CALIDAD	15
2.6.4. MALA CALIDAD	15
2.7. MICROORGANISMOS COMO ADITIVO PARA ENSILAJES	16
2.8. INOCULANTE PARA ENSILAJE LACTOSILO	17
2.8.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS DEL USO DE LACTOBACILLUS ...	17
2.8.2. BACTERIA ÁCIDO LÁCTICA (<i>L. plantarum</i>).....	17
2.9. FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR LA CONSERVACIÓN DE LOS FORRAJES ENSILADOS	18
2.9.1. MADUREZ Y CONTENIDO DE HUMEDAD DEL FORRAJE	19
2.9.2. TAMAÑO DE PICADO DEL FORRAJE	19
2.9.3. LLENADO, COMPACTADO Y SELLADO DEL MATERIAL VEGETATIVO (ENSILAJE DE MAÍZ)	19
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	19
3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	19
3.1.1. UBICACIÓN	19
3.2. DURACIÓN DEL PROYECTO	19
3.3. FACTORES EN ESTUDIO	19
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	20
3.6. VARIABLES MEDIDAS	20
3.6.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	20
3.6.2. VARIABLES DEPENDIENTES	20
3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO	21
3.7.1. CARACTERÍSTICAS DE LA CEPA DE <i>L. plantarum</i>	21
3.7.2. PREPARACIÓN DE INÓCULO DE <i>L. plantarum</i>	21
3.7.3. ELABORACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ	21
3.7.4. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE ENSILAJE DE MAÍZ	21
3.7.5. EVALUACIÓN QUÍMICA DEL ENSILAJE DE MAÍZ	22
3.7.6. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ENSILAJE DE MAÍZ	22
3.7.7. DETERMINACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA (UFC) DEL ENSILAJE DE MAÍZ.....	22
3.7.8. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL ENSILAJE DE MAÍZ	22
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23

4.1. PARÁMETRO QUÍMICO (PH) Y TEMPERATURA DEL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE AIREACIÓN	23
4.1.1.Ph.....	23
4.1.2. TEMPERATURA.....	24
4.2. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL ENSILAJE DE MAÍZ EN DISITINTOS TIEMPOS DE MUESTREO	25
4.3. MICROORGANISMOS EN EL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO	28
4.4. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO	29
4.5. CORRELACIONES ENTRE LAS VARIABLES BAJO ESTUDIO	30
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
5.1. CONCLUSIONES.....	31
5.2. RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	39

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 3.1 Condiciones climáticas del sitio El Limón, Parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí.	19
Cuadro 3.2 Esquema del Análisis de varianza	23
Cuadro 4.1 Promedios y errores estándar del pH y temperatura del ensilaje de maíz inoculado con <i>L. plantarum</i> en distintos tiempos de muestreo.	25
Cuadro 4.2.1 Composición bromatológica del ensilaje de maíz con distintos niveles de inclusión de <i>L. plantarum</i> a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).	27
Cuadro 4.3.1 Estadística descriptiva del número de microorganismos (UFC) en niveles de inclusión de <i>L. plantarum</i> a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).	28
Cuadro 4.4.1 Valores probabilísticos ¹ para las características organolépticas del ensilaje de maíz a los 15, 30, 45 días transcurridos.....	29
Cuadro 4.5.1 Valor de correlación (r) de las variables a los distintos tiempos de muestreo	30

RESUMEN

Con el fin de evaluar el efecto de la inoculación de *L. plantarum* en la fermentación, conservación y calidad del ensilaje de maíz (*Zea mays*), se realizó en el hato bovino de la carrera de Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, el ensilaje de 32 bolsas con forraje a diferentes dosis de inoculado de *L. plantarum* (0, 5, 10, 15 ml) y tiempo de muestreo (15, 30, 45 días), en un diseño completamente al azar. Se estudió el pH, temperatura y UFC. Además de las características bromatológicas y sensoriales. El tiempo de muestreo resultó ser significativo ($p < 0,01$) para el pH, siendo a los 30 días el de menor valor promedio (3,65). Se observó una temperatura mayor (27°C) a los 15 días de muestreo ($p < 0,01$). La aplicación de *L. plantarum* en los componentes bromatológicos no incidió estadísticamente a excepción de la M.S donde T3 a los 15 días presentó mayor % (23,65). Además, los promedios máximos fueron para PC (10,71 %) en T2 a los 30 días; E.E (2,36%) en T1 a los 45 días; FC (37,30%) en T3 a los 45 días; ceniza (9,28%) en T2 a los 30 días y E.D (2,41 Mcal/Kg) en T2 a los 15 días. Se concluye que la inoculación microbiana permite acelerar el proceso de conservación del ensilaje de maíz, a través del proceso fermentativo, destacando la dosis (T2) a los 30 días de muestreo, resultando la indicada para la fermentación y conservación de un ensilaje con características consideradas de calidad.

PALABRAS CLAVE

Bacterias, pH, temperatura, sensoriales, bromatológicos, Unidades formadoras de colonia.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of the inoculation of *L. plantarum* in the fermentation, conservation and quality of corn silage (*Zea mays*), it was carried out in the bovine herd of the livestock at the Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, the silage of 32 bags with forage at different doses of inoculated *L. plantarum* (0. 5. 10. 15 ml) and sampling time (15. 30. 45 days), in a completely randomized design. The pH, temperature and CFU were studied. In addition to the bromatological and sensorial characteristics. The sampling time was significant ($p < 0.01$) for the pH, being 30 days the lowest average value (3.65). A higher temperature (27°C) was observed after 15 days of sampling ($p < 0.01$). The application of *L. plantarum* in the bromatological components did not affect statistically with the exception of the M.S where T3 at 15 days presented the highest% (23.65). In addition, the maximum averages were for PC (10.71%) in T2 at 30 days; E.E (2.36%) in T1 at 45 days; FC (37.30%) in T3 at 45 days; ash (9.28%) in T2 at 30 days and E.D (2.41 Mcal / Kg) in T2 at 15 days. It is concluded that the microbial inoculation allows to accelerate the corn silage conservation process, through the fermentation process, highlighting the dose (T2) at 30 days of sampling, being the one indicated for the fermentation and conservation of a silage with characteristics considered quality.

KEY WORD

Bacteria, pH, temperature, sensory, bromatological, colony forming units.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Saltos (2012) indica, que las características agroecológicas que posee la provincia de Manabí, permite a los pequeños y medianos agricultores desarrollar una actividad agrícola de gran diversidad de cultivos de ciclo corto, como el maíz, aportando con producto de consumo directo a la seguridad alimentaria del país, además, proveyendo de materia prima a la agroindustria, repercutiendo en forma positiva en la generación de empleo, y dinamizando la economía del sector productivo.

En la provincia de Manabí el rendimiento nacional del cultivo de maíz duro (13% de humedad y 1% de impurezas) para el invierno 2016 fue de 5,53 (t/ha), a nivel nacional el rendimiento promedio fue superior en 2% respecto al invierno 2015, debido a una mayor inversión en el cultivo que han realizado los productores para mejorar sus ingresos monetarios, según Castro (2016).

Continúa mencionando Castro (2016), que debido a la difícil situación económica que vive el país, la cobertura de los programas de fomento productivo disminuyó con relación al mismo ciclo del año 2015, la variedad de semilla más usada fue: Trueno NB 7443, con un rendimiento promedio de 4,94 (t/ha).

La calidad nutritiva de la planta se puede definir en términos de cuánto substrato degradable en el rumen aportan sus componentes, por eso la espiga es el componente de la planta de mayor valor nutritivo debido a que el grano, constituido fundamentalmente por almidón, es altamente utilizado por los rumiantes, se estima que los animales digieren más del 90% de los granos, aunque hay variaciones debidas al procesamiento de ellos, madurez del cultivo e híbrido (Di Marco y Aello, 2008).

El propósito de hacer ensilaje, al igual que la henificación, es aprovechar además del excedente de forraje producido en la época de lluvias, cultivos o sobrantes de cultivos y alimentar el ganado con este material durante la época crítica (sequía o exceso de lluvia), la escasez de alimentos en épocas críticas

implica reducción de la producción de leche, pérdida de peso de los animales, enfermedades, muerte de animales y reducción de los parámetros reproductivos (Franco *et al.*, 2007).

De acuerdo con Castillo *et al.* (2009), elevar la productividad de los sistemas de alimentación de especies de interés zootécnico, implica, entre otras cosas, mantener los suministros de alimento durante todo el año, la conservación de los forrajes, para suplir durante estos periodos las demandas de alimento, por lo que, la práctica del ensilaje se convierte en una técnica que permite la conserva de alimentos por rango de tiempo determinado.

El aprovechamiento del maíz (*Zea mays*) como cultivo forrajero es el más empleado como fuente de forraje en los sistemas de producción bovina mediante su conservación (ensilaje), debido a un alto rendimiento de biomasa área de 35-95 (t/ha) (Castillo *et al.*, 2009).

Franco *et al.* (2007) mencionan que, la práctica de ensilar es muy vieja y ha sido utilizada por los productores desde hace siglos, y existen diferentes métodos, el ensilaje es un forraje picado verde (como pasto, cultivos agrícolas, leguminosas), almacenado y conservado en depósitos denominados silos utilizando la fermentación anaeróbica (ausencia de aire).

Las bacterias lácticas son residentes normales del tracto gastrointestinal que incluyen el género *Lactobacillus*, por lo que son las bacterias más utilizadas para mejorar el valor nutritivo de las dietas en los rumiantes, con esto se da el uso de ensilados de fermentación láctica con *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Saccharomyces lactis* o *Lactobacillus spp* que han sido alternativas importantes para la alimentación de los bovinos; aunque ha sido muy poco utilizada por los productores (Galina *et al.*, 2008).

Ruiz *et al.* (2009) señalan que el tratamiento de ensilajes con enzimas fibrolíticas e inoculantes bacterianos ha mostrado aumentar digestibilidad, fermentación y estabilidad aeróbica de varios forrajes, las enzimas son otro tipo de aditivos las cuales contienen una gran variedad de proteínas que pueden actuar degradando los carbohidratos estructurales de las plantas, así como el

almidón que se encuentra en los granos y, como consecuencia, se mejora la fermentación y la utilización por el animal.

García y García (2015) mencionan que los primeros estudios con aditivos desarrollados por el Instituto de Ciencia Animal (ICA) de la República de Cuba estuvieron relacionados con la búsqueda y evaluación de sustancias que influyeran positivamente en las características de los piensos o alimentos no convencionales; satisfacción de las necesidades alimenticias de los animales e influyeran positivamente en la producción, la actividad o el bienestar de los animales, especialmente actuando en la biota gastrointestinal o la digestibilidad de los piensos.

El empleo de aditivos en el proceso de ensilado, tiene como fin contribuir a la creación de condiciones óptimas que permitan mejorar la conservación y valor nutritivo del alimento resultante, algunos aditivos están formulados a base de bacterias deshidratadas o inactivas productoras de ácido láctico que crecen y reproducen cuando se agregan al forraje, la función de estos aditivos es regular el pH pero es necesario que la materia prima contenga al menos un 3% de los carbohidratos solubles en agua (Cárdenas, 2011).

Mier (2009) menciona que en general, los forrajes con una concentración en torno al 6-8% de carbohidratos solubles y un contenido de materia seca entorno al 32-35% con bajo poder tampón constituyen una adecuada materia prima para el ensilaje, se estima que 200 millones de toneladas de materia seca son ensilados en el mundo anualmente, a un coste de producción entre US \$100- 150 por tonelada, este coste comprende: la tierra y el cultivo (aproximadamente 50%), segado y polietileno (30%), silo (13%) y aditivos (7%).

Según lo indicado por Nooijen y Zwielehner (2014), algunos de los errores que suelen cometerse con mayor frecuencia son las medidas inapropiadas del silo, el cierre no hermético y una compactación insuficiente. Estos a menudo traen como consecuencia la proliferación de levaduras y moho. El crecimiento del moho puede provocar la producción de micotoxinas en tanto que la proliferación de levaduras produce un aumento de temperatura del ensilado,

reducción en las cantidades de materia seca, formación de etanol y un contenido más bajo de energía.

Para mejorar la fermentación mediante una rápida producción de ácido láctico se introducen cepas de bacterias homofermentadoras como *Lactobacillus plantarum*. Eso hace que los organismos que promueven la descomposición tengan menos tiempo para su multiplicación lo que produce menores pérdidas de materia seca y niveles más bajos de ácido butírico, etanol, amoníaco e histamina (Nooijen y Zwielehner, 2014).

Al realizar la búsqueda de aditivos para obtener resultados en calidad a favor de la microflora benéfica del ensilaje de maíz, se hace necesario plantear la siguiente interrogante: ¿La adición de bacterias acidolácticas en el ensilaje de maíz (*Zea mays*), permitirá un uso de calidad en un periodo de tiempo óptimo para uso del pequeño productor durante la época crítica?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La necesidad de atender la demanda de nutrientes en el ganado lechero, de forma constante a través del año, se inicia con un balance forrajero, fundamentado en las metas de productividad animal de la finca, el crecimiento y la disponibilidad estacional de los forrajes y el almacenamiento de una reserva forrajera para ser utilizada en época críticas de escases de forraje; la planta entera de maíz ha sido empleado con mucha frecuencia en los países subtropicales como parte del balance forrajero anual (Boschini y Elizondo, 2004).

Cubero *et al.* (2010) señalan que en condiciones tropicales, el cultivo de maíz se considera la primera opción para ensilar, debido a su capacidad de adaptación como cultivo a diferentes latitudes, su ciclo de cosecha, entre 80 y 90 días (grano desarrollado en estado pastoso), se debe considerar que el material ensilado no es de mejor calidad nutricional que el material del cual se origina, debido a que se utiliza como una técnica para conservar y no para mejorar el material vegetativo empleado de ahí.

El uso de aditivos se convierte en una alternativa para optimizar el proceso, para asegurar la conservación del material y en algunos casos, incrementar el valor nutricional, la escogencia del aditivo dependerá del modo de actuar de su ingrediente activo, la efectividad general, el tipo de forraje, facilidad para su manejo, aplicación, precio y su disponibilidad (Cubero *et al.*, 2010).

De acuerdo con Ramírez *et al.* (2011) las bacterias ácido-lácticas (BAL) además de contribuir en la biopreservación de los alimentos, mejoran las características sensoriales como el sabor, olor, textura y aumentan su calidad nutritiva, además los probióticos son cultivos puros, o mezcla de cultivos de microorganismos vivos, que al ser consumidos por el hombre y los animales en cantidades adecuadas mejoran la salud.

La mayoría de los probióticos pertenecen a las BAL y son usadas por la industria alimentaria en la elaboración de productos fermentados y como complementos alimenticios con la finalidad de promover la salud; también en el área pecuaria son utilizados para mejorar la producción animal (Ramírez *et al.*, 2011).

Contreras y Muck (2006) indican que, aunque la fermentación del ensilaje ocurre naturalmente bajo condiciones anaeróbicas debido a la población natural de bacterias en la planta, la velocidad y eficiencia en la fermentación (disminución del pH) es variable, dependiendo del número y tipo de bacterias productoras de ácido láctico en el cultivo.

Los inoculantes microbiales contienen bacterias seleccionadas para dominar la fermentación de los cultivos en el silo, dentro de los que producen solo ácido láctico se encuentran especies de *Lactobacillus* como *Lactobacillus plantarum*, y especies de *Pediococcus* spp, y *Enterococcus* spp, según (Contreras y Muck, 2006).

Villa *et al.* (2010) mencionan que, el ensilaje requiere menor uso de maquinaria e infraestructura y es menos dependiente del clima, con respecto a la henificación o el henolaje, su principio de conservación es una rápida disminución del pH, gracias a la producción de ácidos orgánicos por las

bacterias ácido-lácticas (BAL) que impide crecimiento microbiano y la actividad de las enzimas endógenas catabólicas de la planta preservando el alimento.

Las características del forraje que determinan la calidad de la fermentación son su contenido de materia seca, carbohidratos solubles, capacidad buffer y la micro flora epifita con la que comienza el proceso fermentativo, dentro de esta flora, las BAL son las que más efectivamente reducen el pH del silo ya que producen ácido láctico como principal producto fermentativo, este ácido es el más eficiente de la fermentación (menor pérdida de energía en el forraje) y es el ácido orgánico de mayor poder acidificante (Villa *et al.*, 2010).

Tobía y Vargas (2000) señalan que el éxito del proceso fermentativo que ocurre en los ensilajes depende, principalmente, de la suficiente cantidad de bacterias ácido-lácticas y en niveles adecuados de carbohidratos solubles en los cultivos cosechados, obteniéndose altas producciones de ácido láctico, como resultado, el pH se mantiene bajo y los ensilajes son preservados.

El proceso de producción de ensilajes puede ser dividido en cuatro pasos: 1. Cosecha del forraje, 2. Transporte del material cortado al silo, 3. Compactación del forraje y 4. Sellado hermético del silo. La correcta ejecución de estos pasos tendrá un gran impacto sobre el éxito o fracaso del proceso fermentativo y de la calidad del ensilaje (Tobía y Vargas, 2000).

Ruiz *et al.* (2009) mencionan que la calidad fermentativa de un ensilado depende de la naturaleza del forraje original y en el desarrollo de la técnica empleada, además del clima, la estación, el estado de madurez, la composición química y botánica, etc. Sin embargo, existen otros aspectos inherentes al propio forraje que limitan su aptitud para ser ensilado, como, por ejemplo: al agregar aditivos se presenta una mejor preservación del forraje ensilado, una alta concentración de azúcares solubles y una mayor degradabilidad ruminal.

Las referencias citadas anteriormente permiten inferir, que la inoculación de bacterias (*Lactobacillus plantarum*) al material vegetativo del maíz ensilado, coadyuvara al proceso fermentativo (anaeróbico), acidificación del medio para

contrarrestar la proliferación de microorganismos patógenos y al mismo tiempo una reducción en el tiempo para el uso en la alimentación animal.

Además, es importante resaltar los cambios que se producen en el material vegetativo inoculado tales como pH, temperatura, calidad (aspectos sensoriales) y tiempo de uso. Todo lo anterior permite mencionar que la finalidad de la presente investigación está en la búsqueda de alternativas que logren la obtención de un ensilaje de calidad y de uso en corto tiempo.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inoculación de *Lactobacillus plantarum* en la fermentación, conservación y calidad del ensilaje de maíz (*Zea mays*).

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar variables, químico (pH), bromatológicos (M.S, P.C, E.E, F.C, C, E.D), UFC y sensoriales del ensilaje de maíz (*Zea mays*) inoculado con cuatro dosis del microorganismo *Lactobacillus plantarum* en tres tiempos de conservación.

Determinar las relaciones existentes entre las variables pH, UFC/MI de *L. plantarum* y sensoriales a través de correlaciones estadísticas.

1.4. HIPÓTESIS

La inoculación de *Lactobacillus plantarum* en el ensilaje de maíz (*Zea mays*) será un aditivo benéfico para la calidad y conservación del producto.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CARACTERÍSTICAS DEL MAÍZ COMO FUENTE DE ALIMENTO

El maíz es una especie de gramínea anual originaria y domesticada por los pueblos indígenas en el centro de México, desde hace 10,000 años e introducido a Europa en el siglo XVII, en la actualidad es el cereal más popular y el de mayor volumen en todo el mundo, se extendía en muchas partes del mundo gracias a su habilidad de desarrollarse en climas diversos, hay muchas variedades; azúcar o sea maíz dulce para el consumo humano y las variedades de maíces de campo para la alimentación animal (Hidalgo y Serralde, 2016).

Mendoza y Ricalde (2016) indican que la evolución de los sistemas de alimentos hacia herramientas que permiten la predicción de diversas formas de respuesta animal tales como eficiencia, conversión y calidad del producto requieren de una integración cuantitativa del conocimiento del sitio y la extensión de la digestión de los alimentos, la cual impacta fuertemente en la cantidad y tipo de nutrientes que se liberan hacia los tejidos periféricos.

Las fuentes forrajeras proteicas son importantes para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción, los altos costos de importación han impulsado la exploración de fuentes alternas de proteínas disponibles localmente y a bajo costo, estudios realizados, en la región Centroamericana, sobre la calidad y producción de ensilaje han demostrado una mejora sustancial del contenido proteico y valores aceptables de fibra en materia verde y ensilados con rendimientos promisorios de materia seca (García y Ramos, 2011).

En la alimentación de los rumiantes es esencial la comprensión de ciertos modelos básicos dinámicos de digestión ruminal, los cuales se empezaron a desarrollar en forrajes, y son aplicables a varios nutrientes, es importante tener presente que la digestión es un proceso enzimático y mecánico que puede expresarse en términos de cinética de primer orden (Mendoza y Ricalde, 2016).

Según Gallardo (2015) el maíz es el concentrado energético por excelencia para la producción animal, la avicultura, la producción de cerdos y la de ganado bovino de carne y leche se sostienen en gran medida con este cereal, sin embargo, cada vez más los mercados internacionales exigen que se profundice el destino del maíz para el consumo humano y últimamente se busca diversificar su industrialización para otros usos, básicamente para biocombustible (etanol a partir del almidón).

Camps y González (2003) indican que el grano de maíz representa para nuestro país y la mayoría de los países del mundo, el ingrediente más utilizado como suplemento energético en la alimentación del ganado bovino, el grano de sorgo y el de avena ocupan un distante segundo lugar, por ser su uso tan frecuente y extendido, la ciencia ha generado una importante cantidad de información básica y aplicada en relación con el manejo del maíz en distintas situaciones de alimentación.

El maíz es un concentrado energético y la energía del mismo es aportada principalmente por su alto contenido de almidón el cual representa alrededor del 75%, el almidón del maíz tiene características particulares que lo distinguen de la cebada, el trigo o la avena, esta especial propiedad, que comparte, con algunas diferencias, con el grano de sorgo, está determinada por la presencia de una envoltura proteica que recubre el gránulo de almidón y en parte lo protege de la acción de las enzimas bacterianas del rumen (Camps y González, 2003).

El maíz se utiliza como forraje por: alta producción de materia seca, alto contenido de grano, reduce el costo de la ración forraje, palatable y consistente, puede almacenarse directo al corte, se cosecha rápidamente, cultivo barato y sencillo; como forraje el maíz tiene dos atributos: energía (localizada en el grano) y fibra (localizada en el tallo), la calidad forrajera del maíz está dada por: energía neta de lactancia /1.60 Mcal/Kg), digestibilidad (65 %), fibra detergente ácido (22 a 30 %), fibra detergente neutro (32 a 50 %) (Rodríguez, 2010).

De acuerdo con Depetris *et al.* (2006), la utilización de maíz en la alimentación de rumiantes imprimiría ciertas características distintivas a la carne, diferentes a las obtenidas con los sistemas puramente pastoriles, hay consenso en la literatura general en atribuir mejores características organolépticas (color, terneza) a las carnes provenientes de animales alimentados con granos.

Los granos de cereales forrajeros están sujetos a una exhaustiva fermentación a nivel ruminal con la formación de ácidos grasos volátiles (AGV) y células microbianas, la cantidad de almidón que es digerida en el rumen suele variar entre un 50 y un 94% dependiendo del tipo de grano de cereal utilizado y de su procesamiento, uno de los métodos más eficaces de incrementar el tenor proteico de la leche es la suplementación con cereales como el maíz (Depetris *et al.*, 2006).

Cerca del 40% del maíz producido en los países tropicales es usado para la alimentación animal; el maíz proporciona la más alta tasa de conversión a carne, leche y huevos, comparados con otros granos que se usan con el mismo propósito, su alto contenido de almidón y bajo contenido de fibra hacen que sea una alta fuente de concentración de energía para la producción de ganado (Paliwal, 2014).

Continúa mencionando Paliwal (2014), que en los países tropicales la mayor parte se destina a la producción avícola, el maíz amarillo es preferido para la alimentación del ganado y se le da como grano entero, roto o molido gruesamente, seco y es generalmente suplementado con otras fuentes de vitaminas o proteínas.

El maíz amarillo que se compra a Estados Unidos se ocupa en la industria almidonera (36%), de harina (6%), cereales (2%) y otros (2%), pero principalmente para alimentar a los animales de consumo humano (54%), con este cultivo se complementa la alimentación de las reses, aves y cerdos (conocidos también como 'animales de engorda'), porque a comparación del maíz blanco o el de colores, el amarillo es el único con vitamina A, E y D, además, tiene una alta concentración de almidón, es bajo en fibra y rico en grasa, necesaria para engordar a estos animales (Barros, 2017).

2.2. CONSERVACIÓN DE FORRAJES

Nooijen y Zwielehner (2014) indican que, algunos de los errores que suelen cometerse con mayor frecuencia son las medidas inapropiadas del silo, el cierre no hermético y una compactación insuficiente, estos a menudo traen como consecuencia la proliferación de levadura y de moho, el crecimiento de moho puede provocar la producción de micotoxinas.

En tanto que la proliferación de levaduras produce un aumento de la temperatura del ensilado, reducción en las cantidades de materia seca, formación de etanol y un contenido más bajo de energía, asimismo, la investigación muestra que la ingesta del alimento se ve radicalmente reducida cuando se alimenta a los animales con silaje que se ha calentado (Nooijen y Zwielehner, 2014).

Tomando en cuenta la importancia que tiene el manejo de la producción de forraje como alternativa para alimento del ganado, para garantizar la estabilidad productiva del mismo los métodos de conservación de forrajes son una opción de solución al problema de la alimentación del ganado, existe un método principal de conservación de forrajes que es el ensilaje, según Bustamante (2004).

2.2.1. ENSILAJE

El ensilaje es un método de conservación de forrajes o subproductos agrícolas con alto contenido de humedad (60-70 %), mediante la compactación, expulsión del aire y producción de un medio anaeróbico, que permite el desarrollo de bacterias que acidifican el forraje, el valor nutritivo del producto ensilado es similar al del forraje antes de ensilar, sin embargo, mediante el uso de algunos aditivos, se puede mejorar este valor (Cobos, 2014).

La conservación del forraje tiene como objetivo el tener una reserva para cubrir las etapas críticas del año, en las que éste es escaso, por lo regular, el forraje ensilado puede utilizarse al mes después de haber tapado el silo, pero se recomienda que se aproveche durante el período seco del año, su utilización

se hace quitando el plástico parcialmente, descubriendo sólo la parte que se va a utilizar, se va cortando en rebanadas y se vuelve a tapar (Urrutia y Meraz, 2004).

De acuerdo con Wagner *et al.* (2015), el ensilaje es un alimento que resulta de la fermentación anaeróbica de un material vegetal húmedo mediante la formación de ácido láctico, para suplementar al ganado durante períodos de sequía, garantizando la alimentación de los animales durante todo el año, la adecuada conservación del ensilado para la obtención de un forraje altamente nutritivo depende de la fermentación controlada del forraje en el silo, la regulación precisa de aire y la temperatura debe ser menor a 30 °C el proceso de ensilaje consta de dos fases: aerobia y anaerobia.

2.2.1.1. FASE AERÓBICA

Esta fase dura pocas horas, el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los microorganismos aerobios y aerobios facultativos como las levaduras y enterobacterias, las levaduras cuya presencia en el ensilaje es indeseable porque bajo condiciones anaerobias fermentan los azúcares produciendo etanol y CO₂, la producción de etanol disminuye el azúcar disponible para producir ácido láctico y produce un mal gusto en la leche cuando se emplea para alimentar vacas lecheras (Garcés *et al.*, 2015).

2.2.1.2. FASE ANAERÓBICA

Gómez (2014) indica que, se inicia al agotarse el oxígeno atrapado en la masa forrajera, las bacterias anaeróbicas formadoras de ácidos y otras bacterias se multiplican en proporción prodigiosa, produciendo ácido acético, alcohol y gas carbónico, se produce un incremento de microorganismos más eficientes para el proceso (bacterias lácticas), cuya producción de ácido láctico reduce rápidamente el pH de la masa forrajera.

La actividad anaeróbica continua hasta cuando el pH de la masa forrajera sea suficientemente bajo, se da entre los 10 y 21 días de ensilado, si se prolonga, se pierde calidad y se degradan rápido durante la extracción (Olor avinagrado y color oscuro indican anaerobiosis prolongada) (Ferrari y Alarcón, 2015).

El ensilaje es una técnica de conservación temporal o permanente de forrajes húmedos que se logra por medio de la fermentación de sus azúcares en ausencia de oxígeno, pero como todo producto que está en estado de conservación tiene sus ventajas y desventajas que se explicaran a continuación (Sánchez *et al.*, 2016).

2.3. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL ENSILAJE

Siempre que se perciba un problema real de calidad del ensilaje, se requerirá un enfoque sistemático para lograr una evaluación precisa de la situación, con mucha frecuencia lo único que se hace es un análisis nutricional mediante el uso de la técnica de rayos con espectro cercano al infrarrojo o bien la técnica química en húmedo, existen muchos ensilajes que pueden tener una calidad nutricional excelente, pero que los animales los consumen de manera deficiente, o bien pueden tener algún efecto negativo sobre la rentabilidad por otras razones (Hansen y Milwaukee, 2014).

Continúan mencionando Hansen y Milwaukee (2014), que la evaluación de la calidad del ensilaje a nivel del rancho o fincas no debe comenzar con la obtención de una muestra para el análisis del laboratorio, sino que primero debe revisarse la estructura del silo o unidad de almacenamiento, la apariencia física del ensilaje incluyendo su olor y color, la evaluación del manejo del comedero y una plática detallada sobre las prácticas de alimentación.

2.4. pH

Para los ensilajes de pastos y granos es importante lograr un pH bajo y estable tan pronto como sea posible a través de la producción de ácido láctico. Se debe elegir el tipo de aditivo adecuado para mantener la calidad del ensilado y para mejorar la fermentación mediante una rápida producción de ácido láctico; para alcanzar este objetivo se introducen cepas de bacterias homofermentadoras como *Lactobacillus plantarum* esto hace que los organismos que promueven la descomposición tengan menos tiempo para su multiplicación (Nooijen y Zwielehner, 2014).

2.5. TEMPERATURA

El aumento de la temperatura del ensilado es un proceso normal, ya que proviene de la fermentación “beneficiosa” del silo, aquella que garantiza su conservación y el mantenimiento de los nutrientes. Las bacterias que producen ácido láctico (BAL) pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales. Los componentes BAL que se asocian con el proceso de ensilaje pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un rango de temperaturas que oscila entre 5 y 50 °C, con un óptimo entre 25 y 40 °C (FAO, 2001).

(Bernal *et al.*, 2002) señalan que el oxígeno, al tener libre acceso al material, produce aumentos en la temperatura y mermas en la digestibilidad. Cuando la temperatura del silo aumenta, el calor es conducido hacia el interior de la masa ensilada; un material más seco conduce la temperatura más fácilmente que un material húmedo.

2.6. INDICADORES SENSORIALES DEL ENSILAJE

Betancourt *et al.* (2006) indican, que la evaluación organoléptica es una apreciación subjetiva de la calidad de un ensilaje a través de los sentidos, los parámetros a considerar son: olor, color, textura y grado de humedad, la exactitud de este método está sujeta a la experiencia del evaluador, además las principales categorías a considerar son las siguientes:

2.6.1. EXCELENTE CALIDAD

- **Color:** verde aceituno o amarillo oscuro.
- **Olor:** agradable a miel o azucarado de fruta madura.
- **Textura:** el forraje conserva todos sus contornos continuos definidos, se aprecian sus vellosidades si las tenía el forraje original, las hojas permanecen unidas a los tallos.

- **Humedad:** no humedece las manos al ser comprimido dentro del puño, con una presión normal se mantiene suelto el ensilaje.

2.6.2. BUENA CALIDAD

- **Color:** verde amarillento, los tallos con tonalidad más pálida que las hojas.
- **Olor:** agradable, ligero olor a vinagre no deja residuos en las manos al ser tocado.
- **Textura:** el forraje conserva todos sus contornos definidos, se aprecian sus vellosidades si las tenía el forraje original, las hojas permanecen unidas a los tallos.
- **Humedad:** No humedece las manos al ser comprimido dentro del puño, con una presión normal se mantiene suelto el ensilaje.

2.6.3. REGULAR CALIDAD

- **Color:** verde oscuro, tallos y hojas con igual tonalidad.
- **Olor:** ácido, con fuerte olor a vinagre; transfiere a las manos un permanente olor a manteca rancia característico de ácido butírico.
- **Textura:** las hojas se separan fácilmente de los tallos; los bordes del forraje aparecen mal definidos; las hojas tienden a ser transparentes; muy amarillos los vasos leñosos.
- **Humedad:** al ser comprimido en el puño gotean efluentes, con tendencia a ser compactado y formar una masa.

2.6.4. MALA CALIDAD

- **Color:** Marrón oscuro, casi negro o negro.
- **Olor:** desagradable, con olor putrefacto a humedad, deja un olor a manteca rancia en las manos, el cual permanece por horas.

- **Textura:** no se aprecia diferencia entre hojas y tallos, los cuales forman una masa amorfa, jabonosa al tacto.
- **Humedad:** destila líquido efluente, se compacta con facilidad y llega a tomar la forma deseada.

2.7. MICROORGANISMOS COMO ADITIVO PARA ENSILAJES

Los microorganismos eficientes (EM) son una mezcla de diferentes microorganismos benéficos tanto aeróbicos como anaeróbicos, consisten generalmente de hongos actinomicetes, levaduras, bacterias ácido-lácticas y fotosintéticas, presentes en grandes cantidades en la naturaleza, las bacterias fotosintéticas sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces y de materia orgánica (Almeida y Cárdenas, 2006).

Almeida y Cárdenas (2006) indican que las bacterias ácido-lácticas producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos desarrollados por bacterias fotosintéticas y levaduras, siendo el ácido láctico un compuesto supresor de microorganismos dañinos, además es promotor de la descomposición y fermentación de materiales como lignina y celulosa; las levaduras sintetizan sustancias antimicrobiales útiles para las bacterias ácido-lácticas y actinomicetes.

Estos microorganismos producen diferentes sustancias con características antimicrobianas, dentro de las cuales se destacan el ácido acético y el ácido láctico, que resultan luego de la fermentación de los carbohidratos presentes en los medios de cultivo, provocando una caída del pH y por ende el efecto protector (Agudelo *et al.*, 2015).

Las bacterias del ácido láctico (BAL) tienen requerimientos nutricionales complejos debido a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B, la mayoría de BAL producen únicamente una forma isomérica de ácido láctico; las formas isoméricas de lactato deshidrogenasa presente en las BAL determinan el isómero de ácido láctico producido, ya que la deshidrogenasa láctica es estereoespecífica (Serna y Rodríguez, 2005).

Demagnet (2011) señala que, las cepas componentes de un aditivo deben ayudar a mejorar la calidad nutricional, reducir la ocurrencia de fermentaciones indeseables (incremento de temperatura) y evitar las pérdidas de materia seca del material almacenado, la adición de aditivos biológicos al ensilaje mejora la recuperación de la materia seca hasta en un 2,5% en comparación con ensilajes no tratados.

Los factores limitantes en la producción de ácido láctico por la vía fermentativa son principalmente, la baja concentración de bacterias lácticas en el sistema y la inhibición del crecimiento por el producto, la principal desventaja de la producción por la vía fermentativa es el alto costo que ocasionan su aislamiento y purificación del ácido láctico (Waldir *et al.*, 2007).

2.8. INOCULANTE PARA ENSILAJE LACTOSILO

2.8.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS DEL USO DE LACTOBACILLUS

Los *Lactobacillus* son utilizados por su eficiente utilización de carbohidratos hidrosolubles de la cosecha, por la producción intensiva de ácido láctico y descenso rápido en pH, podemos encontrar otras BAL como *lactobacillus buchneri* y BAL heterofermentativa la cual produce altas concentraciones de ácido acético en el ensilaje que inhiben hongos y así preservan ensilajes susceptibles de esporas y exposiciones al aire, una inoculación de 10^5 - 10^6 células viables por gramo de cosecha es a menudo suficiente para la inoculación de BAL en el ensilaje (Parra, 2010).

Narvaez (2013) indica que, para obtener un máximo rendimiento de los ensilajes, es necesario mantener un mínimo de 10⁶ UFC de bacterias lácticas/g de forraje. Normalmente, en la microflora de forraje fresco, el número de bacterias lácticas es muy bajo, generalmente menor que 10⁶ UFC/g, insuficiente para acelerar la fermentación láctica.

2.8.2. BACTERIA ÁCIDO LÁCTICA (*L. plantarum*)

Queiroz (2015) menciona que, el uso de bacterias homolácticas era común desde el final de la década de los 70, los inoculantes fueron desarrollados con el criterio de Whittenbury (1961), el cual recomendaba que los inoculantes

bacterianos debían 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 *L. plantarum*.

L. plantarum fue inicialmente clasificado como una bacteria homofermentativa obligatoria, basado en su capacidad de convertir 1 mol de glucosa en 2 moles de ácido láctico, por la vía Embden-Meyerhof. Actualmente, el *L. plantarum* es clasificado como una bacteria heterofermentativa facultativa, ya que, en la ausencia de glucosa, puede fermentar pentosas hasta ácido láctico, gas carbónico y ácido acético por vías heterofermentativas (Queiroz, 2015).

El aislamiento y caracterización de la cepa de *L. plantarum* LPBM10 se dio a partir de leche fermentada, presenta propiedades probióticas y es productora de bacteriocinas, el extracto libre de células de LPBM10 presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, la bacteriocina LPBM10 es altamente termoestable, presenta mayor actividad a pH ácido y su actividad no se ve afectada por la presencia de proteinasa K, agentes quelantes y detergentes (Zapata *et al.*, 2009).

En la producción animal el género *Lactobacillus*, ha sido utilizado en lechones destetos para prevenir desordenes en el tracto gastrointestinal, como es el caso de la diarrea, promover el crecimiento, estimular la inmunidad protectora contra patógenos y aumentar la respuesta inmune de la mucosa intestinal (Jurado *et al.*, 2013).

2.9. FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR LA CONSERVACIÓN DE LOS FORRAJES ENSILADOS

Bruno *et al.* (1997) señalan que, además de la influencia del contenido de carbohidratos fermentables y proteínas, existen otros factores que inciden de forma importante sobre la conservación y calidad de los ensilados, los cuales se explicara a continuación.

2.9.1. MADUREZ Y CONTENIDO DE HUMEDAD DEL FORRAJE

El contenido de M.S del material ensilado es frecuentemente la principal limitante de la preservación satisfactoria del forraje, niveles muy bajos dificultarán la compactación rápida de la masa ensilada, mientras que excesos de agua serán un obstáculo sobre el proceso de fermentación y acidificación del material, diluyendo los ácidos formados y extendiendo con ello el proceso fermentativo, una apropiada madurez asegura el suministro de una adecuada cantidad de azúcares fermentables para las bacterias del silo y el máximo valor nutritivo para la óptima alimentación del ganado (Bruno *et al.*, 1997).

2.9.2. TAMAÑO DE PICADO DEL FORRAJE

El tamaño de las partículas del material cosechado es otro factor que afecta el ensilado, debido a que un picado más fino facilitará la disponibilidad de los carbohidratos fermentables celulares del forraje para el medio fermentativo microbiano, cabe considerar, no obstante, que el tamaño del picado reduce su importancia cuando se trata de ensilajes con bajo contenido de M.S, la longitud de picado más conveniente es de alrededor de 6 a 12 mm, dependiendo del cultivo, de la estructura de almacenamiento y de la proporción de silo en la ración (Bruno *et al.*,1997).

2.9.3. LLENADO, COMPACTADO Y SELLADO DEL MATERIAL VEGETATIVO (ENSILAJE DE MAÍZ)

Es necesario conseguir una pronta eliminación de aire de la masa ensilada, para limitar el proceso de respiración inicial y evitar fermentaciones aeróbicas putrefactivas del forraje, que derivan en pérdida de material por descomposición, para una adecuada preservación del ensilaje durante largos periodos, debe aislarse del ambiente atmosférico, esto se consigue procurando la impermeabilidad de las paredes y colocando cubiertas sobre el mismo, cuando el ensilaje se almacena en bolsas, los problemas de llenado, compactado y sellado, prácticamente no tienen relevancia (Bruno *et al.*, 1997).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en las unidades de docencia, investigación y vinculación pastos y forraje de la ESPAM MFL situada a 15 msnm, en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, a 0°49'15,47" S de latitud sur 80°11'0,56" O de longitud oeste.

Cuadro 3.1 Condiciones climáticas del sitio El Limón, Parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí.

PARÁMETRO	VALOR
Precipitación media anual (mm)	992,7
Temperatura media anual (°C)	27
Humedad relativa anual (%)	82,3
Heliofanía anual (horas/sol)	1134,7
Evaporación media anual (mm)	1323,7

Fuente: Estación Meteorológica de la ESPAM MFL (2018)

3.2 DURACIÓN DEL PROYECTO

El presente trabajo de investigación tuvo una duración de seis meses. Cabe mencionar que la ejecución en el campo se realizó en un lapso de seis semanas y se realizaron con frecuencia cada 15 días.

3.3 FACTORES EN ESTUDIO

Lactobacillus plantarum en el ensilaje de maíz (*Zea mays*) a cuatro dosis (0, 5, 10 y 15 ml).

Tiempo de muestreo (15, 30 y 45 días).

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la evaluación de la calidad en el ensilaje de maíz inoculado con diferentes niveles de *Lactobacillus plantarum*, se aplicó un análisis paramétrico utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro niveles, siendo los siguientes: T0: sin inoculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml) con ocho repeticiones; en distintos tiempos de muestreo.

El modelo lineal aditivo estadístico aplicado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = observación del i -ésimo tratamiento j -ésima repetición.

μ = media general.

t_i = efecto del i -ésimo tratamiento $i=1,2\dots4$

ε_{ijk} = error experimental de i -ésimo tratamiento y la j -ésima repetición

3.5 UNIDAD EXPERIMENTAL

Las unidades experimentales utilizadas correspondieron a 32 bolsas de ensilaje en la cual se utilizaron 4 niveles de *Lactobacillus plantarum* 0 (sin inóculo), 5, 10 y 15 ml, a 15, 30, 45 días de muestreo respectivamente.

3.6 VARIABLES MEDIDAS

3.6.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

Inoculación de *Lactobacillus plantarum*, 0 (sin inóculo), 5, 10 y 15 ml.

Tiempo de muestreo 15, 30, 45 días.

3.6.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Variables sensoriales (olor, color y textura)

Unidad de medida acidez/alcalinidad (pH)

Temperatura (°C)

Unidades formadoras de colonias (UFC)

Materia seca (%)

Proteína (%)

Extracto etéreo (%)

Fibra cruda (%)

Ceniza (%)

Energía digestible en bovinos (Mcal/Kg)

3.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.7.1 CARACTERÍSTICAS DE LA CEPA DE *L. plantarum*

La cepa utilizada dentro de esta investigación fue *Lactobacillus plantarum* 24LT aislada del intestino del ternero con característica de catalasa negativa y tinción de Gram +, como consta en los registros del laboratorio de Biología Molecular de la carrera de Pecuaria, conservada a -20°C en tubos Eppendorf más glicerol al 20%; el cual contiene crioprotectores evitando que se formen cristales que destruyen la cepa y manteniendo la misma en una temperatura óptima.

3.7.2 PREPARACIÓN DE INÓCULO DE *L. plantarum*

A partir del crecimiento de la cepa bacteriana de *L. plantarum* en caldo MRS, se procedió a la multiplicación de la cepa bacteriana mediante la inoculación de 100ul de *L. plantarum* por cada 100 ml de caldo MRS. Posteriormente se ubicó en incubación a 37°C por 18 horas en condiciones de anaerobiosis.

3.7.1. ELABORACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ

Se procedió a la cosecha del material vegetativo de manera manual, en el sitio La Piñuela a 3 km de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, el picado fue realizado por medio de la cortadora de pasto acoplada al tractor, mientras que el llenado de los microsilos consistió que por cada capa de forraje de 3 cm la aplicación en partes de la dosis correspondiente a concentraciones de 4×10^8 UFC/MI del inoculante bacteriano con la cepa *L. plantarum*, acompañada de la compactación obteniendo uniformidad dentro del todo el silo para conseguir una condición anaerobia dentro de la masa forrajera, finalmente se realizó el sellado manual de las bolsas (10 kg de forraje de maíz).

3.7.2. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE ENSILAJE DE MAÍZ

La recolección de muestras se inició mediante la apertura de los microsilos de los respectivos tratamientos, con la extracción de cuatro muestras de 1,5 kg de forraje en bolsas ziploc. Posteriormente se retiró manualmente el aire excedente, teniendo al forraje bajo condición anaerobia; de allí se trasladó al

laboratorio de Biología Molecular dentro de la carrera de Pecuaria y el laboratorio Química de alimentos en la carrera de Agroindustria, adscritos a la Escuela Superior Politécnica de Manabí (ESPAM, “MFL”).

3.7.3. EVALUACIÓN QUÍMICA DEL ENSILAJE DE MAÍZ

La evaluación consistió en una muestra forrajera de 10 g sumergida en 20 ml de agua destilada, que fue colocada en una mesa gravitatoria con imán durante 30 minutos en vasos de precipitación; seguidamente se determinaron los valores respectivos mediante el uso del potenciómetro.

3.7.4. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ENSILAJE DE MAÍZ

A cada uno de los jueces (10) se presentaron muestras de cada tratamiento (T0, T1, T2 y T3) con el fin de evaluar mediante una interpretación subjetiva de los sentidos de las variables sensoriales (olor, color y textura) presentes en el material ensilado, esta evaluación (Anexo 1) se realizó con un intervalo de 15 días correspondientes para los distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días), cabe mencionar que las personas seleccionadas (jueces no entrenados) laboran dentro del área del hato bovino de la carrera de Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.

3.7.5. DETERMINACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA (UFC) DEL ENSILAJE DE MAÍZ

Para el pesaje de los 10 gramos de la muestra de ensilaje se utilizó una gramera marca Kern, posteriormente se depositaron en 90 ml de agua de peptona en un matraz de Erlenmeyer, esperando su crecimiento en un lapso de 24 horas, consecuentemente se realizaron diluciones con micropipeta de 1000ul sucesivas hasta 10^{-9} . A partir de las diluciones 10^{-6} hasta 10^{-9} se realizó la siembra por diseminación en placas Petri, las mismas que contenían agar MRS V8 (Himedia) específico para *Lactobacillus*; después se dejó en incubación entre 24 y 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las UFC con el equipo contador de colonias.

3.7.6. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL ENSILAJE DE MAÍZ

Las muestras para el análisis bromatológico fueron enviadas al laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos perteneciente al Instituto

Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el sitio Cutuglagua, en el cantón Mejía, provincia Pichincha, para la determinación de: Materia Seca, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas, Energía Digestible.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables bajo estudio (parámetros, químico (pH), temperatura (°) y Unidades formadoras de colonia (UFC)) se analizaron a través de un análisis de varianza teniendo como factores fijos los tratamientos. Previamente se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianza (Prueba de Bartlett) y normalidad de los errores (Prueba de Shapiro-Wilks). Además, se realizó comparaciones de media utilizando la técnica de la mínima diferencia significativa al 5%, en las variables que resultaron significativas.

En este cuadro se detallan las fuentes de variación y grados de libertad del análisis de varianza.

Cuadro 3.2 Esquema del Análisis de varianza

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos	3
Error	28
Total	31

Con respecto al componente sensorial (olor, color y textura), se realizó la prueba no paramétrica de Friedman, para determinar diferencias a nivel de tratamientos (4) y jueces no entrenados (10).

Las relaciones existentes entre pH y temperatura fueron analizadas a través de correlaciones estadísticas por medio del coeficiente de Pearson. Mientras que el coeficiente de Spearman fue empleado para olor y color.

La variable UFC se le aplicó la estadística descriptiva la cual incluye medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar y error estándar).

Los análisis resultantes fueron medidos a través del software Statistix 8.0 y se presentaron en cuadros, con la finalidad de la discusión respectiva de acuerdo a los objetivos propuestos en la investigación.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETRO QUÍMICO (PH) Y TEMPERATURA DEL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE AIREACIÓN

En el Cuadro 4.1 se presentan los promedios y errores estándar para el pH y la temperatura del ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo. Se observa que estos resultados se encuentran entre los promedios reportados por la literatura.

4.1.1. pH

Las diferencias obtenidas para los tratamientos con respecto a los días de muestreo resultaron diferentes (Anexo 2), siendo a los 15 y 30 días la mayor significancia ($p < 0,01$), mientras que para los 45 días de muestreo la confiabilidad resultó ser del 95%. Es relevante considerar que todos los tratamientos produjeron valores de pH por debajo de 4,5 para una óptima conservación del forraje resultados que según Abdul *et al.* (2017) son aceptables.

Al considerar el tiempo de muestreo de manera específica, se observó que a los 30 días el pH disminuyó en comparación con los resultados obtenidos a los 15 días, esto se debe posiblemente a la producción de ácido láctico por parte de microorganismos homofermentadores como *Lactobacillus plantarum* (Filya, 2003a y Addah *et al.*, 2016) aspecto que refleja un adecuado proceso de ensilado (Jaimes *et al.*, 2009). Resultados similares son reportados por la literatura (Filya, 2003b; Jalč *et al.*, 2009; Corral-Luna *et al.*, 2011; Addah *et al.*, 2011; Addah *et al.*, 2016; Joo *et al.*, 2018).

Otro aspecto importante que se observa es el incremento del pH a los 45 días, la cual pudo deberse a la combinación del ácido láctico con los ácidos acético y propiónico, cuyo efecto tiene propiedades antifúngicas, pero también este proceso metabólico conlleva al aumento en el pH final (Nishino *et al.* 2004; Martínez-Fernández *et al.*, 2010).

Igualmente destaca, que el pH del ensilaje sin inocular (T0) no varío en los distintos tiempos de muestreo. Mientras que los tratamientos 10 ml (T2) y 5 ml

(T1) que se inocularon con *L. plantarum* presentaron el pH más bajo al finalizar el proceso de ensilaje, todo esto posiblemente a la actividad de *L. plantarum* en la acidificación del medio, estos resultados son similares con los obtenidos por Kung y Ranjit (2001).

Este efecto del pH permite inferir que, a pesar de la variabilidad observada, esta no excede de los niveles máximos y mínimos para el proceso de ensilaje, y de esta manera se obtiene un material vegetativo que reúne las condiciones nutritivas adecuadas para la alimentación animal.

4.1.2. TEMPERATURA

Se observan diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) en la temperatura del ensilado en los distintos tiempos de muestreo, resalta la disminución de la temperatura a los 30 días con respecto a los 15 días. La menor temperatura se observó a los 30 días para el tratamiento 3 (15 ml *L. plantarum*), posteriormente se incrementa a los 45 días para el ensilaje que incluía el microorganismo, estos hallazgos permiten deducir el efecto significativo de esta variable en el ensilaje de maíz, lo que corrobora lo reportado por Mier *et al.* (2009).

Los valores obtenidos se pueden relacionar a los reportes presentados por Kung *et al.* (2001) y Villa *et al.* (2008) quienes demuestran que el crecimiento de las bacterias homofermentadoras productoras de ácido láctico y la calidad del ensilaje, principalmente depende del grado de ensilabilidad del forraje, concentración de azúcares, capacidad buffer, humedad, y temperatura.

Otra consideración general es en este punto, es lo referente a los promedios obtenidos, que se encuentran entre los rangos reportados por la literatura, es allí que Villa *et al.* (2008) aseguran que la mayoría de las BAL crecen en temperaturas con un rango entre 25 a 40°C, resultados por encima o por debajo de estos valores implica procesos fermentativos diferentes a los deseados.

Cuadro 4.1 Promedios y errores estándar del pH y temperatura del ensilaje de maíz inoculado con *L. plantarum* en distintos tiempos de muestreo.

Tratamientos	Tiempos de muestreo					
	15		30		45	
	pH	Temperatura (°C)	pH	Temperatura (°C)	pH	Temperatura (°C)
T0	3,93 ^b ± 0,01	25,38 ^c ± 0,19	3,93 ^a ± 0,02	25,80 ^a ± 0,10	3,95 ^a ± 0,01	25,78 ^a ± 0,09
T1	3,92 ^b ± 0,01	26,11 ^{bc} ± 0,19	3,71 ^{bc} ± 0,02	22,62 ^b ± 0,10	3,91 ^b ± 0,01	24,97 ^b ± 0,09
T2	4,02 ^a ± 0,01	27,21 ^a ± 0,19	3,65 ^c ± 0,02	22,42 ^{bc} ± 0,10	3,94 ^{ab} ± 0,01	25,17 ^b ± 0,09
T3	3,94 ^b ± 0,01	26,27 ^b ± 0,19	3,78 ^b ± 0,02	22,23 ^c ± 0,10	3,90 ^b ± 0,01	24,46 ^c ± 0,09

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml).

a, b, c Letras distintas a nivel de columnas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

4.2. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL ENSILAJE DE MAÍZ EN DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO

La composición bromatológica del material experimental, en los distintos tiempos de muestreo de los tratamientos con y sin inclusión de *L. plantarum*, se presenta en el cuadro 4.2 se observa que los valores obtenidos se encuentran en los promedios generales reportados por la literatura para maíz ensilado. Se destaca la poca variabilidad que sufrieron los componentes bromatológicos del forraje conservado dentro de los tratamientos.

Es importante mencionar que ninguno de estos componentes fue afectado estadísticamente ($p > 0,05$) por los distintos tratamientos a excepción de la materia seca (Anexo 3).

Lo anterior permite precisar, que los datos obtenidos de materia seca (%) a los 30 días son similares a los reportados por Filya, (2003) y Ferreira *et al.* (2007). resultados que, son inferiores en relación con los presentados por Freitas *et al.* (2006); Acosta, (2006); Corral-Luna *et al.* (2011); Silveira y Santos, (2017) y Abdul *et al.* (2017) quienes obtuvieron porcentaje de 28,6; 37,8; 29,61 y 26,95 respectivamente.

Con respecto a la proteína cruda, se observa que los valores (%) fueron superiores cuando se incorporó el *L. plantarum* en comparación con el

tratamiento sin inclusión, siendo la excepción a los 45 días (8,87). Mientras que las investigaciones realizadas por Acosta (2006), Freitas *et al.* (2006), Abdul *et al.* (2017) y, Silveira y Santos (2017) reportan porcentajes de P.C en ensilajes de maíz inferiores al 8%.

El componente extracto etéreo (%) presentó el menor valor a los 15 días en comparación con los demás tiempos y dosis, los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Apráez-Guerrero *et al.* (2012) quienes obtuvieron valores superiores al 2%.

La variabilidad observada en los valores de fibra cruda (F.C) no fue significativa (Anexo 2). Sin embargo, el mayor promedio se obtuvo los 45 días con aplicación del inóculo en dosis de 15 ml de *L. plantarum*. Los resultados son similares a los obtenidos por Apráez-Guerrero *et al.* (2012) quienes evaluaron un ensilaje a base de avena y con la mezcla de avena más chilca. Además, a los reportados por Silveira y Santos (2017), en ensilaje de caña de azúcar más la adición de un inoculante.

Al analizar los valores obtenidos en el componente ceniza, se observa a los 30 días de evaluación el valor más alto (9,28%) cuando se incluyó la dosis de 10 ml (T2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Apráez-Guerrero *et al.* (2012) en ensilajes de avena más acacia y por Corral-Luna *et al.* (2011). Sin embargo, son inferiores con los reportados por Acosta (2006) en ensilajes de maíz; al igual que los reportados por Villa *et al.* (2010) quienes obtuvieron 7,09% en ensilajes de maíz y su evaluación microbiológica y calidad nutricional. Es importante destacar, que la ceniza en ensilajes es una característica deseable dentro de un alimento, debido al aporte de minerales que incorpora a la dieta.

Con respecto a la energía digestible (E.D), se observa el mayor promedio (2,41 Mcal/Kg) a los 15 días, cuando el ensilaje de maíz fue inoculado con 10 ml de *L. plantarum*; estos resultados permiten inferir un estado de ensilabilidad óptimo con respecto al resto de los tiempos. Los datos obtenidos son inferiores a los reportados por Hazar (2001), cuando ensiló maíz en combinación con trébol (*Trifolium sp.*). Mientras que los obtenidos por López *et al.* (2017) cuando

evaluaron ensilajes de pasto Camerún (*Pennisetum purpureum*) con inclusión de melaza, la energía digestible fue de 2,48 Mcal/Kg, resultados muy similares a los obtenidos en la presente investigación.

Un hecho relevante en las investigaciones son los hallazgos obtenidos por Roblero (2006) quien reporto valores superiores en la energía digestible en de cuatro tipos de variedades de ensilaje de maíz; forrajero, comercial, AN388, AN44, quien reporto valores de 3,20; 3,18; 3,17 y 3,17 Mcal/Kg respectivamente, siendo estas superiores al máximo obtenido de 2,41 Mcal/Kg.

Estos resultados permiten deducir que los tratamientos con inóculos bacterianos permiten minimizar las pérdidas de calidad del forraje favoreciendo su conservación, permitiendo a pequeños ganaderos una herramienta en época crítica, por la disponibilidad de forrajes de calidad, material con niveles de proteína adecuado; lo que hace al ensilaje con características deseable.

Cuadro 4.2.1 Composición bromatológica del ensilaje de maíz con distintos niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Tiempos de muestreo (días)	Componentes bromatológicos	Tratamientos			
		T0	T1	T2	T3
15	M.S	21,35	23,07	22,43	23,65
	P.C	8,68	9,00	8,77	9,23
	E. E	1,44	1,48	1,47	1,41
	F.C	36,82	34,26	34,79	36,26
	C	9,69	8,65	4,99	9,06
	E. D	2,18	2,28	2,41	2,22
30	M.S	21,94	22,15	22,9	23,12
	P.C	9,68	10,16	10,71	9,87
	E. E	1,86	1,52	1,84	1,82
	F.C	37,28	34,61	33,73	34,67
	C	9,19	8,66	9,26	8,82
	E. D	2,22	2,28	2,30	2,29
45	M.S	19,72	21,44	23,14	23,28
	P.C	9,56	9,92	10,13	8,87
	E. E	1,96	2,36	1,91	1,60
	F.C	35,23	34,55	34,03	37,30
	C	8,86	8,49	9,11	8,17
	E. D	2,28	2,34	2,30	2,23

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml);

*M.S: materia seca; P.C: proteína cruda; E.E: extracto etéreo; F.C: fibra cruda; C: ceniza; E.D: energía digestible.

4.3. MICROORGANISMOS EN EL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO

El análisis de varianza realizado para el número de microorganismos presente resultó no significativo ($p > 0,05$) para los tratamientos en cada uno de los tiempos de muestreo analizados (Anexo 4). El resumen descriptivo (Cuadro 4.3) permite precisar un incremento a medida que transcurren los tiempos de muestreo, esto posiblemente se deba a una mayor conservación del material vegetativo.

Cuadro 4.3.1 Estadística descriptiva del número de microorganismos (UFC) en niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Estadísticos	Tiempos de muestreo											
	15				30				45			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
MEDIA	1,60	1,60	1,60	1,60	5,36	5,36	5,36	5,36	6,36	6,36	6,36	6,36
DE	2,21	2,21	2,21	2,21	8,52	8,52	8,52	8,52	1,52	1,52	1,52	1,52
EE	5,54	5,54	5,54	5,54	2,13	2,13	2,13	2,13	3,81	3,81	3,81	3,81

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml);

*N. número; D.E. desviación estándar; E.E. error estándar

Es importante resaltar que a mayores tiempos de muestreo se observa un incremento en los promedios de *L. plantarum*, que indica la actividad fermentativa. Steidlova *et al.* (2003) mencionan que estos microorganismos son homofermentadores, lo que hace que sean considerados benéficos.

Con respecto a esto último, Murado *et al.* (2008) resaltan, que al evaluar las bacterias ácido láctica (BAL) como inóculo en conservación de forrajes, estas son responsables de la producción de sustancias antimicrobianas, las cuales inhiben el crecimiento de organismos patógenos o esporádicos. Además, el efecto benéfico de la inoculación de *L. plantarum* en ensilados dentro de cada uno de los tratamientos favorece la disminución del pH sumado al aumento de concentraciones de ácido láctico, todo esto se debe posiblemente a las predominancias de bacterias productoras de ácido láctico, permitiendo así la estabilidad de las propiedades nutricionales del forraje.

De otra parte, es relevante indicar, que las técnicas de conservación muchas veces no suelen ser suficientes, afectando su conservación; es allí donde el uso de aditivos podría contribuir a minimizar las pérdidas de calidad, siendo el empleo de inoculantes una alternativa para mantener un valor nutritivo óptimo.

4.4. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL ENSILAJE DE MAÍZ A DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO

Los valores probabilísticos obtenidos a través de la prueba Friedman para las distintas características organolépticas evaluadas (Cuadro 4.4) resulto altamente significativo ($p < 0,01$) para el atributo olor y significativo ($p < 0,05$) para textura en los distintos tratamientos a los 45 días; lo que permite inferir un cambio rotundo en el material vegetativo producto a los niveles de inclusión del *L. plantarum* y al tiempo transcurrido, como factores predisponentes.

Al mismo tiempo, se observa que el factor jueces fue significativo en los atributos color y textura en los tiempos de 15 y 30 días de muestreo, lo que refleja que cada uno de ellos percibió cambios en las propiedades organolépticas, posiblemente a esa variación del material experimental, o a la condición de no ser jueces entrenados, influyendo el estado intrínseco del evaluador o subjetividad de estos.

Ríos *et al.* (2015) indican, que no existe una relación entre los atributos organolépticos y propiedades bromatológicas para el ensilaje de maíz. Sin embargo, la aceptación por parte de los animales sería el mejor indicador.

Cuadro 4.4.1 Valores probabilísticos¹ para las características organolépticas del ensilaje de maíz a los 15, 30, 45

Factores de estudio	Tiempos de muestreo								
	15 días			30 días			45 días		
	Olor	Color	Textura	Olor	Color	Textura	Olor	Color	Textura
	p	p	p	p	p	P	p	p	p
Jueces	0,0627	0,0055**	0,0007**	0,151	0,0484*	0,0315*	0,4634	0,1874	0,0013**
Tratamientos	0,0582	0,215	0,062	0,2615	0,2022	0,0747	0,0057**	0,7744	0,0169*

** Diferencias significativas al 1% ($p < 0,01$)

* Diferencias significativas al 5% ($p < 0,05$)

¹ Desarrollo de la prueba de Friedman (anexos: 5,6 y 7)

días transcurridos.

4.5. CORRELACIONES ENTRE LAS VARIABLES BAJO ESTUDIO

El cuadro 4.5 permite observar las variables asociadas del ensilaje de maíz que resultaron significativas en los distintos tiempos de muestreo, se detalla relaciones entre parámetros: químicos, organolépticos y microbiológicos.

Cuadro 4.5.1 Valor de correlación (r) de las variables a los distintos tiempos de muestreo

Variables	Tiempos de muestreo			
	15	30	30	45
	pH	Color	Color	Color
Temperatura (°C)	0,79 (p=0,002)	-	-	-
Olor	-	0,71 (p=0,006)	-	-
UFC	-	-	-0,76 (p=0,003)	-
Olor	-	-	-	0,63 (p=0,025)

Los resultados obtenidos permiten indicar que en los distintos tiempos de muestreo se manifestó significativamente una relación entre variables, se puede resaltar valores de correlación (r) por encima de 0,5 que refieren un grado de asociación entre variables alto ($p < 0,01$), tal como se observa entre las variables pH y temperatura. Esta relación se puede explicar, porque a temperaturas altas, el material presentaba pH menos ácido; sin embargo, mediante análisis de correlaciones Suarez *et al.* (2011) mencionan que los altos valores de pH se encuentran muy relacionados con los contenidos de proteína del ensilaje, la cual posiblemente sea capaz de neutralizar la acidez producida por ácidos grasos volátiles especialmente el ácido láctico en ensilajes de cogollo de caña de azúcar en combinación con *Gliricidia sepium*.

En los atributos organolépticos se observa correlaciones positivas, lo que refiere que, a colores más intensos tal como el verde aceituno, los olores

percibidos fueron más agradable; estos resultados de los atributos se encuentran en las categorías indicados por Betancourt *et al.* (2006).

Otro hecho relevante es la correlación negativa ($r = -0,76$) entre el color y la UFC, el cual permite inferir que una alta cantidad de UFC en el material experimental presentó el color menos aceptable para los jueces.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El proceso de conservación alcanzó el tiempo de muestreo máximo definido (45 días), corroborado por la presencia de *L. plantarum*, que acidifica al medio acelerando el proceso de fermentación y por ende la calidad de la preservación del forraje de maíz.

La inclusión de *L. plantarum* en el ensilaje de maíz resultó con niveles aceptables en los parámetros; pH, temperatura, componentes bromatológicos y aspectos organolépticos para el proceso de conservación de las propiedades nutritivas del cultivo, a los 30 días de muestreo (T2), siendo probablemente una alternativa en la alimentación bovina, principalmente en la época seca.

La composición bromatológica destaca los mayores valores a nivel de proteína generado por la inclusión de *L. plantarum* en la dosis 10 ml (T2); lo que evidencia una mejora en la calidad en el valor nutritivo del material vegetativo.

Las características organolépticas del material vegetativo evaluado por los jueces, se considera adecuado para el consumo animal, esto debido a que los microsilos presentaron los siguientes aspectos: excelente olor a fruta madura, color verde amarillento y textura que conservaba sus contornos y hojas, evitando la pérdida de calidad de la masa forrajera. Además, los tratamientos con inclusión de *L. plantarum* no presentaron percepción de olores avinagrados y colores oscuros, que son indicadores de baja calidad.

Las variables de los parámetros, químico (pH), UFC y sensoriales presentan un grado de asociación significativo, lo que conlleva a valores de correlación (r) positivos y negativos.

5.2. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones de palatabilidad animal con el empleo de distintos niveles de inclusión de *L. plantarum* en el ensilaje del forraje de maíz.

Evaluar distintas cepas bacterianas a nivel de laboratorio de biología molecular con el fin de elegir un inoculante benéfico que sea favorable en la calidad y conservación del maíz y otras gramíneas forrajeras de consumo animal.

Planificar previamente la época crítica la elaboración de alternativas para la conservación de forrajes, minimizando el impacto negativo en la salud y producción bovina.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul, N., Abd, M. R., Mahawi, N., Hasnudin, H., Al-Obaidi, J. R., & Abdullah, N. (2017). Determination of the Use of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium freudenreichii* Application on Fermentation Profile and Chemical Composition of Corn Silage. *BioMed Research International*, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/2038062>
- Addah, W., Baah, J., & McAllister, T. A. (2016). Effects of an exogenous enzyme-containing inoculant on fermentation characteristics of barley silage and on growth performance of feedlot steers. *Canadian Journal of Animal Science*, 96(1), 1-10. <https://doi.org/10.1139/cjas-2015-0079>
- Addah, W., Baah, J., Groenewegen, P., Okine, E. K., & McAllister, T. A. (2011). Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. *Canadian Journal of Animal Science*, 91(1), 133-146. <https://doi.org/10.4141/CJAS10071>
- Agudelo, N; Torres, M; Alvarez, C; Vélez, L. 2015. Bacteriocinas producidas por bacterias ácido-lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/46PLtY
- Almeida, M. y Cárdenas, D. 2006. Efecto del uso de Microorganismos Eficientes sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/doWHx8
- Apráez-Guerrero, J. E., Insuasty-Santacruz, E. G., Portilla-Melo, J. E., & Hernández-Vallejo, W. A. (2012). Composición nutritiva y aceptabilidad del ensilaje de avena forrajera (*Avena sativa*), enriquecido con arbustivas: acacia (*Acacia decurrens*), chilca (*Braccharis latifolia*) y sauco (*Sambucus nigra*) en ovinos. *vet.zootec.*, 6(1), 25-35.
- Barros, J. 2017. El maíz amarillo, la mejor opción para criar animales de consumo. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/GvRkgD
- Bernal, J; Chaverra, H; Acevedo, G; Angel, M; Arciniegas, A. 2002. Ensilaje, heno y henolaje, Tipos, métodos y nuevas tecnologías. (En línea). CO. Consultado, 21 de ene. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://comalfi.com>
- Betancourt, M; González, I; Martínez, M. 2006. Evaluación de la calidad de los Forrajes. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/8DT8uo

- Boschini, C; y Elizondo, J. 2004. Desarrollo productivo y cualitativo de maíz híbrido para ensilaje. Costa Rica, ALA. Agronomía Mesoamericana. Vol. 15. núm. 1. p 31.
- Bruno, O; Romero, L; Ustarroz, E. 1997. Forrajes conservados henos, henolaje empaquetado, silajes, calidad de las reservas y respuesta animal. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/FYtgQv
- Bustamante, J. 2004. Estrategias de alimentación para la ganadería bovina en nayarit. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/o48mKU
- Camps, D. y González, G. 2003. Grano de maíz en la alimentación del ganado: ¿entero o partido? (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/aP19gd
- Cárdenas, E. 2011. Uso de aditivos para ensilajes en la zona sur de Chile. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/6n9R2f
- Castillo, M; Rojas, A; WingChing, R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). Costa Rica, San José. Agronomía Costarricense, Vol. 33. núm. 1. p 134
- Castro, M. 2016. Rendimientos de maíz duro seco en invierno 2016. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/KSNRLf
- Cobos, M. 2014. Técnicas de ensilaje y construcción de silos forrajeros. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/rQYtZE
- Contreras, F. y Muck, R. 2006. Inoculantes Microbiales para ensilaje. Estados Unidos, WIS. Focus on Forage - Vol 8: No. 4. p 1.
- Corral-Luna, A. C., Domínguez-Díaz, D., Rodríguez-Almeida, F., Villalobos-Villalobos, G., Ortega-Gutiérrez, J., & Muro-Reyes, A. (2011). Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nevadura café. Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences, 6(1), 181-187. <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a973>
- Cubero, J; Rojas, A; WingChing, R. 2010. Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (*Zea mays*). Valor nutricional y fermentativo. Costa Rica, SAN JOSÉ. Agronomía Costarricense. Vol. 34. núm. 2. p 238.

- Demagnet, R. 2011. Uso de Aditivos Biológicos en Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/pkoNiQ
- Depetris, G; Santini, F; Gagliostro, G. 2006. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal – (Particularidades Nutricionales del grano de maíz en la alimentación de bovinos de carne - Particularidades Nutricionales del grano de maíz en la alimentación de vacas lecheras). (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/snYGW9
- Di Marco, O. y Aello, M. 2008. Calidad nutritiva de la planta de maíz para silaje. (En línea). Consultado, 25 de nov. 2017. Disponible en goo.gl/5uc1SU
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2001. Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. (En línea). Formato books. Disponible en: <https://books.google.com.ec>
- Ferrari, C. y Alarcón, A. 2015. Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/N3zF8Z
- Ferreira, D. A., Gonçalves, L. C., Molina, L. R., Castro Neto, A. G., & Tomich, T. R. (2007). Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(2), 423-433. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000200024>
- Filya, I. (2003a). The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3575-3581. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73963-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0)
- Filya, I. (2003b). The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, 95(5), 1080-1086. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02081.x>
- Franco, L; Calero, D; Ávila, P. 2007. Evaluación de tecnologías por métodos participativos para la implementación de sistemas ganaderos sostenibles en el norte del departamento del Valle del Cauca. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/ReCxCi

- Freitas, A. W. de P., Pereira, J. C., Rocha, F. C., Costa, M. G., Leonel, F. de P., & Ribeiro, M. D. (2006). Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(1), 38-47. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000100005>
- Galina, M; Ortiz, M; Guerrero, M; Mondragón, D; Franco, N; Elías, A. 2008. Efecto de un ensilado de maíz solo o inoculado con un probiótico láctico y adicionado con un suplemento nitrogenado de lento consumo en ovinos. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/tr7PB6
- Gallardo, M. 2015. Concentrados y subproductos para la alimentación de rumiantes. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/k3J7UK
- Garcés, A; Berrio, L; Ruiz, S; Serna de León, J; Builes, A. 2015. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/sXXSHm
- García, R. y Ramos, R. 2011. Alimentación de vacas lecheras con dietas basadas en ensilado elaborado con mezcla de canavalia (canavalia ensiformis) y sorgo (sorghum bicolor) y su efecto en la producción, eficiencia en el uso de nutrientes y rentabilidad. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/yEVxct
- García, Y. y García, Y. 2015. Uso de aditivos en la alimentación animal: 50 años de experiencia en el Instituto de Ciencia Animal. Cuba, La Habana. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Vol. 49. núm. 2. p 173.
- Gómez, A. 2014. Fases del ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/awKSNF
- Hansen, C. y Milwaukee, W. 2014. Evaluando la Calidad del Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/Az8Qvc
- Hazard, S., Morales, M., Butendieck, P. y Mardones, P. (2001). Evaluación de la mezcla de ensilaje de maíz con ensilaje de trébol rosado en diferentes proporciones en la alimentación invernal de vacas lecheras en la zona sur. *Agricultura Técnica*, 61(3): 306-318
- Hidalgo, F. y Serralde, T. 2016. El uso de la Planta de Maíz en la alimentación de Bovinos. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/eJwsTT
- Jaimes, J. J., Hernández, J., & Vargas, M. (2009). Efecto de tres niveles de carbohidratos sobre la calidad del ensilado. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas.*, 8, 10-17.

- Jalč, D., Lauková, A., Simonová, M. P., Váradyová, Z., & Homolka, P. (2009). Bacterial Inoculant Effects on Corn Silage Fermentation and Nutrient Composition. *Asian-Australas J Anim Sci*, 22(7), 977-983. <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80282>
- Joo, Y. H., Kim, D. H., Paradhita, D. H. V., Lee, H. J., Amanullah, S. M., Kim, S. B., ... Kim, S. C. (2018). Effect of microbial inoculants on fermentation quality and aerobic stability of sweet potato vine silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(12), 1897-1902. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0264>
- Jurado, H; Ramírez, C; Aguirre, D. 2013. Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. Colombia, CAL. *Veterinaria y Zootecnia*. Vol 7 No.2. p 38.
- Kung, L., & Ranjit, N. K. (2001). The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1149-1155. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74575-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4)
- Lopez, M. 2017. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UykMkWGm6EsJ:https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6173095.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>
- Martínez-Fernández, A., Soldado, A., & Vicente, F. (2010). Wilting and inoculation of *Lactobacillus buchneri* on intercropped triticale-fava silage: effects on nutritive, fermentative and aerobic stability characteristics. *Agricultural and Food Science*, 19(4), 302. <https://doi.org/10.2137/145960610794197597>
- Maza, L; Vergara, O; Paternina, E. 2011. Evaluación química y organoléptica del ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum sp.*) más yuca fresca (*Manihot esculenta*). Argentina, COR. *Rev.MVZ Córdoba*. Vol 16. No 2. p 2530.
- Mendoza, G. y Ricalde, R. 2016. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/Xhc1ou
- Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/seJdnv
- Narvaez, D. 2013. Efecto de la aplicación de inoculantes sobre las características microbianas a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero

(*zea mayz* l). mocache, ecuador 2013. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/LtbyZP

Nishino, N., Wada, H., Yoshida, M., & Shiota, H. (2004). Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of dairy science*, 87(8), 2563-2570.

Nooijen, M. y Zwieler, J. 2014. Planear para el éxito de ensilado. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/uzdHgL

Paliwal, R. 2014. Usos del maíz. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/bJVP4T

Parra, R. 2010. Review. Bacterias Acido Lácticas: Papel Funcional En Los Alimentos. Colombia, CAL. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol 8. No 1. p 95.

Queiroz, O. 2015. Aditivos bacterianos para silajes. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/6s1dY8

Ramírez, J; P Rosas, P; Velázquez, M; Ulloa, J; Arce, F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año 2*, No. 7. p 1.

Robledo, J. 2006. Evaluación comparación nutricional y energética de cuatro Genotipos de maíz en forma natural y ensilado. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5950/T15369%20ROBLERO%20L%20D3PEZ,%20JUAN%20JOSE%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Rodríguez, S. 2010. El maíz en la dieta de vacas lecheras. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/AiB2LV

Ruiz, B; Castillo, Y; Anchondo, A; Rodríguez, C; Beltrán, R; La O, O; Payán, J. 2009. Efectos de enzimas e inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. España, COR. *Archivos de Zootecnia*. Vol. 58. núm. 222. p 163-164.

Ruiz, O; Beltrán, R; Salvador, F; Rubio, H; Grado, A; Castillo, Y. 2006. Valor nutritivo y rendimiento forrajero de híbridos de maíz para ensilaje. Cuba, HAB. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Vol. 40. núm. 1. p 91.

- Saltos, M. 2012. Buenas prácticas agrícolas en los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y maní (*Arachis hypogaea* L.), en el cantón Rocafuerte. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/jrcV2h
- Sánchez, A; Lara, M; Sepúlveda, J. 2016. Conservación de forrajes a través del ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/giy9sB
- Serna, L. y Rodríguez, A. 2005. Producción biotecnológica de ácido láctico: estado del arte. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/3uzSfG
- Silveira, L. de P., & Santos, T. M. da C. (2017). Silagem de cana-de-açúcar acrescida com aditivos químicos e inoculante bacteriano. *Pubvet*, 11(5), 519-526. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v11n5.519-526>
- Suarez, R; Mejía, J; González, M; García, D.E y Perdon, D.A. 2011. Evaluación de ensilajes mixtos de *Saccharum officinarum* y *Gliricidia sepium* con la utilización de aditivos. (En línea). Consultado, 28 de ene. 2018. Formato PDF. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v34n1/pyf06111.pdf>
- Tobía, C. y Vargas, E. 2000. Inóculos bacterianos: una alternativa para mejorar el proceso fermentativo en los ensilajes tropical. *Res. Costa Rica, SAN JOSÉ. Nutrición Animal Tropical*. Vol. 6. Nº 1. p 130-131.
- Urrutia, J. y Meraz, O. 2004. Elaboración de ensilaje de buena calidad. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/YmqPb6
- Villa, A.F., Meléndez, A.P., Carulla, J.E., Pabón, M.L., Cárdenas, E.A. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 23(1):65-77.
- Villa, A; Meléndez, A; Carulla, J; Pabón, M; Cárdenas, E. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. *Colombia, MED. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 23. núm. 1. p 66.
- Wagner, V; Asencio, A; Caridad, J. 2015. Como preparar un reparar un buen ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/6k3Mxe
- Waldir, E; Mojmír, R; Karel, M; Quillama, E; Egoavil, E. 2007. Production of lactic acid by *Lactobacillus plantarum* L10 on batch and continuous cultivation. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/9r8G6g

Zapata, S; Muñoz, J; Ruiz, O; Montoya, O; Gutiérrez, P. 2009. Aislamiento de *Lactobacillus plantarum* lpbm10 y caracterización parcial de su bacteriocina. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/tvFnhN

ANEXOS

Anexo 1. Modelo de encuesta utilizada para los 15, 30 y 45 días en la toma de muestras del ensilaje de maíz.

Nombre:

Fecha:

EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LA MUESTRA DE UN ENSILAJE.

OLOR

	EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA
OLOR	Agradable, a fruta madura	Agradable con ligero olor a vinagre	Acido con fuerte olor a vinagre	Desagradable, putrefacto, rancio, permanece en las manos

		EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA	OBSERVACIONES
T0	OLOR					
T1	OLOR					
T2	OLOR					
T3	OLOR					

COLOR

	EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA
COLOR	Verde aceituno	Verde amarillento	Verde oscuro	Carmelita casi negro

		EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA	OBSERVACIONES
T0	COLOR					
T1	COLOR					
T2	COLOR					
T3	COLOR					

TEXTURA

	EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA
TEXTURA	Conserva sus contornos, las hojas permanecen unidas a los tallos	Conserva sus contornos, las hojas permanecen unidas a los tallos	Las hojas se separan fácilmente de los tallos	No hay diferencias entre las hojas y los tallos

		EXCELENTE	BUENA	REGULAR	MALA	OBSERVACIONES
T0	TEXTURA					
T1	TEXTURA					
T2	TEXTURA					
T3	TEXTURA					

Análisis sensoriales por parte de los jueces.

**Anexo 2.** Resumen de análisis de varianza (cuadrados medios) para los parámetros pH y temperatura a los distintos tiempos de muestreo.

Fuentes de variación	Tiempos de muestreo					
	15		30		45	
	pH	Temperatura	pH	Temperatura	pH	Temperatura
Tratamientos	0,01797**	4,50615**	0,11193**	22,9253**	0,00405*	2,40083**
Error experimental	0,00086	0,31362	0,00287	0,0782	0,00127	0,06920
C.V	0,74	2,13	1,42	1,20	0,91	1,05

** Diferencias significativas al 1% ($P < 0,01$)

* Diferencias significativas al 5% ($P < 0,05$)

Anexo 3. Cuadro composición bromatológico del ensilaje de maíz inoculado con *L. plantarum*

Tratamientos	Componentes bromatológicos					
	M.S	P.C	E.E	F.C	C	E.D
T0	21,00 ^b	9,30	1,75	36,44	9,24	2,22
T1	22,22 ^{ab}	9,69	1,78	34,47	8,60	2,30
T2	22,82 ^a	9,87	1,74	34,18	7,79	2,33
T3	23,35 ^a	9,32	1,61	36,07	8,68	2,24
C.V	3,31	7,26	18,84	2,55	14,62	2,11

^{a,b} Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

Anexo 4. Resumen de análisis de varianza (cuadrados medios) para el número de microorganismos (UFC) para el factor tratamiento a los distintos tiempos de muestreo.

Fuentes de variación	Tiempos de muestreo					
	15		30		45	
	C.M	Probabilidad	C.M	Probabilidad	C.M	Probabilidad
Tratamientos	1,980	0,789	4,500	0,647	2,307	0,429
Error experimental	5,656		7,948		2,327	
C.V	148,560		166,13		239,61	

Anexo 5. Prueba de Friedman para los atributos color, olor y textura a los 15 días de muestreo.

5.1. Color

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for color = juez tratamientos

juez	Mean Rank	Sample Size
1	8.00	4
2	5.88	4
3	1.00	4
4	4.13	4
5	5.75	4
6	4.75	4
7	3.63	4
8	6.88	4
9	8.00	4
10	7.00	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 23.312
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.0055
 Degrees of Freedom 9

	Mean Sample	
tratamien	Rank	Size
0	2.05	10
1	2.40	10
2	2.75	10
3	2.80	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 4.4694
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.2150
 Degrees of Freedom 3

5.2. Olor

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for olor = juez tratamientos

	Mean Sample	
juez	Rank	Size
1	6.75	4
2	5.63	4
3	3.25	4
4	3.50	4
5	4.63	4
6	5.63	4
7	4.38	4
8	5.38	4
9	8.00	4
10	7.88	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 16.208
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.0627
 Degrees of Freedom 9

	Mean Sample	
tratamien	Rank	Size
0	2.05	10
1	2.30	10
2	3.20	10
3	2.45	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 7.4746
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.0582
 Degrees of Freedom 3

5.3. Textura

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for textura = juez tratamientos

	Mean Sample	
juez	Rank	Size
1	6.88	4
2	4.75	4
3	1.00	4
4	3.25	4

5	4.75	4
6	9.00	4
7	4.75	4
8	6.88	4
9	8.00	4
10	5.75	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 28.826
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0007
Degrees of Freedom 9

	Mean	Sample
tratamien	Rank	Size
0	2.00	10
1	2.40	10
2	2.80	10
3	2.80	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 7.3333
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0620
Degrees of Freedom 3

Anexo 6. Prueba de Friedman para los atributos color, olor y textura a los 30 días de muestreo.

6.1. Color

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for color = juez tratamientos

	Mean	Sample
juez	Rank	Size
1	4.75	4
2	4.75	4
3	8.38	4
4	8.38	4
5	5.88	4
6	4.75	4
7	2.75	4
8	4.75	4
9	4.75	4
10	5.88	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 17.022
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0484
Degrees of Freedom 9

	Mean	Sample
TRAT	Rank	Size
0	2.10	10
1	2.30	10
2	2.70	10
3	2.90	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 4.6154
P-value, Chi-Squared Approximation 0.2022
Degrees of Freedom 3

6.2. Olor

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for olor = juez tratamientos

	Mean Sample	
juez	Rank	Size
1	7.00	4
2	4.88	4
3	4.25	4
4	4.25	4
5	6.00	4
6	5.88	4
7	6.00	4
8	7.00	4
9	2.75	4
10	7.00	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 13.264
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.1510
 Degrees of Freedom 9

	Mean Sample	
TRAT	Rank	Size
0	2.10	10
1	2.30	10
2	2.90	10
3	2.70	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 4.0000
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.2615
 Degrees of Freedom 3

6.3. Textura

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for textura = juez tratamientos

	Mean Sample	
juez	Rank	Size
1	6.00	4
2	5.88	4
3	1.63	4
4	3.13	4
5	6.88	4
6	8.00	4
7	6.88	4
8	4.88	4
9	5.25	4
10	6.50	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 18.335
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.0315
 Degrees of Freedom 9

Mean Sample		
TRAT	Rank	Size
0	1.75	10
1	2.60	10
2	2.90	10
3	2.75	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 6.9130
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.0747
 Degrees of Freedom 3

Anexo 7. Prueba de Friedman para los atributos color, olor y textura a los 45 días de muestreo.

7.1. Color

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for color = juez tratamientos

Mean Sample		
juez	Rank	Size
1	5.00	4
2	4.00	4
3	4.38	4
4	4.63	4
5	5.25	4
6	7.50	4
7	4.00	4
8	5.00	4
9	7.50	4
10	7.75	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 12.484
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.1874
 Degrees of Freedom 9

Mean Sample		
tratamien	Rank	Size
0	2.40	10
1	2.30	10
2	2.70	10
3	2.60	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 1.1111
 P-value, Chi-Squared Approximation 0.7744
 Degrees of Freedom 3

7.2. Olor

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for olor = juez tratamientos

Mean Sample		
juez	Rank	Size
1	6.75	4

2	4.50	4
3	4.63	4
4	4.63	4
5	5.63	4
6	4.50	4
7	6.75	4
8	5.75	4
9	3.88	4
10	8.00	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 8.7209
P-value, Chi-Squared Approximation 0.4634
Degrees of Freedom 9

Mean Sample		
tratamien	Rank	Size
0	1.45	10
1	2.80	10
2	2.95	10
3	2.80	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 12.549
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0057
Degrees of Freedom 3

7.3. Textura

Statistix 8.0

Friedman Two-Way Nonparametric AOV for textura = juez tratamientos

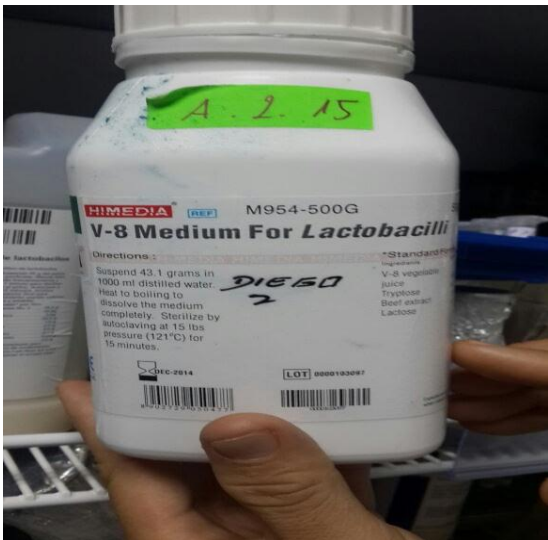
Mean Sample		
juez	Rank	Size
1	7.63	4
2	5.63	4
3	1.50	4
4	2.25	4
5	6.75	4
6	6.63	4
7	6.75	4
8	5.63	4
9	3.63	4
10	8.63	4

Friedman Statistic, Corrected for Ties 27.122
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0013
Degrees of Freedom 9

Mean Sample		
tratamien	Rank	Size
0	1.90	10
1	2.25	10
2	3.20	10
3	2.65	10

Friedman Statistic, Corrected for Ties 10.200
P-value, Chi-Squared Approximation 0.0169
Degrees of Freedom 3

Anexo 8. Preparación del inóculo (*L. Plantarum*) a nivel de laboratorio.



Anexo 9. Elaboración de microsilos a nivel de campo.

Anexo 10. Análisis de muestras para el laboratorio

MC-LSAIA-2001-04

INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD
LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS
 Panamericana Sur Km. 1, CanguajayTl, 2600991-3007134, Fax 3007134
 Casilla postal 17-01-340

INFORME DE ENSAYO No: 18-082

NOMBRE PETICIONARIO: Sr. Arturo José Vera Mendoza
DIRECCION: Calcuta
FECHA DE EMISION: 23 de mayo de 2018
FECHA DE ANALISIS: Del 15 al 23 de mayo de 2018

INSTITUCION: Particular
ATENCIÓN: Sr. Arturo José Vera
FECHA DE RECEPCION: 15 de mayo de 2018
HORA DE RECEPCION: 08:15
ANÁLISIS SOLICITADO: Proximal, energía digerible

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS ¹	E.E. ²	PROTEÍNA ³	FIBRA ⁴	E.L.N. ⁵	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01-01	MO-LSAIA-01-02	MO-LSAIA-01-03	MO-LSAIA-01-04	MO-LSAIA-01-05	MO-LSAIA-01-06	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
18-0511	79.06	9.19	1.86	9.69	37.28	42.00	Ensilaje T0 INIAP
18-0512	77.85	8.86	1.52	10.10	33.61	40.05	Ensilaje T1 INIAP
18-0513	77.10	9.25	1.84	10.71	33.73	44.44	Ensilaje T2 INIAP
18-0514	76.98	8.92	1.52	9.87	33.67	44.83	Ensilaje T3 INIAP
ANÁLISIS	ENERGÍA DIGERIBLE⁶						
METODO	MO-LSAIA-18						
METODO REF.	U. FLORIDA 1974						
UNIDAD	Mcal/Kg						
18-0511	2.22						Ensilaje T0 INIAP
18-0512	2.28						Ensilaje T1 INIAP
18-0513	2.30						Ensilaje T2 INIAP
18-0514	2.29						Ensilaje T3 INIAP

Los ensayos marcados con **0** se reportan en base seca.
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

RESPONSABLES DEL INFORME

[Firma]
Dr. Iván Sotomayor, MSc
RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Anexo 13. Análisis bromatológico del ensilaje de maíz, a los 45 días de muestreo.

MC-LSAIA-2001-04

INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD
LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS
 Panamericana Sur Km. 1, CanguajayTl, 2600991-3007134, Fax 3007134
 Casilla postal 17-01-340

INFORME DE ENSAYO No: 18-090

NOMBRE PETICIONARIO: Sr. Arturo José Vera Mendoza
DIRECCION: Calcuta
FECHA DE EMISION: 22/06/2018
FECHA DE ANALISIS: Del 1 al 22 de junio de 2018

INSTITUCION: Particular
ATENCIÓN: Sr. Arturo Vera
FECHA DE RECEPCION: 31/05/2018
HORA DE RECEPCION: 08:15
ANÁLISIS SOLICITADO: Proximal, energía digerible

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS ¹	E.E. ²	PROTEÍNA ³	FIBRA ⁴	E.L.N. ⁵	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01-01	MO-LSAIA-01-02	MO-LSAIA-01-03	MO-LSAIA-01-04	MO-LSAIA-01-05	MO-LSAIA-01-06	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
18-0562	80.28	8.86	1.96	9.56	35.23	44.39	Ensilaje T0 INIAP
18-0563	78.56	8.49	2.36	9.92	34.55	44.68	Ensilaje T1 INIAP
18-0564	76.86	9.11	1.91	10.13	34.03	44.82	Ensilaje T2 INIAP
18-0565	76.72	8.17	1.60	8.87	37.30	44.07	Ensilaje T3 INIAP
ANÁLISIS	ENERGÍA DIGERIBLE⁶						
METODO	MO-LSAIA-14						
METODO REF.	U. FLORIDA 1974						
UNIDAD	Mcal/Kg						
18-0562	2.28						Ensilaje T0 INIAP
18-0563	2.34						Ensilaje T1 INIAP
18-0564	2.30						Ensilaje T2 INIAP
18-0565	2.23						Ensilaje T3 INIAP

Los ensayos marcados con **0** se reportan en base seca.
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

RESPONSABLES DEL INFORME

[Firma]
Dr. Iván Sotomayor, MSc
RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.