

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
SUBDIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ENSEÑANZA
PROGRAMA DE POSGRADO

"ESTUDIO DE ADITIVOS Y CINÉTICA DEL ENSILAJE
DE MADERO NEGRO (Gliciridia sepium)"

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico
Académico del Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y
Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de
Investigación y Enseñanza para optar al grado de

MAGISTER SCIENTIAE

POR

BERTHA ALICIA DE LA FUENTE MARTINEZ

CATIE
Turrialba, Costa Rica
1990

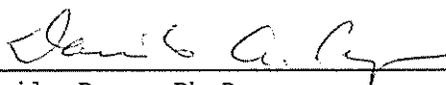
Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la Coordinación del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE, y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar el grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

COMITE ASESOR:

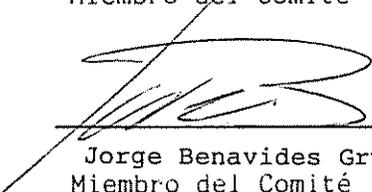


María Kass, Ph.D.
Profesor Consejero

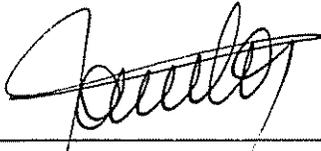


Danilo Pezo, Ph.D.
Miembro del Comité

German Sanchez, Ph.D.
Miembro del Comité

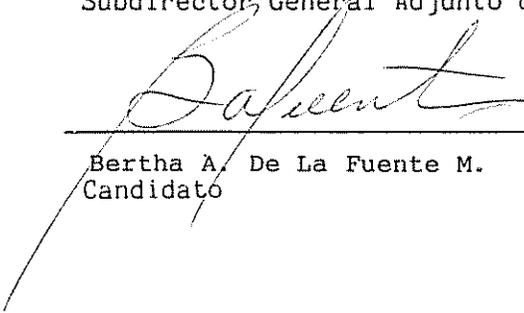


Jorge Benavides Grutter, M.Sc.
Miembro del Comité



Ramón Lastra Rodríguez, Ph.D.
Coordinador, Programa de Estudios de Posgrado

Dr. José Luis Parisí
Subdirector General Adjunto de Enseñanza



Bertha A. De La Fuente M.
Candidato

DEDICATORIA

A Julio (mi querido esposo)

Julio Alberto y Pedro Pablo
(mis hijos)

A Pedro Francisco
(mi padre)

A Juanita
(mi madre)

A mis hermanos, familiares y amigos

RECONOCIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

A mi profesora consejera y amiga personal Dra. Maria Kass, por su gran sensibilidad humana y la confianza depositada en mi para la realización de la maestría.

A mi amigo Dr. Danilo Pezo por su alto espíritu de colaboración, y aporte de ideas y revisión de texto.

A mi amigo M.Sc. Jorge Benavides por su colaboración y apoyo.

A el profesor Germán Sánchez por su ayuda en el presente trabajo.

A Ghisselle Alvarado por su gran amistad y ayuda.

A todos los profesores y personal del Area de Ganadería Tropical del CATIE, que de una u otra manera contribuyeron con mi formación.

A Mohamed por su ayuda en la traducción del texto.

A toda aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron con la preparación de mi tesis de maestría.

Al Gobierno de Holanda por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de posgrado.

Al CATIE por brindarme esta preciosa oportunidad de desarrollarme.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	xi
LISTA DE CUADROS EN EL TEXTO.....	xiii
LISTA DE CUADROS EN EL APENDICE.....	xiv
LISTA DE FIGURAS EN EL TEXTO.....	xvi
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Procesos fermentativos en el ensilaje.....	4
2.1.1 Acción de las enzimas.....	4
2.1.2 Acción de los microorganismos.....	4
2.1.2.1 Bacterias productoras del ácido láctico.....	5
2.1.2.2 Clostridia.....	7
2.1.3 Influencia del oxígeno en el ensilaje.....	10
2.1.4 Influencia del contenido de humedad sobre el ensilaje.....	13
2.1.5 Factores modificadores de la fermentación.....	14
2.1.5.1 Marchitamiento.....	14
2.1.5.2 Aditivos.....	15
2.1.5.2.1 Inhibidores.....	15
2.1.5.2.2 Estimulantes.....	16

2.2	Leguminosas como material a ensilar.....	16
2.2.1	Madero negro (<u>Gliricidia sepium</u>).....	17
2.3	Características de la dinámica fermentativa en los ensilajes tropicales.....	18
3.	MATERIALES Y METODOS.....	20
3.1	Area de estudio.....	20
3.1.1	Localización.....	20
3.1.2	Clima.....	20
3.2	Descripción de la investigación.....	20
3.3	Experimento I.....	21
3.3.1	Manejo del experimento.....	21
3.3.1.1	Microsilos y tratamientos.....	21
3.3.1.2	Plan de muestreo y variables estudiadas.....	22
3.3.1.3	Análisis de laboratorio.....	25
3.3.1.4	Diseño estadístico.....	26
3.4	Experimento II.....	27
3.4.1	Manejo del experimento.....	27
3.4.1.1	Microsilos y tratamiento.....	27
3.4.1.2	VARIABLES EVALUADAS.....	28
3.4.1.3	Análisis estadístico de los datos.....	29
3.5	Experimento III.....	
3.5.1	Manejo del experimento.....	29
3.5.1.1	Ensilaje de madero negro.....	29
3.5.1.2	Prueba de aceptación.....	30
3.5.1.3	Análisis estadístico de los datos.....	31
4.	RESULTADOS.....	32
4.1	Experimento IA.....	32
4.1.1	Ensilajes de madero negro fresco con diferentes niveles de melaza.....	32
4.1.1.1	pH y contenido de materia seca.....	33
4.1.1.2	Proteína cruda y nitrógeno amoniacal.....	36

4.1.1.3	Digestibilidad <u>in vitro</u> de la materia seca.....	39
4.1.1.4	Acidos orgánicos.....	40
4.2	Experimento IB.....	44
4.2.1	Ensilajes de madero negro fresco con diferentes niveles de ácido fórmico.....	45
4.2.1.1	pH y MS.....	45
4.2.1.2	Proteína cruda y NH ₃ /%NT.....	47
4.2.1.3	Digestibilidad <u>in vitro</u> de la materia seca.....	48
4.2.1.4	Acidos orgánicos.....	50
4.3	Experimento IC.....	50
4.3.1	Ensilaje de madero negro sin marchitar, marchitado y marchitado con 6% de melaza..	50
4.3.1.1	Materia seca.....	51
4.3.1.2	pH.....	52
4.3.1.3	Proteína cruda.....	52
4.3.1.4	Digestibilidad <u>in vitro</u> de materia seca (DIVMS).....	53
4.3.1.5	Nitrógeno amoniacal.....	54
4.3.1.6	Acido láctico.....	54
4.3.1.7	Acido Acético.....	55
4.4	Experimento II.....	55
4.4.1	Dinámica de la fermentación del ensilaje de madero negro (<u>Gliricidia sepium</u>) con 8% de melaza.....	55
4.4.1.1	pH y materia seca.....	56
4.4.1.2	Carbohidratos solubles y ácido láctico.....	59
4.4.1.3	Proteína cruda y amoniaco.....	62
4.4.1.4	Acido butírico.....	63
4.4.1.5	Acido acético.....	65
4.4.1.6	Acido propiónico.....	66
4.4.1.7	Digestibilidad in vitro de la materia seca.....	67
4.4.1.8	Constituyentes de pared celular..	69
4.5	Experimento III.....	70
4.5.1	Prueba de aceptación.....	70
5.	CONCLUSIONES.....	74
6.	RECOMENDACIONES.....	76

7.	BIBLIOGRAFIA	77
8.	ANEXOS	84

DE LA FUENTE M., B. 1990. Estudio de aditivos y cinética del ensilaje de madero negro (Gliciridia sepium). Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba, C.R. 97 p.

Palabras claves: Madero negro (Gliciridia sepium), ensilaje, aditivos, melaza, ácido fórmico, marchitamiento, dinámica, prueba aceptabilidad, cabras.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo, el desarrollo de técnicas para la conservación del madero negro como ensilaje.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Nutrición y en la Unidad de Caprinos de la Finca Experimental Ganadera del CATIE.

Constó de tres experimentos; dos de laboratorio y uno de campo. El primer experimento de laboratorio se subdividió en tres partes para evaluar el efecto de diferentes aditivos y el premarchitamiento sobre la calidad del ensilaje de madero negro. Esta subdivisión fue la siguiente: a) Ensilajes de madero negro con diferentes niveles de maleza, b) ensilajes de madero negro con diferentes niveles de ácido fórmico y c) ensilajes de madero negro fresco, ensilajes de madero negro marchitado y ensilajes de madero negro marchitado más 6% de melaza.

El segundo experimento también de laboratorio consistió en evaluar la dinámica de fermentación del madero negro, usándose como aditivo la melaza al 8%. El tercer experimento evaluó la aceptación del ensilaje de madero negro (Gliciridia sepium) por cabras en crecimiento.

Para el primer experimento se utilizó forraje de madero negro con 120 días de rebrote. En el primer ensayo se evaluó el aditivo melaza en los siguientes niveles (0, 2, 4, 6, 8 y 10%); en el segundo ensayo se evaluó el uso del ácido fórmico con los niveles de 0, 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8%. Estos ensayos fueron analizados por regresiones. En el tercer ensayo, se oreó el forraje bajo sombra durante 24 h y se utilizó un diseño irrestricto al azar y la comparación de medias por la Dócima de Duncan. Las variables evaluadas para este experimento fueron: MS, pH, nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total; PC, DIVMS y ácidos grasos volátiles.

El segundo experimento estudio la dinamica de fermentación del madero negro más melaza al 8% como aditivo, evaluándose los siguientes tiempos de fermentación: 0, 4, 7, 11, 14, 21, 28, 42, 70, 98, 126 y 154 días. Las variables evaluadas son las mismas que en el primer experimento más las determinaciones de carbohidratos solubles y pared celular. El análisis estadístico de los datos fué mediante regresiones.

El último experimento consistió en una prueba de aceptación por cabras en crecimiento del madero negro, ensilado en microsilos de 16 kg cada uno durante 110 días, utilizando madero negro proveniente de Guápiles y Turrialba. El análisis estadístico consistió en regresiones lineales del alimento aceptado por cada animal a través del tiempo, para el ensilaje de cada localidad; y regresiones para cada animal con el total del ensilaje consumido para cada localidad. Con esto se obtuvieron los coeficientes B, comparándolos con una prueba de "T".

Los resultados indican que la adición de melaza favorece la conservación del madero negro (Gliciridia sepium) como ensilaje. El porcentaje de materia seca, DIVMS y el ácido láctico aumentan mientras que el pH y el contenido de N-NH₃ como por ciento del nitrógeno total disminuyen con los incrementos en los niveles de melaza. Respecto al conservante del ácido fórmico las tendencias en los parámetros estudiados fueron similares a los tratamientos con melaza, excepto la proteína cruda y la producción de ácido láctico, que se conserva parecido al material original, produciendo un ensilaje con valores más cercanos al material original ensilado de madero negro. En cuanto al marchitamiento, este mejora la calidad del material ensilado con y sin la adición de melaza.

En el estudio de dinámica se observó que la estabilización del ensilaje no ocurrió completamente a los 154 días de estudio. Pero, los cambios ocurridos después de los 90-110 días son muy pequeños, lo que indica que el ensilaje se conserva bien a través del tiempo.

La aceptabilidad del ensilaje de madero negro con 8% de melaza fué satisfactoria por las cabras en crecimiento, siendo más alto para el ensilaje de madero negro proveniente de Turrialba.

DE LA FUENTE M., B. Study of additives and kinetics of fermentation on silage made from Gliricidia sepium. Thesis Mag. Sc., CATIE, Turrialba, C.R. 97 p.

Key words: Gliricidia sepium, silage, additives molasses, formic acid, wilting, dynamics, acceptability, goats.

SUMMARY

The main objective of this study was to develop techniques for conservation of silage made from Gliricidia sepium. The work was realized in the nutrition laboratory, and the livestock experimental station of CATIE.

In this study, three experiments were conducted, in which two was realized in the laboratory and the other in the farm. The first experiment was divided into three parts in order to evaluate the effect of different additives and wilting on the quality of silage made from Gliricidia sepium. The subdivisions were: a) silage of Gliricidia sepium with different molasses levels, b) silage of Gliricidia sepium with different formic acid levels and c) fresh, wilted and wilted silage of Gliricidia sepium with 6% molasses.

The second experiment was carried out to evaluate fermentation dynamics on silage of Gliricidia sepium, using molasses as an additive at 8%. Finally, a third experiment was studied to evaluate the degree of acceptability of silage made from Gliricidia sepium, with young goats.

In the first experiment fodder from Gliricidia trees cut at 120 days of regrowth was used to evaluate as an additive, different molasses levels (0, 2, 4, 6, 8 10%), and the results were processed through regression analysis. The levels of formic acid utilized in the second experiment was: 0, 0, 2, 0, 4, 0, 6 and 8%. Regression analysis was carried out to determine the level of significance of these treatments. In the third stage, the fodder was wilted under shade for a period of 24 hours, using a completely randomised design. The results were interpreted through Duncan comparisons. The variables evaluated for this experiment were: Dry matter, pH, ammonia nitrogen as a % g total N, CP, IVOMD, volatile fatty acids

The second experiment was conducted to determine fermentation dynamics of treated Gliricidia sepium with 8% of molasses as an additive, and the following fermentation time was evaluated: 0, 4, 7, 11, 14, 21, 28, 42, 70, 98, 126 and 154 days. The variables studied were the same as that studied in the first experiment, in addition to the determination of soluble carbohydrates and cell wall fractions. The data was also analyzed through regression analysis.

The third experiment consisted of a trial to determine the level of acceptability of Gliricidia sepium, ensilage during 110 days, utilizing 37 microsilos each weighing 16 kg of fodder taken from trees in Guapiles and Turrialba, separately. The statistical analysis used for this experiment consisted of a lineal regression of feed accepted by each animal with time for the silage made from fodder harvested from each locality, and regression for each animal for total intake of silage per each locality. Further a t test was carried out to compare the coefficients B.

The most important results indicated that the additives of molasses favoured the conservation of Gliricidia sepium as silage. The percentage of DM, IVDMD and latic acid increased while that of pH and the content of N-NH₃ expressed as a percent of total nitrogen, decreased as the level of molasses increased. It should be mentioned that similar tendencies were observed when the fodder was treated with formic acid, with the exception of crude protein and latic acid content, which was similar to the observed values of the green material. The effect of wilting improved the quality of silage, both with and without the addition of molasses.

In the study with fermentation dynamics, it was observed that stabilization of the silage was not completed at 154 days of the study. However, the observed changes at 90-110 days, were very small, which is a clear indication that good conservation can be practiced with this tree legume.

The level of acceptability of this silage with 8% molasses was also satisfactory, and it tended to be higher for silage made from trees cut in Turrialba.

LISTA DE CUADROS

En el texto

Cuadro No.		Página
1	Composición química del forraje de Madero Negro (<u>Gliricidia sepium</u>) ensilado con diferentes niveles de melaza, después de 42 días de prueba.....	32
2	Composición química del forraje ensilado de Madero Negro (<u>Gliricidia sepium</u>) con diferentes niveles de ácido fórmico después de 42 días de prueba.....	44
3	La composición química del forraje ensilado con los diferentes tratamientos después de 42 días de prueba.....	51
4	Composición química del ensilaje de Madero Negro (<u>Gliricidia sepium</u>) proveniente de Guápiles y Turrialba.....	71
5	Consumo de ensilaje (g) de madero negro /día/animal/localidad.....	72

LISTA DE CUADROS

En el apéndice

Cuadro No.		Página
IA	Bases para clasificación del ensilaje (sin marchitar).....	85
2A	Valores medios y su significancia estadística para las diferentes variables con diferentes niveles de melaza....	85
3A	Valores medios y su significancia estadística para las diferentes variables en ensilajes de forraje fresco, forraje marchitado y forraje marchitado más 6% de melaza.....	88
4A	Valores observados y esperados de las variables de pH y M5 de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.....	88
5A	Valores observados y esperados de las variables de PC y N-H3 de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.....	89
6A	Valores observados y esperados de las variables de digestibilidad <u>in vitro</u> de la M5 en los ensilajes con diferentes niveles de melaza.....	89
7A	Valores observados y esperados en las variables de ácido láctico de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.....	90
8A	Valores observados y esperados en las variables de pH y M5 de los ensilajes de madero negro en diferentes niveles de ácido fórmico.....	90
9A	Valores observados y esperados en la variable de N-NH3 de los ensilajes de madero negro con diferentes niveles de ácido fórmico.....	91
10A	Valores observados de proteína cruda en el ensilaje de madero negro para los diferentes niveles de ácido fórmico (%).....	91

11A	Valores observados y esperados de digestibilidad <u>in vitro</u> de la MS en los ensilajes de madero negro para los diferentes niveles de ácido fórmico.....	92
12A	Valores observados en las variables de ácido láctico y ácido acético de los ensilajes de madero negro con los diferentes niveles de ácido fórmico.....	92
13A	Valores observados y esperados en las variables de MS y pH en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.....	93
14A	Valores observados y esperados de las variables de carbohidratos y ácido láctico en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo....	93
15A	Valores observados y esperados en la variable proteína cruda y nitrógeno amoniacal en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza en relación a el tiempo.....	94
16A	Valores observados y esperados de la variable ácido butírico del ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.....	94
17A	Valores observados y esperados de la variable del ácido acético en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.....	95
18A	Valores observados y esperados de la variable de ácido propiónico en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.....	95
19A	Valores observados y esperados de digestibilidad <u>in vitro</u> y de pared celular en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo....	96
20A	Coefficientes/animal/localidad (Guápiles y Turrialba).....	96
21A	Promedio de aceptación de alimento/animal.....	97
22A	Promedio de aceptación del alimento/9 cabras/día.....	97

LISTA DE FIGURAS

En el texto

No.		<u>Página</u>
1	Procedimientos seguidos en la preparación de muestras para análisis de laboratorio.....	23
2	Efecto del nivel de melaza sobre los valores de pH y materia seca de los ensilajes.....	36
3	Efecto del nivel de melaza sobre los valores de proteína cruda y nitrógeno amoniacal del ensilaje.....	38
4	Efecto del nivel de melaza sobre los valores de digestibilidad <u>in vitro</u> de la materia seca en ensilajes de madero negro.....	40
5	Efecto del nivel de melaza sobre los valores de ácido láctico en ensilaje de madero negro	41
6	Efecto del nivel de ácido fórmico sobre los valores de pH y % de materia seca de los ensilajes.....	46
7	Efecto del nivel de ácido fórmico sobre los valores de N-NH ₃ (%).....	48
8	Efecto de los niveles de ácido fórmico sobre los valores de digestibilidad de los ensilajes de madero negro.....	49
9	Cambio de la materia seca y el pH del ensilaje de madero negro con 8% de maleza en función del tiempo.....	58
10	Cambio en el ácido láctico y carbohidratos solubles del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo.....	60
11	Cambio en los contenidos de proteína cruda y nitrógeno amoniacal del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en el tiempo.....	62
12	Cambio en los contenidos de ácido butírico y proteína cruda del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo..	64

13	Cambios en el ácido acético y ácido láctico del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo.....	66
14	Cambios en el ácido propiónico del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo.....	67
15	Cambio en la digestibilidad del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo.....	68
16	Cambio en la pared celular del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo.....	69

1. INTRODUCCION

Una de las principales limitantes de la producción ganadera en muchas regiones del trópico, es la disminución de la disponibilidad y calidad de los forrajes en los periodos de sequia. Por otro lado, los requerimientos casi constantes del hato durante todo el año hace necesario la suplementación en la época de escasez. La conservación como ensilaje del exceso de forraje producido en los meses lluviosos es una alternativa para suplir este déficit.

El proceso de ensilado, tiene como objetivo el conservar el forraje con pérdidas de nutrientes mínimas a través de un proceso fermentativo, el cual supone la exclusión del oxígeno y la reducción del pH del medio, a través de la fermentación láctica de los carbohidratos solubles. La disminución rápida del pH inhibe la fermentación o el desarrollo de los clostridios y la hidrólisis de las proteínas por las enzimas del forraje. En los países de clima templado es de uso común la práctica de ensilar forrajes, pero las técnicas utilizadas en estos ambientes no son siempre apropiadas para ensilar los forrajes tropicales, resultando en ensilajes con fermentaciones inadecuadas y de bajo valor nutritivo.

debido a las características intrínsecas de estos forrajes y del medio ambiente.

Las leguminosas son consideradas como un alimento importante para los rumiantes, debido a su alto contenido de nitrógeno; sin embargo, su conservación como ensilajes presenta problemas debido a su alta capacidad tampón ("buffer"), bajo contenido de carbohidratos solubles, y bajo contenido de materia seca. Afortunadamente, estas desventajas pueden ser superadas por técnicas sencillas de manejo, como son; el uso de aditivos y el premarchitamiento del forraje que se va a ensilar.

El madero negro (Gliricidia sepium) es un árbol leguminoso de rápido crecimiento y amplia distribución en los trópicos; su follaje ha sido utilizado como forraje en diversos sistemas de producción animal en el trópico, pero su conservación como ensilaje ha sido poco estudiada. El madero negro presenta un buen potencial de biomasa comestible en el invierno, pero pierde las hojas en el periodo seco, por lo que la conservación podría jugar un papel importante en la utilización más eficiente este recurso.

El objetivo general de este trabajo es el desarrollo de técnicas para la conservación del madero negro como ensilaje, teniendo como objetivos específicos:

a) Evaluar el efecto de aditivos y tratamientos previos del material a ensilar sobre la calidad del producto ensilado de madero negro.

b) Estudiar la dinámica de fermentación en ensilajes de madero negro.

c) Evaluar la aceptabilidad del ensilaje por cabras en crecimiento.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Procesos fermentativos en el ensilaje

2.1.1 Acción de las enzimas

La población microbial presente en un forraje recién cosechado usualmente es muy baja, por lo que los cambios bioquímicos que ocurren en el forraje inmediatamente después de cortado, y durante las primeras etapas del ensilaje proceden principalmente de la actividad de enzimas propias de las plantas. Estas enzimas son responsables particularmente de la respiración y la proteólisis.

En las plantas vivas, el proceso de la respiración celular es el responsable de la oxidación controlada de los sustratos respectivos, principalmente los azúcares de seis carbonos. Las reacciones que ocurren en el proceso de respiración pueden agruparse en tres fases principales; a) Glicólisis con la producción de piruvato. b) Oxidación del piruvato para formar Acetil CoA y CO_2 y c) Oxidación de Acetil CoA vía el ciclo de Krebs para producir CO_2 y H_2O . En todas ellas hay liberación de energía bajo la formación de ATP y NADH, la cual se utiliza para otros procesos anabólicos de la planta. En las plantas cosechadas, las reacciones biosintéticas están limitadas y se supone que

virtualmente toda la energía liberada en la oxidación de la glucosa se convierte en calor. En las plantas cortadas y mantenidas en el campo este calor se dispersa en la atmósfera; pero en un silo, el calor generado es retenido en la masa del forraje, causando un aumento en la temperatura. La respiración de la planta continúa mientras las condiciones en el silo son favorables, o sea cuando hay oxígeno y sustrato disponibles (McDonald, 1981).

2.1.2 Acción de los microorganismos fermentativos.

2.1.2.1 Bacterias productoras del ácido láctico.

Las bacterias productoras del ácido láctico son los organismos comúnmente asociados a ensilajes y son microaerófilos, gram-positivos, no esporulan, facultativos anaeróbicos, fermentan azúcares y tienen al ácido láctico como el producto principal de la fermentación. La temperatura óptima para las bacterias productoras del ácido láctico es alrededor de los 30°C, presentando requerimientos nutritivos complejos de aminoácidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales minerales, ácidos grasos y carbohidratos fermentables (McDonald, 1981). La tasa de producción de ácido láctico es un factor importante para inhibir los clostridios y para reducir las pérdidas de la fermentación. El ácido láctico aumenta la

concentración del ion hidrógeno a un nivel que el desarrollo clostridial es inhibido. Esta inhibición es también causada por los mismos ácidos sin disociar (McDonald y Whittenbury 1973). Es difícil tener un valor de pH crítico para el ensilaje al cual ocurre tal inhibición, pues éste es dependiente del pH, contenido de humedad y temperatura en el medio.

La tasa de las bacterias productoras del ácido láctico depende de la población inicial de bacterias productoras del ácido láctico presentes en el forraje ensilado y de la cantidad de sustrato disponible; además está influenciado por el grado de daño físico que sufre el forraje durante la cosecha (magullamiento, laceración y troceado). Henderón et al. (1972) estudiaron los cambios microbiológicos que ocurren durante la cosecha y su posterior fermentación, encontrando que inmediatamente después de cosechar el forraje, las bacterias formadoras del ácido láctico aumentaban cuatro veces, llegando hasta 366 especies de bacterias siendo inicialmente 100 especies las bacterias del ácido láctico, indicando que la cosechadora es una fuente excelente de contaminación con esos microorganismos

Estos autores también observaron que después de 24 hr de marchitamiento, la población de bacterias había aumentado hasta cerca de $1,7 \times 10^4$ en el forraje, 7 hr más

tarde la cantidad era de $7,2 \times 10^5$, y después de 4 días en el silo, las bacterias del ácido láctico habían alcanzado su máximo, cerca de $8,5 \times 10^8$, siendo éste el tiempo en que ellos dominan la fermentación. Aparte de estas cosechadoras, otras herramientas son fuente de estas bacterias como son las segadoras, tractores, trinchos. Por otro lado, la tasa de crecimiento y densidad de la población de las bacterias productoras de ácido láctico varían con el forraje y la temperatura.

Como se había mencionado, la forma más común de inhibir el crecimiento clostridial es promover la fermentación láctica que está presente normalmente al cosechar los forrajes. Estos organismos fermentan los azúcares (principalmente glucosa y fructosa) en los forrajes a una mezcla de ácidos, principalmente láctico.

2.1.2.2 Clostridios

Las bacterias del grupo de los clostridios son particularmente sensibles a la disponibilidad de agua, requiriendo condiciones muy húmedas para su desarrollo activo

Buchanan et al (1974), mencionados por McDonald (1981), definen a los clostridios como bacterias gram-positivas que esporulan y que usualmente están en movimiento; poseen forma de bastón, crecen bajo condiciones anaeróbicas y son capaces de fermentar azúcares, ácidos orgánicos y proteínas.

El crecimiento de los clostridios en el ensilaje es indeseable, debido a que actúan sobre el ácido láctico, utilizándolo como fuente de energía; transformándolo en ácido butírico, CO₂ e hidrógeno, y además reducen el valor nutritivo del producto por el catabolismo de aminoácidos.

Dos factores evitan el crecimiento de clostridios, uno es el mantener condiciones de alta acidez (pH 4,1), dado que su pH óptimo para crecimiento es 7,0-7,4 y el otro es el reducir el contenido de humedad del forraje ensilado (marchitamiento) hasta menos del 70%, pues estas bacterias necesitan condiciones húmedas para crecer (McDonald, 1981).

Otro factor importante en este proceso es la capacidad buffer del forraje, pues en forrajes que tengan mayor capacidad "buffer" se necesitará una mayor cantidad de ácido láctico para alcanzar el nivel crítico de pH para la inhibición de los clostridios. En este sentido, las

leguminosas tienen doble desventaja, pues tienen una capacidad "buffer" alta y poseen un contenido de carbohidratos bajo, por lo que los clostridios tienden a dominar la fermentación del forraje, a menos que éste haya sido marchitado o ensilado con los aditivos adecuados (McDonald y Whittenbury, 1973).

La temperatura en el silo también tiene una influencia marcada sobre el crecimiento de los clostridios, siendo la temperatura óptima para su desarrollo de 37°C. Altas temperaturas también favorecen oxidaciones excesivas de azúcares, reduciendo el sustrato para el crecimiento de las bacterias productoras del ácido láctico. Consecuentemente, las temperaturas altas y el agotamiento de azúcares favorecen el crecimiento clostridial (McDonald, 1981).

Los azúcares y el ácido láctico son utilizados por los clostridios como una fuente de energía, por lo que ensilajes en los cuales los clostridios están presentes se encuentra poco o nada de ácido láctico o de azúcares. En cambio, el ácido butírico es el principal ácido orgánico que se detecta, pero también se encuentran presentes grandes cantidades de ácido acético (McDonald, 1981).

La proteólisis o fermentación de aminoácidos se da principalmente por tres rutas:

- a) Deaminación, en la cual el amonio es liberado dejando residuos de ácidos orgánicos. Ejemplo: la glutamina ---> en ácido glutámico + NH_3 .
- b) Decarboxilación que conduce a la formación de una amina. Ejemplo: lisina ---> cadaverina + CO_2 .
- c) Oxidación-Reducción, donde un aminoácido es oxidado y otro es reducido. Los aminoácidos oxidados son convertidos a ácidos grasos con un carbono menos que el compuesto original. Ejemplo: alanina + $2\text{H}_2\text{O}$ ---> ácido acético + NH_3 + CO_2 . Los aminoácidos reducidos forman ácidos grasos con el mismo número de carbonos del aminoácido original. Ejemplo: glicina ---> ácido acético + NH_3 y CO_2 . En los dos casos el amonio es liberado, por lo que su concentración en el ensilaje es un indicador del grado de actividad proteolítica clostridial

2.1.3 Influencia del Oxígeno en el Ensilaje

Sólo bajo condiciones anaeróbicas en que las bacterias productoras de ácido láctico dominan la fermentación se producen ensilajes de buena calidad. Lo ideal es que un forraje sea cosechado e inmediatamente ensilado en un medio ambiente compacto. Esta práctica es

muy difícil, debido a que la mayoría de los forrajes contienen mucha humedad y tienen que ser marchitados antes de ensilar. Además, la mayoría de los silos de las fincas son muy grandes, por lo que ellos no pueden ser llenados en un día.

Por lo tanto, en el proceso de ensilar se reconocen cuatro fases, en las cuales se dan pérdidas de nutrientes del forraje ensilado, las mismas que se describen a continuación.

a. Fase de campo: En esta fase, los principales nutrientes afectados por la presencia de oxígeno son los carbohidratos solubles. Estas pérdidas por respiración son generalmente pequeñas y ocurren en las primeras 48 hr de cortado el forraje. Por ejemplo, la sacarosa es catabolizada a CO_2 , las fructosas disminuyen y algunas hemicelulosas son hidrolizadas.

Durante el marchitamiento ocurren cambios en la población microbial del forraje. La población de bacterias productoras de ácido láctico en el forraje es usualmente pequeña, pero son anaeróbicas facultativas pudiendo crecer en la presencia de oxígeno, y multiplicándose dramáticamente si el forraje ha sido dañado y la savia de la planta liberada (McDonald, 1981)

Henderson et al. (1972) indican que también hay aumento en la población de levaduras durante el marchitamiento y esto tiene un efecto adverso en la estabilidad del ensilaje .

b. Fase aeróbica inicial en el silo: En esta fase, el oxígeno atmosférico atrapado en el silo es usado rápidamente por el sistema respiratorio de la planta, por lo que la cantidad de carbohidratos solubles metabolizados es insignificante (Henderson et al., 1972).

Greenhill (1964), indica que el deterioro de las células de las plantas y la liberación del contenido celular por plasmólisis es un requisito para el desarrollo de las bacterias productoras de ácido láctico, pero que si ocurre infiltración de aire, aun en pequeñas cantidades, esta plasmólisis se retrasa, evitando la disminución del pH, y aumentando la tasa de respiración. Este problema parece ser más frecuente en leguminosas. De igual manera, si se retrasa el sellado del silo hay una reducción en la producción de ácido láctico, lo que determina que domine la fermentación clóstridial (Henderson y Mc Donald, 1975).

c. Fase de infiltración del aire: Si ocurre infiltración de aire después de ensilar se produce una marcada influencia en la composición del producto final y en la pérdida de nutrientes.

d. Fase de daño aeróbico secundario: El daño aeróbico secundario ocurre cuando el silo es abierto para alimentar animales. En tal caso el medio ambiente anaeróbico es cambiado a aeróbico, lo cual hace que los microorganismos que permanecieron inactivos en ausencia de oxígeno se multipliquen, deteriorando el ensilaje (McDonald, 1981).

2.1.4 Influencia del contenido de humedad sobre el ensilaje

El contenido de humedad del material que se ensila influye marcadamente sobre la calidad del ensilaje.

Altos niveles de humedad promueven el desarrollo de clostridos y pérdidas de nutrientes por efluentes. Además, con forrajes más húmedos los volúmenes a ser transportados son mayores (McDonald, 1981)

2.1.5. Factores modificadores de la fermentación.

2.1.5.1 Marchitamiento

La reducción de humedad en el material a ensilar, resulta en una disminución en el volumen del forraje, facilitando el trabajo. Además se reduce la actividad en el ambiente fermentativo evitando pérdidas por efluentes. Así mismo, el marchitamiento incrementa la concentración de azúcares, produciendo ensilajes con pH más elevado y reduciéndose el porcentaje de ácido butírico (Catchpoole y Henzell, 1971). Por otro lado, el marchitamiento requiere una mayor operación de campo, y necesita de buenas condiciones climáticas. McDonald, et al, (1968) reportan las mismas condiciones para la zona templada, Wilkinson, (1983) consideran que una menor y mejor calidad de las fermentaciones en los ensilajes presecados producen una mejora en el consumo.

En años pasados se probó exitosamente el ensilaje de forrajes tropicales marchitados. En Zambia, se marchitó Chloris gayana por 3 hr para alcanzar un contenido de 26-27% de materia seca previo al ensilado, lo cual llevó a ensilajes con niveles bajos de ácido butírico (0,2 y 0,5% en base seca) en el ensilaje. Con base a estos datos pareciera que el marchitamiento es más efectivo que la

adición de melaza para producir ensilajes de buena calidad (Davies, 1963)

2.1.5.2 Aditivos

La composición y calidad nutritiva de los ensilajes puede ser alterada considerablemente por la adición de varios materiales al momento de ensilar. Los aditivos pueden tener dos propósitos fundamentales: a) inhibir el crecimiento bacterial, reduciendo así la descomposición anaeróbica en el silo; b) estimular la fermentación natural, lo cual a la larga tiene también un efecto inhibitor del desarrollo bacterial (Pezo, 1981).

2.1.5.2.1 Inhibidores.

En el grupo de inhibidores se incluyen todas las sustancias químicas capaces de disminuir artificialmente el pH de la masa ensilada. Estos aditivos se agrupan en ácidos inorgánicos o minerales, como el ácido clorhídrico, ácido sulfurico, ácido fosfórico etc., y en ácidos orgánicos, como son el ácido láctico, fórmico, acético, etc. Van Soest (1982) indica que el uso de estos ácidos orgánicos se ha visto limitado por la producción comercial, disponibilidad y costo de los mismos.

2.1.5.2.2 Estimulantes

La melaza es el estimulante más comunmente usado para asegurar la predominancia de las bacterias formadoras del ácido láctico (McDonald, 1981). La melaza es una fuente de carbohidratos fácilmente fermentables, lo cual ayuda a la fermentación láctica, además de que aumenta el contenido de materia seca en el material ensilado, estabilizando así la fermentación (Van Soest, 1982).

2.2 Leguminosas como material a ensilar

Las leguminosas han sido consideradas como un grupo importante de forrajes, por sus propiedades de fijación de nitrógeno y su alto contenido de proteínas. En términos generales, las leguminosas han sido consideradas inadecuadas para ensilar, debido a que su fermentación es dominada generalmente por la acción de bacterias del género Clostridium, lo que conduce a una mayor producción de ácido butírico. Lo anterior ha sido atribuido a tres factores: La alta capacidad "buffer" de este tipo de forraje, su tendencia a poseer bajos contenidos de carbohidratos solubles y de materia seca (Mc Donald, 1981).

2.2.1 Madero Negro (Gliricidia sepium)

Es una leguminosa arbórea de rápido crecimiento, bien distribuida en el trópico, la cual ha sido investigada ampliamente en términos de su utilización como leña y para hacer carbón vegetal (Falvey, 1982), como sombra en plantaciones de cultivos perennes y como mejorador del suelo (Chadhokar, 1982), como postes y cercas vivas (Falvey y Andrews, 1981), como forraje para el ganado (Chadhokar 1982), etc. En cambio se ha investigado poco lo referente a su conservación como ensilaje (Ortegas 1956; Swain et al, 1971).

En el caso particular del ensilaje de madero negro se ha visto que el uso de aditivos como melaza, ácido fórmico o marchitamiento previo al momento de ensilar hace posible lograr ensilajes de alta calidad (Kass y Rodríguez, 1987).

En cuanto a potencial de producción de biomasa forrajera, se ha comprobado que la edad de la planta, la estación y la frecuencia de recolección influyen en el rendimiento del madero negro. Chadhokar (1982) indica que un corte frecuente en los primeros años de crecimiento puede influir el rendimiento de los años posteriores y recomienda que durante los dos o tres primeros años se recoja el follaje sólo una o dos veces al año; para luego podar los

árboles una vez cada tres meses, puesto que el rendimiento del follaje aumenta a medida que es mayor el número de cortes, hasta un máximo de cuatro al año.

En cuanto a la calidad de las proteínas foliares del madero negro, Sentheshanmugarathan y Durant (1969), citados por Smith y van Houtert (1987), señalan que, todos los aminoácidos esenciales, excepto los azufrados, están presentes en concentraciones comparables a las encontradas en la leche, harina de soya, semillas de sésamo y maní.

2.3 Características de la dinámica fermentativa en los ensilajes tropicales.

Catchpoole y Williams (1969), realizaron estudios sobre la dinámica de fermentación en 28 ensilajes en los trópicos, estableciendo seis categorías de ensilajes, de acuerdo a los patrones fermentativos observados, a saber:

- a) Ensilajes de transición
- b) Ensilajes con altos contenidos de ácido láctico y buena estabilidad
- c) Ensilajes excelentes con mayor contenido de ácido láctico, bajo pH y buena estabilidad
- d) Ensilajes con alto contenido de ácido butírico e inestables
- e y f) Ensilajes con altos contenidos de ácido acético.

En el mismo estudio se observó que 4% de los ensilajes iniciaron su fermentación con

características acéticas a los cinco días de ensilado, presentando los demás fermentaciones lácticas o de transición. A los 10 días el 46% de los ensilajes eran de tipo acéticos, 4% de tipo butírico, 11% tenían un patrón de fermentación no definida, 21% de los ensilajes eran del tipo C, y el 18% restante eran ensilajes con alto contenido de ácido láctico. A partir de los 20 días de iniciado el proceso fermentativo, el porcentaje de ensilajes con fermentación acética aumenta en detrimento de los ensilajes con fermentación láctica y de transición. Este patrón fermentativo se mantuvo, para finalmente a los 200 días de conservación presentaron el 72% del tipo acético, 14% con tipo láctico y 14% con predominio de ácido butírico.

En una revisión bibliográfica realizada por Wernli y Ojeda, (1988) para ensilajes de climas templados y tropicales, se concluye que la estabilización se alcanza generalmente entre los 40 y 60 días de iniciado el proceso fermentativo. Si no se consigue una hermetización completa de la masa ensilada, puede darse lugar a una degradación constante de los nutrientes, la que será acelerada con la entrada de aire o la exposición a condiciones meteorológicas adversas a la masa ensilada.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Area de estudio

3.1.1 Localización

El presente estudio fué realizado en el Laboratorio de Nutrición y en la Unidad de Caprinos de la Finca Experimental Ganadera del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). El CATIE está ubicado en Turrialba, Costa Rica a 9°53' de latitud norte y 83°38' de longitud oeste, a una elevación de 602 msnm.

3.1.2 Clima

El clima de la región según el sistema de clasificación de Köppen es Afa (selva tropical con verano caluroso) y comprendido en la zona de vida denominada "bosque muy húmedo premontano" (Holdridge, 1978). El promedio anual de precipitación es de 2640 mm y el de temperatura de 22,4°C, estas medias corresponden a 39 y 24 años de datos registrados respectivamente (CATIE, 1987).

3.2 Descripción de la Investigación.

En total se realizaron tres experimentos; dos de laboratorio y uno de campo. El experimento 1 consistió de tres ensayos donde se evaluó el efecto del uso de diferentes aditivos y el premarchitamiento sobre la calidad

del ensilaje de madero negro. El experimento II, consistió en evaluar la dinámica de fermentación del ensilaje de madero negro, usándose como aditivo la melaza al 8% (peso/peso). El experimento III consistió en la evaluación de la aceptación del ensilaje de madero negro (Gliricidia sepium) por cabras en crecimiento.

3.3 Experimento I

3.3.1 Manejo del experimento

3.3.1.1 Microsilos y tratamientos

El forraje de madero negro se cortó a una edad de rebrote de aproximadamente 120 días, en árboles localizados en cercos vivos de la Finca Experimental del Area de Ganadería Tropical del CATIE.

Para los tratamientos con marchitamiento, el forraje se oreó 24 h bajo sombra, hasta que el contenido de materia seca del forraje alcanzó un nivel promedio de 70%. El forraje se picó en una picadora fija, se tomó una muestra de aproximadamente 700 g en base fresca, se adicionó la melaza o el ácido fórmico, se colocó en frascos de vidrio de boca ancha compactándose manualmente y cerrándose los frascos herméticamente, en el centro de la tapa se colocó una válvula de salida de gases tipo Bunsen. Se parafinaron

los bordes para evitar la entrada de aire hasta su apertura después de 42 días.

Los tratamientos fueron los siguientes:

Ensayo A: Madero negro fresco, madero negro fresco más 10% de melaza (p/p), madero negro fresco más 8% de melaza (p/p), madero negro fresco más 6% de melaza (p/p), madero negro fresco más 4% de melaza (p/p), Madero negro fresco más 2% de melaza (p/p).

Ensayo B: Madero negro fresco, madero negro fresco más 0,2% de ácido fórmico, madero negro fresco más 0,4% de ácido fórmico, madero negro fresco más 0,6% de ácido fórmico y madero negro fresco más 0,8% de ácido fórmico

Ensayo C: Madero negro fresco, Madero negro marchitado y madero negro marchitado más 6% de melaza.

3.3.1.2 Plan de muestreo y variables estudiadas

El material extraído de los microsilos fue homogenizado, para luego tomar dos submuestras, una para análisis en el jugo, y otra para análisis que requería muestra seca (Figura 1)

Micrositos

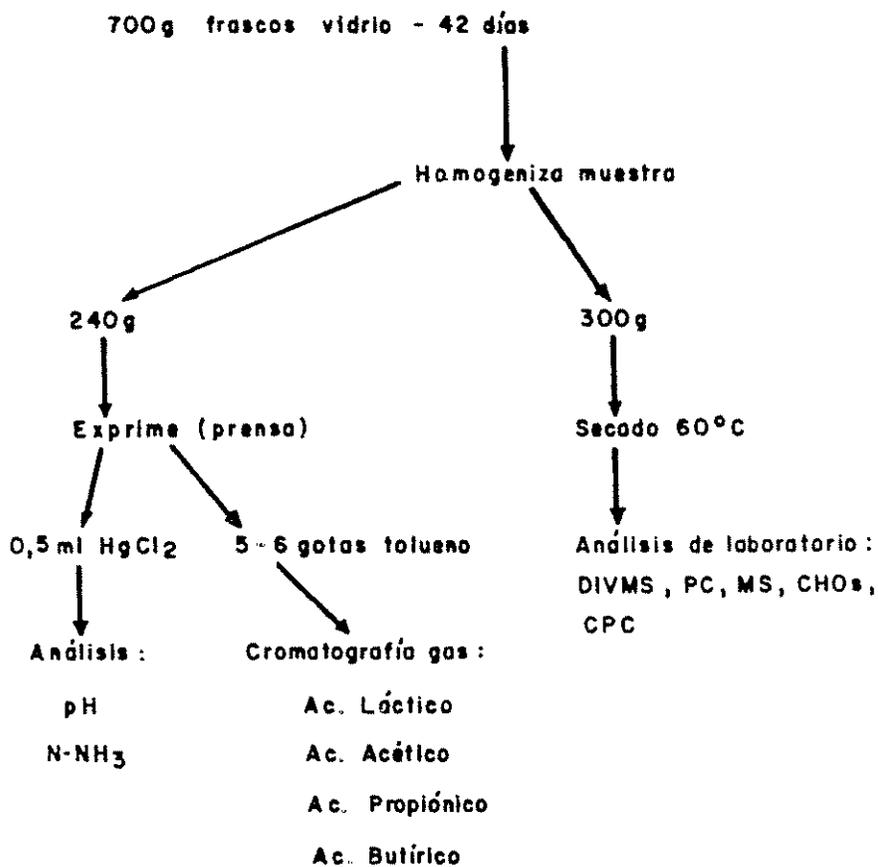


Fig. 1 Procedimientos seguidos en la preparación de muestras para análisis de laboratorio

Para la obtención de jugo de ensilaje se tomó aproximadamente 240 g de ensilaje fresco, el cual se sometió a extracción con prensa, obteniéndose aproximadamente 100 cc de jugo, los cuales se colocaron posteriormente en dos balones volumétricos de 50 cc cada uno, para análisis posteriores. A uno de los balones se le añadió 0,5 ml de HgCl_2 al 0,25% para inhibir la fermentación. El jugo de ese balon se utilizó para la determinación de pH y nitrógeno amoniacal (N-NH_3). Al otro balon volumétrico se le agregó 5 gotas de tolueno para prevenir fermentación. El jugo contenido en dicho balon se utilizó para las determinaciones de ácidos láctico, acético, propiónico y butírico. Todas estas muestras líquidas se conservaron en congelamiento hasta su análisis.

En aproximadamente 350 g de la muestra fresca de material ensilado se determinó la materia seca (MS), mediante el uso de una estufa de aire forzado, secándose a 60°C hasta que alcanzó peso constante. Una vez seca la muestra, esta se molió a un tamaño de partícula de 1 mm usando un molino Willey, se homogenizó y se guardó en frascos de vidrio en un cuarto con humedad controlada, para su posterior análisis de materia seca, proteína cruda y digestibilidad in vitro (Figura 1).

3.3.1.3 Análisis de laboratorio

pH. El pH fué determinado por la lectura directa de un potenciómetro con electrodo de vidrio (Fisher Accument Model 325 pH meter).

Nitrógeno amoniacal (N-NH₃). Se determinó a través del método de destilación del micro-kjeldahl, utilizando una muestra de 5 a 10 ml. La muestra fué alcalinizada con hidróxido de sodio y destilada por arrastre de vapor, el cual fué recogido en una solución de ácido bórico con indicadores (rojo de metilo y azul de metileno). Seguidamente el destilado fué valorado con una solución estandarizada de ácido sulfúrico. Los mililitros de ácido gastados al momento de titular la muestra fueron relacionados con la cantidad de amoniaco presente en la muestra. Posteriormente, se calculó el porcentaje de amoniaco en relación al nitrógeno total.

Proteína cruda (PC). El nitrógeno se determinó por el procedimiento de micro-kjeldahl (AOAC, 1984), y posteriormente se calculó el porcentaje de proteína cruda como %N x 6,25)

Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS). La DIVMS fué determinada por el método Tilley y Terry

modificado (Kass y Rodriguez, 1985). El método consiste en dos etapas: digestión de 48 h con licor ruminal seguido por otra digestión de 24 h con pepsina (pH 2).

Determinación de los ácidos grasos volátiles

Se utilizó un cromatógrafo de gas CARLE modelo 111, con las siguientes condiciones de operación: detector de conductividad térmica (CD), columna OV-101 doble (12 pies), temperatura de 75°C y flujo de 10 ml/mto de H₂.

Para determinar los ácidos orgánicos se utilizó el método de estándar externo, empleando para ello patrones de los correspondientes ácidos a ésteres metílicos.

3.3.1.4 Diseño estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante regresiones, tomando como variables independientes los niveles de melaza o de ácido fórmico, dependiendo de la variable bajo estudio considerada. Se probaron 14 modelos de regresión lineal o linealizables, las cuales se encuentran contenidas en el paquete estadístico de Palmer, disponible en el Centro de Cómputo del CATIE. Se eligió

aquellos que presentaron un mejor ajuste (r^2 alto), que los coeficientes de regresión fueran significativamente diferentes de cero ($\beta_i = 0$) para cada variable y que los modelos seleccionados tuvieran un mejor sentido biológico.

Dicho paquete contiene los siguientes modelos:

$$Y = a+bX, Y = a+bX+cX^2, Y = a+bX+cX^2+dX^3, Y = 1/a+bX, \\ Y = 1/a+bX+cX^2, X/Y = a+bX, X^2/Y = a+bX+cX^2, 1/Y = a+bX, \\ \text{Ln}Y = a+b, \text{Log} Y = a+bX, \text{Log} Y = a+b\log X, Y = a+b\log X, \\ \text{Ln}Y = 1/a+bX, \text{Ln}y = 1/4+a+bX$$

Para observar el efecto del premarchitamiento (Ensayo C), se realizaron análisis de varianza para un diseño irrestricto al azar, con tres repeticiones por tratamiento. La comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Duncan (Steel & Torrie, 1960).

3.4 Experimento II

3.4.1 Manejo del experimento

3.4.1.1 Microsilos y tratamiento

Los procedimientos para la preparación de los microsilos son los mismos descritos en la sección 3.3.1.1. Al mejor tratamiento del Ensayo A (Ojeda, 1985), se le estudió la dinámica de fermentación, mediante evaluaciones efectuadas a: 0, 4, 7, 11, 14, 21, 28, 42, 70, 98, 126 y 154 días, después de preparado el ensilaje

El procedimiento de muestreo utilizado fué el mismo que se detalló en la sección 3.3.1.2.

3.4.1.2 Variables evaluadas

Las variables evaluadas son las mismas de la sección (3.3.1.2), adicionándose los contenidos de carbohidratos solubles y pared celular. La concentración de carbohidratos solubles fué determinada por el método de Somogyi (1945) y la pared celular por el método desarrollado por Goering y Van Soest (1972). En este experimento el ácido láctico y los ácidos grasos volátiles se analizaron con un cromatógrafo de gas 8500 Perkin Elmer. Una muestra de 10 ml de líquido del ensilaje de cada repetición, se centrifugó por 15 minutos a 4000 revoluciones por minuto, tomando posteriormente 5 ml de líquido sobrenadante, más 1 ml de solución de ácido metafosfórico, y colocándolo en refrigeración a 5°C para su posterior análisis por cromatografía de gas (Playne, 1985).

El cromatógrafo contaba con: una columna de seis pies de acero inoxidable, rellena de Chromosorb 101^a, detector FID de gas de arrastre de nitrógeno con flujo de 80 ml por minuto y una temperatura de 200°C.

^aSigma Chemical Company, St. Louis, MO USA 63178-9916, (1989)

3.4.1.3 Análisis estadístico de los datos

Los tratamientos estuvieron definidos por los tiempos de fermentación y cada tiempo contó con seis repeticiones. Los análisis que se efectuaron fueron regresiones para observar tendencias y curvas de estabilidad de la fermentación del ensilaje, utilizándose las medias por tratamientos. Se seleccionaron los modelos de mayor ajuste (mayores valores de r^2), y que además tuvieran sentido biológico para cada variable.

Para el análisis de resultados, se utilizaron los mismo modelos y criterios definidos en la sección 3.3.1.4.

3.5 Experimento III

3.5.1 Manejo del Experimento

3.5.1.1 Ensilaje de madero negro

Se tomaron 672 kg de madero negro picado con 8% de melaza el cual se dividió en porciones de 16 kg y se colocaron en bolsas plásticas a las cuales se les aplicó vacío y se cerraron herméticamente con gasas de tornillo. El forraje utilizado provenia de dos localidades Guápiles y

Turrialba, debido a que al momento de cosechar las cantidades disponibles de biomasa en la localidad de Turrialba era insuficiente, procediéndose a utilizar el forraje de madero negro de la localidad de Guápiles. Los materiales provenientes de ambas localidades poseían una edad de rebrote de cuatro meses al momento del corte. Estos silos se abrieron aproximadamente a los 110 días de ensilados.

3.5.1.2 Prueba de Aceptación

Para este experimento se utilizaron nueve cabras con un peso inicial promedio de 26,7 kg que se estabularon en jaulas individuales, con agua y sales minerales^b ad libitum. Estas cabras fueron desparasitadas tres días antes de iniciar la prueba de aceptación, que consistió en tres semanas de adaptación, y 16 días de medición. El periodo de medición se dividió en dos partes, uno de siete días en el que se le proporcionó ensilaje de madero negro proveniente de Guápiles y otro de nueve días, en el que se proporcionó ensilaje proveniente de Turrialba.

En la prueba de aceptación, durante la mañana se proporcionó 1200g de ensilaje por 90 minutos. Adicionalmente se ofreció 6,5 kg de pasto King grass en dos porciones iguales, la primera inmediatamente después

^bPecutrin: producto Bayer, conteniendo 93% de mezcla mineral, 1% de complejo vitamínico y 6% de sal común.

del consumo del ensilaje y la segunda por la tarde. El rechazo de cada animal para ambos alimentos fueron muestreados diariamente durante el periodo de medición, secados en estufa y posteriormente se tomó una muestra compuesta para los análisis de laboratorio (DIV y P.C.).

3.5.1.3 Análisis estadístico de los datos

Se llevaron a cabo regresiones para evaluar la aceptación del alimento por animal por día para decidir si se producían cambios en el tiempo que duraban el periodo de experimentación con cada material.

Se llevaron a cabo pruebas de regresión dentro de cada animal para ver si había diferencia en la aceptabilidad del material por animal, en Turrialba y Guápiles y comparación de coeficientes β con una prueba T para ver si hay diferencias entre localidades.

4. RESULTADOS

4.1. Experimento IA

4.1.1 Ensilajes de madero negro fresco con diferentes niveles de melaza

La composición química del ensilaje del forraje de madero negro con los diferentes niveles de melaza, después de 42 días de haber ensilado se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Composición química del forraje de madero negro (Gliricidia sepium) ensilado con diferentes niveles de melaza, después de 42 días de prueba.

Parámetro ¹	NIVELES DE MELAZA (%)					
	0	2	4	6	8	10
pH	4,7	4,4	4,1	4,1	4,0	4,1
%MS ²	20,9	20,9	23,5	24,5	28,2	30,0
%NH ₃ /%NT	18,2	10,3	9,0	8,1	7,0	8,9
%PC ³	22,2	21,6	20,9	20,6	19,9	19,2
%Dig. ⁴	53,3	56,6	59,5	61,5	62,8	62,6
%Ac. Láctico	0,6	1,3	1,5	1,7	2,5	2,6
%Ac. Acético	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9

1 Todas las cantidades están expresadas en base seca.

2 Materia seca

3 Proteína cruda

4 Digestibilidad in vitro.

Los ácidos butírico y propiónico no fueron detectados, por lo que se asume que no se encontraban presentes o estaban en cantidades no detectables con el equipo empleado en el experimento 1.

El ácido acético a pesar de encontrarse presente en los análisis químicos, estadísticamente no fueron diferentes por lo que sólo se reportan las cantidades encontradas.

4.1.1.1 pH y contenido de materia seca

Los criterios más simples de calidad de los ensilajes son el pH y el contenido de materia seca (MS). Para tener una buena calidad, los ensilajes con bajo contenido de M.S. deberán tener un pH menor de 4,2. Esta condición ocurrió en los ensilajes que incluían de 4 a 10% de melaza como aditivo. En ensilajes con bajo contenido de MS, un pH alto generalmente está asociado con una fermentación proteolítica, concordando esto con lo encontrado en el presente trabajo.

Los valores de pH obtenidos según los niveles de melaza utilizados se grafican en la Figura 2. Se observa que el pH tendió a declinar a medida que se incrementaba el nivel de melaza, disminuyendo desde un pH de 4,7 para ensilajes sin melaza, hasta un pH de 4,0 para el nivel del 8% de melaza.

La estabilización del silo ocurre cuando se forman suficientes ácidos orgánicos para disminuir el pH, a tal

punto de minimizar o paralizar la actividad microbiana (Catchpoole y Henzel, 1971). Esta paralización ocurre a un pH de 4,2 (McDonald, 1981). En este estudio, esta condición se logró a partir de la adición del 4% de melaza en el ensilaje.

Los resultados obtenidos referente a los cambios en pH y MS en respuesta a los diferentes niveles de melaza estudiados, son concordantes con los obtenidos por otros investigadores (Archibald, 1953; Mc Donald y Purves, 1956; Thomas, 1978) demostrando que el nivel del pH se reduce con la adición de la melaza. También Catchpoole (1970), trabajando con leguminosas herbáceas (Phaseolus atropurpureus, Desmodium intortum y Lotononis bainesii), encontró que a medida que aumentaban los niveles de melaza de 0 hasta 8%, provocaba una caída significativa en el pH de ensilaje.

Con relación al porcentaje de M.S. del ensilaje, la adición de melaza ejerció un efecto lineal significativo, pues el contenido de M.S. se incrementó de 19,8% a 29,5% cuando se pasó del 0 al 10% de adición de melaza.

Este resultado es explicable, si se considera que la melaza contiene un 75% de MS (McDonald, 1981), mientras que

el madero negro tenía al momento de ensilar 19.8% de MS. Concordando con lo encontrado por Archibald (1953), McDonald y Purves (1956) y Thomas (1978). También Catchpoole (1970) encontró una alta significancia con regresiones lineales en el aumento constante de la MS total con el incremento de los niveles de melaza (0, 2, 4 y 8%) para los ensilajes de tres forrajes; Phaseolus atropurpureus, Desmodium intortum y Lotononis bainesii

Así mismo concuerdan los resultados de este trabajo con los reportados por Moreno (1977), quien encontró que al agregar cantidades crecientes de melaza, se incrementa el porcentaje de M.S.

En la Figura 2 se muestra el efecto de la melaza sobre la MS total, considerándose necesario para un buen ensilaje un mínimo del 25% de MS, para que no se generen efluentes (Woolford, 1978). Este nivel se alcanzó en el forraje de madero negro (Gliricidia sepium) después del nivel del 6% de adición de melaza

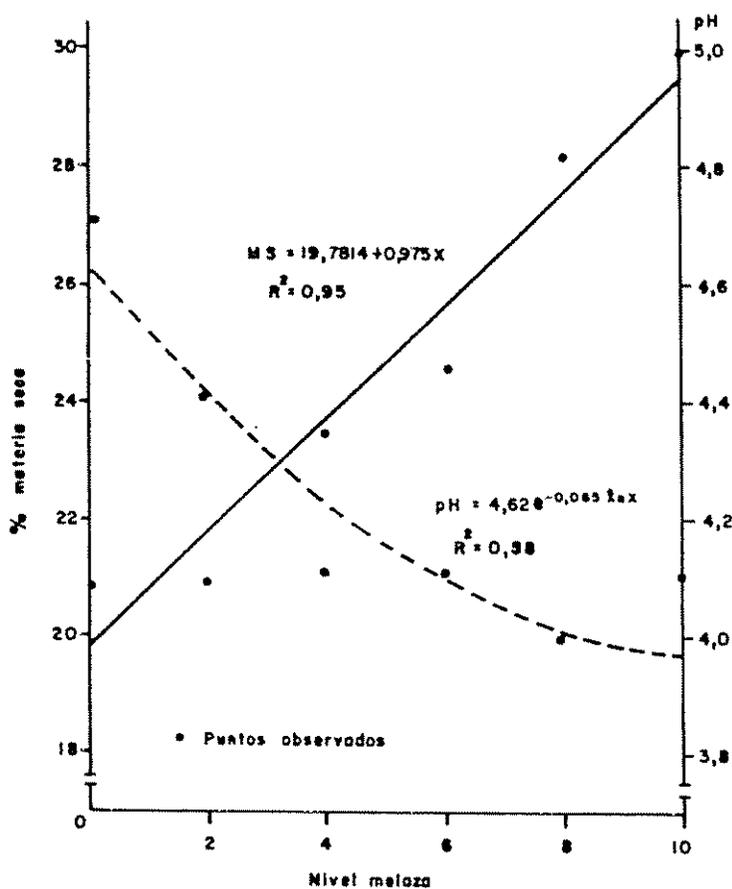


Fig. 2 Efecto del nivel de melaza sobre los valores de pH y materia seca de los ensilajes

4.1.1.2 Proteína cruda y nitrógeno amoniacal

El contenido de proteína cruda ($N \times 6,25$) disminuyó linealmente con el incremento de los niveles de melaza (Figura 3)

Esta disminución no se puede atribuir en su totalidad a la proteólisis, sino mas bien a el aumento en el nivel de melaza. Al aumentar la cantidad de MS total con la adición de la melaza se diluye el valor de la PC. Lo anterior se afirma en base a los resultados encontrados en el presente estudio en la variable del NH_3/NT donde los valores son bajos (Figura 3).

En relación con la adición de cantidades crecientes de melaza, se obtuvo, una respuesta significativa en el contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH_3) en los ensilajes, disminuyendo drásticamente el contenido del NH_3 en el ensilaje a medida que se incrementaba el nivel de melaza. Los valores de N-NH_3 como porciento del nitrógeno total variaron entre el 18 y el 7% , y son comparables a los obtenidos con ensilajes de gramíneas con adición de melaza. El nivel mas bajo de N-NH_3 corresponde al 8% de melaza, considerándose en cuanto a este parámetro como un ensilaje de buena calidad (Cuadro 1A)

Los datos anteriores concuerdan con lo informado por Catchpoole (1970) el cual encontró diferencias significativas en los diferentes forrajes ensilados (Phaseolus atropurpureus, Desmodium intortum y Lotononis bainesii) con diferentes niveles de melaza (0, 2, 4 y 8%).

Este autor concluye que a medida que aumenta el nivel de melaza, disminuye la cantidad de $N-NH_3$, debido a una paralización de la fermentación, resultando el mejor tratamiento el del 8% de melaza en todos los casos estudiados.

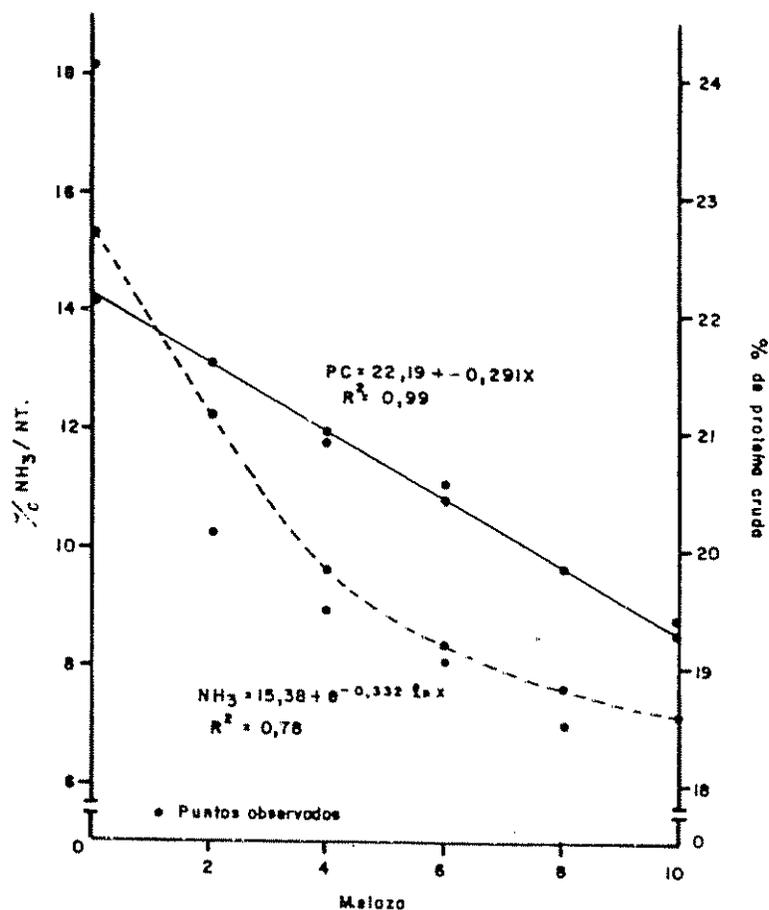


Fig. 3 Efecto del nivel de melaza sobre los valores de proteína cruda y nitrógeno amoniacal del ensilaje

4.1.1.3 Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS).

En relación a la DIVMS la adición de melaza resultó en incrementos lineales en los porcentajes de digestibilidad de la MS (Figura 4). Se sabe que el valor de digestibilidad de la melaza es del 90-95%, entonces las respuestas observadas en la Fig.4 son por efecto de simple agregado de materia digestible. Es decir, la melaza no ocasiona ningún cambio en la digestibilidad del forraje per se, pero sí en el total de la masa ensilada (Moreno, 1977).

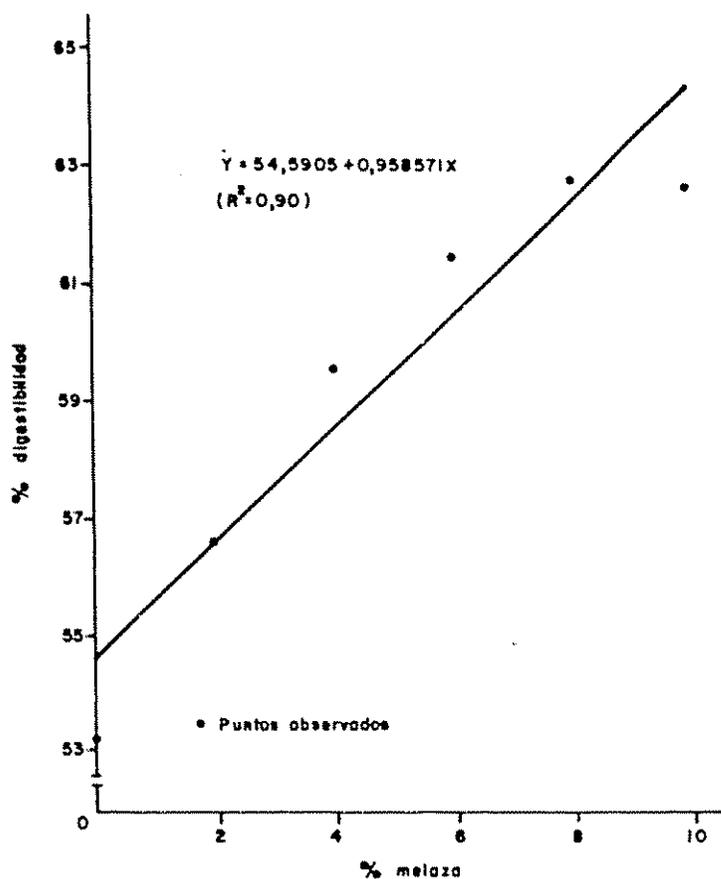


Fig. 4 Efecto del nivel de melaza sobre los valores de digestibilidad in vitro de la materia seca en ensilajes de madero negro

4.1.1.4 Acidos orgánicos

Respecto a la producción de ácido láctico, en la Figura 5 se observa un

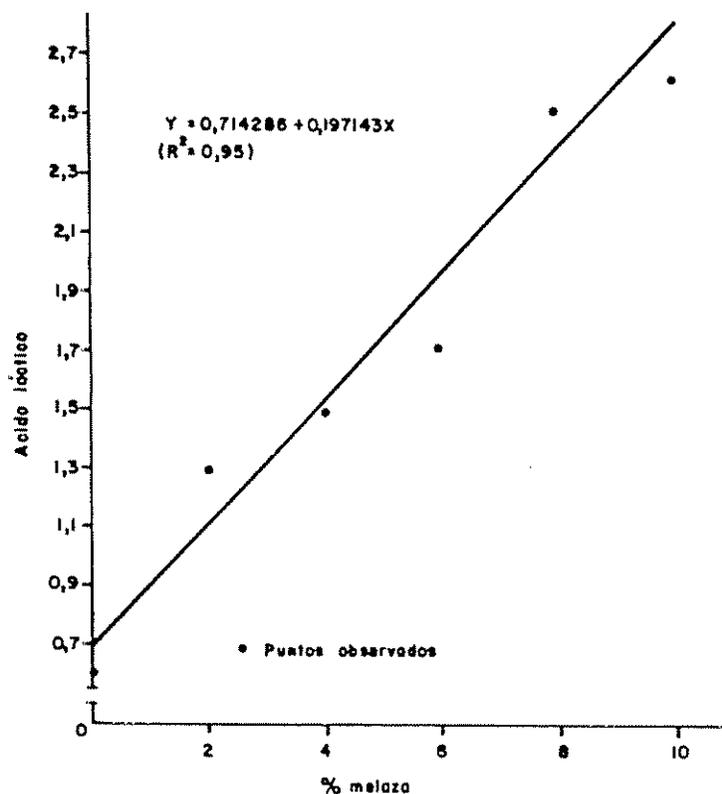


Fig. 5 Efecto del nivel de melaza sobre los valores de ácido láctico en ensilaje de madero negro

Ojeda et al (1980) necesitaron dosis de 8% de melaza para lograr una fermentación predominantemente láctica en pasto Guinea cv. Likoni, con 8 semanas de rebrote.

Ojeda (1985) considera la melaza particularmente efectiva para mejorar las fermentaciones de los forrajes pobres en azúcares y altos contenidos de proteínas.

Demarquilly (1973) encontró que la melaza es tan efectiva como aditivo como la mezcla A.I.V. (ácidos inorgánicos o minerales: HCl, H₂SO₄, H₃PO₃ etc.); sin embargo, concluye que la melaza promueve una mayor producción de ácido acético, el cual se encuentra asociado negativamente al consumo de los ensilajes. También Wilkins et al (1971) trabajando con 75 especies de gramíneas y leguminosas de zona templada encontraron resultados similares. Las especies estudiadas por este autor fueron: (14) pasto Italiano, (12) Rye grass perenne, (11) Timothy, (10) Barley, (5) Cocksfoot, (5) Alfalfa, (5) Trébol Rojo, (3) Festuca pratensis, (1) Sorgo, (3) Onobrychis viciifolia, (1) mezcla de pastos

En cuanto al ácido acético, al realizar las regresiones para los diferentes niveles de melaza, no se observó el efecto del nivel de melaza sobre este ácido en los diferentes ensilajes estudiados. Catchpoole y Henzell (1971) encontraron que bajo condiciones tropicales, las bacterias responsables de la fermentación se reproducen y pueden dominar la fermentación, mientras que esto aparece muy raramente en ensilajes de especies templadas.

Henderson y McDonald (1975) concuerdan en que la microbiología de la fermentación de estos ensilajes tipo

acetato, no han sido suficientemente estudiados y pareciera que sólo se producen bajo condiciones de laboratorio, y cuando los forrajes ensilados son deficientes en la bacteria del ácido láctico, dominando la fermentación de las enterobacterias. Además McDonald (1981) describe el ensilaje de tipo acetato de pasto ryegrass italiano con las siguientes características; pH 4,81, MS 176 g kg⁻¹, NH₃/NT 128 g kg⁻¹ Tn, ácido acético 97 g kg⁻¹ MS, pues es muy poca la información disponible concerniente al valor nutritivo de ensilajes tipo acetato. Aunque se observa una correlación negativa del contenido del ácido acético del ensilaje y el consumo de materia seca (Wilkins et al, 1971).

Lo anterior trata de explicar lo que ocurrió en el presente estudio, sin embargo, en este estudio predominó el lactato a partir del 2% de melaza hasta el 8%. En general, el pH se mantuvo bajo, y en ningún caso llegó al 4,8 que muestra el ensilaje preparado con ryegrass (McDonald 1981)

4.2 Experimento 18

4.2.1 Ensilajes de madero negro fresco con diferentes niveles de ácido fórmico

La composición química del forraje con los diferentes niveles de ácido fórmico después de 42 días de ensilado se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición química del forraje ensilado de madero negro (Glyricidia sepium) con diferentes niveles de ácido fórmico, después de 42 días de prueba.

Parámetros ¹	Niveles de ácido fórmico.				
	0	0,2	0,4	0,6	0,8
pH	4,7	4,5	4,4	4,2	4,1
%MS ²	20,9	21,0	21,1	21,5	21,7
%NH ₃ / % NT ³	18,2	9,7	5,5	3,6	2,5
%PC ⁴	22,2	21,5	22,2	22,0	22,1
%DIVMS ⁵	53,3	53,4	53,5	53,6	54,0
%Ac. Láctico	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
%Ac. Acético	1,0	1,2	0,9	0,8	1,1

1 Todas las datos están reportadas en base seca.

2 Materia seca.

3 Nitrógeno amoniacal en relación al nitrógeno total.

4 Proteína cruda.

5 Digestibilidad in vitro de la materia seca.

Los ácidos butírico y propiónico no fueron detectados, asumiéndose que no se encuentran presentes o que están en cantidades despreciables.

No se encontró significancia para el efecto del nivel de ácido fórmico sobre los valores de proteína cruda y el ácido acético, por lo que sólo se reportan las cantidades encontradas.

4.2.1.1 pH y MS

Una de las propiedades que posee el ácido fórmico para mejorar la calidad de las fermentaciones y por consecuencia, una mejor conservación del valor nutritivo de los ensilajes, es la disminución del pH hasta valores de 4,0, provocando una rápida supresión de la respiración de la planta y la fermentación (Saue y Breirem, 1969, mencionados por Ojeda, 1985).

Lo anterior se aplica a lo encontrado en este estudio, donde se observó un efecto lineal negativo del ácido fórmico sobre los valores de pH, pues a medida que aumentó el nivel de ácido fórmico, los valores de pH tendieron a decrecer hasta un valor de 4,1 (Fig 6).

Estos resultados concuerdan por lo reportado por Ojeda y Varforlomeev (1983), donde el pH de los ensilajes de King Grass disminuyó significativamente con la adición de ácido fórmico. Así mismo, con lo encontrado por Ojeda y Cáceres (1984), quienes trabajando con King Grass obtuvieron

resultados similares a los de este trabajo, concluyendo que el ácido fórmico logró disminuir el pH de los ensilajes hasta valores donde se puede esperar una estabilización de la fermentación en los ensilajes, de acuerdo a la materia seca de los mismos.

Con respecto a los resultados de MS se observó una ligera tendencia a incrementarse a medida que se aumentó el nivel de ácido fórmico, lo cual indicaría que existió un aumento en la conservación de la MS (Fig.6), Lo cual concuerda con lo obtenido por Ojeda y Cáceres (1984).

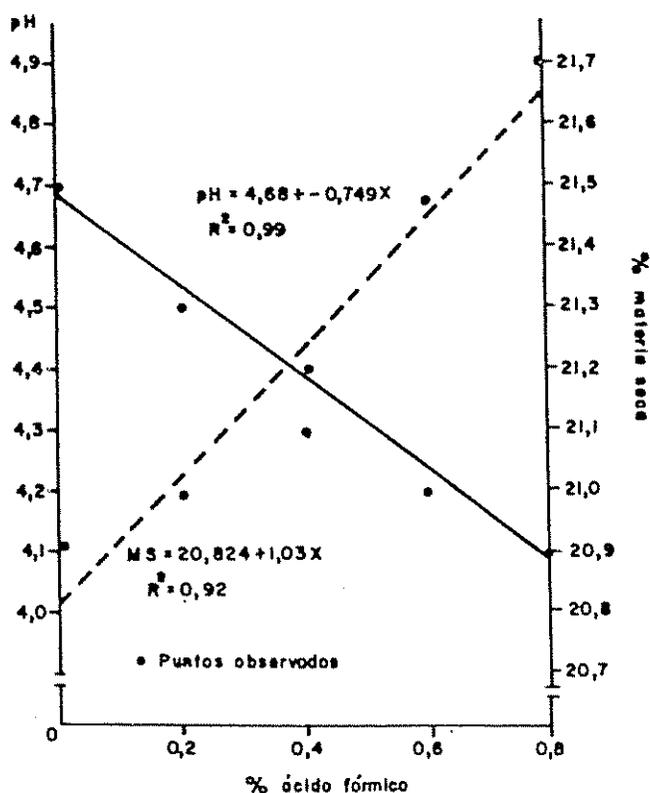


Fig. 6 Efecto del nivel de ácido fórmico sobre los valores de pH y % de materia seca de los ensilajes

4.2.1.2 Proteína Cruda y NH₃/NT

La buena conservación que promovió el ácido fórmico sobre las proteínas permitió que estas fueran comparables a las obtenidas en el forraje original, no habiendo diferencias significativas entre los valores con los diferentes niveles de ácido fórmico utilizados.

Con respecto al %NH₃/NT los resultados (Fig. 7) hubo una tendencia lineal indicando que a medida que aumenta el nivel de ácido fórmico, se logra una mejor estabilización, evitando la degradación de las proteínas hasta ácidos aminados, haciendo mas eficiente la retención del nitrógeno en la masa ensilada.

Barry et al (1978) estudiando la alfalfa con y sin aditivos (ácido fórmico y formaldehído) encontró que a medida que aumenta el nivel del ácido fórmico (0, 0,15, 0,3 y 0,6%), disminuía el nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH₃/NT/%).

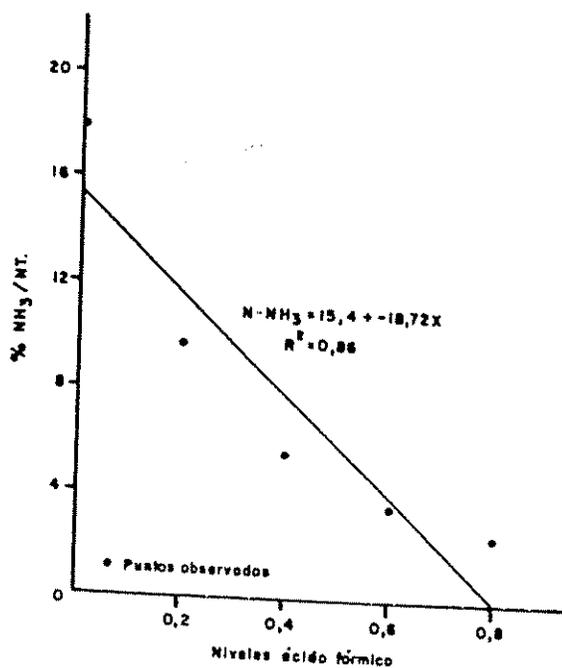


Fig. 7 Efecto del nivel de ácido fórmico sobre los valores de N-NH₃(%)

4.2.1.3 Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS)

La disminución de la digestibilidad de la materia seca, respecto al forraje verde inicial, es otro de los aspectos que afecta el valor nutritivo de los ensilajes. En el caso de los ensilajes conservados en buenas condiciones y en silos donde la hermeticidad es adecuada, esta calidad se encuentra muy próxima al forraje original (Wilkins, 1971). En el presente estudio el porcentaje de digestibilidad de la materia seca con diferentes niveles de ácido fórmico (Figura 8) muestra que esta se mantiene y tiene una ligera tendencia positiva, lo que indica que puede existir un factor que favorece la digestibilidad al incrementar los niveles de ácido fórmico.

Los anteriores resultados concuerdan con los de Ojeda y Cáceres (1984) cuando ensilaron King Grass con el ácido fórmico como aditivo.

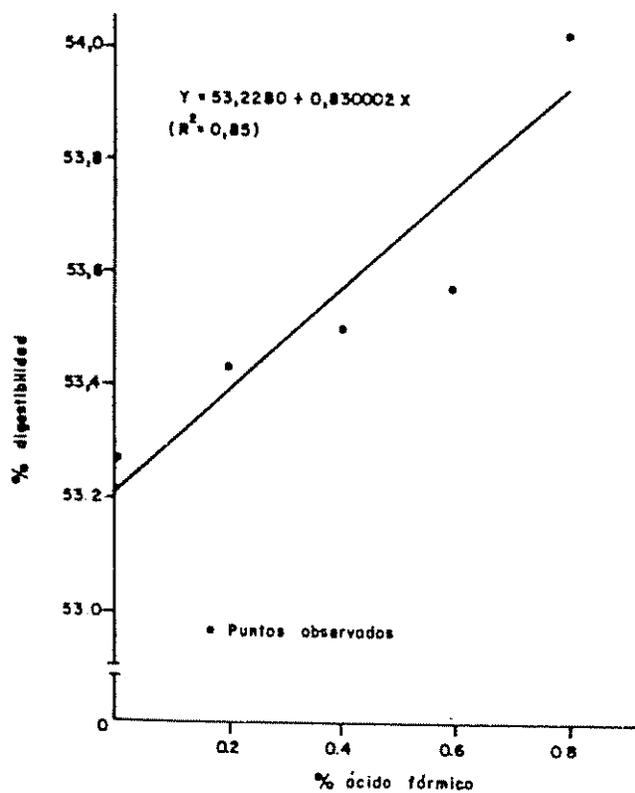


Fig. 8 Efecto de los niveles de ácido fórmico sobre los valores de digestibilidad de los ensilajes de madero negro

4.2.1.4 Acidos orgánicos

De los ácidos orgánicos analizados, no se detectaron el butírico y propiónico. Respecto al ácido acético sus concentraciones no presentaron diferencias significativas en relación al nivel de ácido fórmico aplicado. Barry et al (1978), mostró en el ensilaje de alfalfa con diferentes niveles de ácido fórmico (1,5l, 3,0 y 6,0lt⁻¹) reducciones en los contenidos de ácidos propiónico, acético y butírico, y el ácido láctico. Respecto al ácido láctico, los resultados del presente estudio no mostraron cambios importantes en la concentración a medida que aumentaba el nivel del ácido fórmico, concordando con los resultados obtenidos por Davidson et al (1973). Estos autores encontraron que la adición de ácido fórmico paraliza la fermentación, así mismo los cambios en los aminoácidos fueron considerablemente restringidos con el uso de este conservante.

4.3 Experimento IC

4.3.1 Ensilaje de madero negro sin marchitar, marchitado y marchitado con 6% de melaza

En el Cuadro 3 se observan los resultados de la composición química del forraje con los diferentes tratamientos, después de 42 días de prueba

Cuadro 3. La composición química del forraje ensilado con los diferentes tratamientos, después de 42 días de prueba.

Tratamiento	MS %	pH	PC* %	DIVMS %	NH ₃ /N %	Ac. Lac %	Ac. Ace %
Sin Marchit.	20,9c	4,7b	22,2b	53,3b	18,2a	0,6b	1,0a
Marchitado	33,8b	5,0a	25,6a	54,7b	7,7b	0,5b	0,4c
March. con 6%de melaza	37,4a	4,8b	24,2a	60,1a	6,6c	2,9a	0,7b

*Proteína cruda en base seca.

No se detectaron los ácidos butírico y propiónico.

a,b,c. Medias con igual letra no fueron diferentes de acuerdo a la Prueba de Duncan ($p < 0,05$).

4.3.1.1 Materia Seca

Los tres tratamientos fueron diferentes entre si estadísticamente, siendo el tratamiento marchitado con 6% de melaza superior en contenido de materia seca, seguido por el tratamiento de marchitamiento y por último el tratamiento sin marchitar (Cuadro 3). Estos resultados son lógicos, pues el marchitamiento hace que se pierda humedad, lográndose al momento de apertura del silo un ensilaje con menor contenido de agua. Así mismo al tener la melaza un porcentaje de materia seca casi tres veces superior al madero negro, es de esperarse que se incremente el nivel de materia seca del ensilaje (Henderson et al, 1972; Carpintero et al, 1979).

4.3.1.2 pH

Los tratamientos sin marchitar y marchitado con 6% de melaza fueron estadísticamente iguales en cuanto al pH del ensilaje, pero inferior a los del tratamiento marchitado (Cuadro 3). Esto se explica al conocer que el marchitamiento produce ensilajes con un pH mayor que el forraje original (McDonald et al, 1968). También el poder acidificante de la melaza lo que explica por qué el pH de los tratamientos marchitado con 6 % de melaza y sin marchitar fueron iguales (Jackson y Forbes, 1970).

4.3.1.3 Proteína cruda

Los tratamientos marchitado y marchitado con 6% de melaza fueron estadísticamente iguales en cuanto al contenido de proteína cruda pero superiores al ensilaje del tratamiento sin marchitar (Cuadro 3). Esto no indica que la cantidad de la proteína aumentó en el ensilaje, explicándose de la siguiente manera; en el tratamiento sin marchitamiento ocurrieron mayores pérdidas de nitrógeno que mismas que se pueden evitar con el marchitamiento y con la adición de melaza Donaldson y Edwards (1976), concluyen que el marchitamiento en comparación al pasto original, así como la adición de melaza y marchitado con ácido fórmico no presentaron pérdidas de nitrógeno total.

Los mismos datos presentan Jackson y Forbes (1970) y Murphy y Gleeson (1984) al encontrar que el marchitamiento reduce las pérdidas de N-amoniaco en relación al pasto original.

4.3.1.4 Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS)

El tratamiento de follaje marchitado con 6% de melaza resultó significativamente superior en digestibilidad, en comparación del tratamiento de follaje marchitado sin melaza y con el tratamiento de follaje sin marchitar (Cuadro 3). Los resultados son lógicos pues se sabe que la melaza mejora la digestibilidad del forraje (Figura 4).

Los resultados referentes a marchitado y sin marchitar no concuerdan con los resultados encontrados por Alder et al, (1969) que estudiaron ensilajes de Lolium perenne más Trifolium repens y Lolium perenne más Poa pratensis más Phleum pratense estos autores reportan que el marchitamiento reduce ligeramente la digestibilidad. En el presente estudio se observa una digestibilidad ligeramente superior para el marchitado vs sin marchitar (54,7 y 53,3% respectivamente). También Marsh (1979) reporta valores de 68,5% para marchitado y 70,0% sin marchitar coincidiendo este autor con Alder et al (1969).

Pero en general, concuerdan los autores en que los valores son muy parecidos entre los dos tratamientos

4.3.1.5 Nitrógeno amoniacal

Con respecto al nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total, los resultados para los tres tratamientos fueron diferentes entre sí (Cuadro 3). El tratamiento del follaje sin marchitar presentó los niveles más altos de nitrógeno amoniacal, seguido por el tratamiento de follaje marchitado, presentando los valores más bajos el tratamiento de follaje marchitado con 6% de melaza. Estos datos coinciden con varios investigadores (Jackson y Forbes, 1970); Ojeda y Cáceres 1981). Pero hay discrepancia con otros investigadores, que reportan gran diferencia en las tendencias de los resultados, dependiendo de la especie a ensilar (Papadopoulos y Mckersie, 1983; Anderson, 1983).

4.3.1.6 Acido láctico

De los resultados obtenidos en esta variable se observa que el tratamiento de follaje marchitado con 6% de melaza fue diferente, significativamente a los tratamientos de follaje marchitado y sin marchitar que resultaron ser iguales entre sí (Cuadro 3). Estos datos son lógicos, debido a la cantidad de carbohidratos adicionados al follaje marchitado con 6% de melaza.

Carpintero et al (1969) encontró la misma tendencia para la alfalfa ensilada con melaza, pero no hubo diferencias entre marchitado y no marchitado.

4.3.1.7 Acido acético

Se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos, presentando los valores mas altos de ácido acético el tratamiento del follaje sin marchitar, seguido por el tratamiento del follaje marchitado con 6% de melaza, y con los valores mas bajos el tratamiento de solo marchitamiento (Cuadro 3).

Carpintero et al (1969) encontró que con el marchitamiento, el ensilaje de alfalfa incrementaba los valores del ácido acético. Sin embargo Jackson y Forbes (1970) encuentran mayor cantidad de ácido acético en el forraje de alfalfa sin marchitar respecto al marchitado

4.4 Experimento II

4.4.1 Dinámica de la fermentación del ensilaje de madero negro (Gliricidia sepium) con 8% de melaza

Para la realización de este segundo experimento se seleccionó el mejor tratamiento del primer experimento en su primera parte, o sea entre los ensilajes con diferentes

niveles de melaza, debido a que no se contaba con la posibilidad de conseguir ácido fórmico en una mayor escala, y con respecto a los tratamientos de marchitado, por las características climáticas propias de la región no se podía arriesgar el ensayo. La elección de este mejor tratamiento fué realizada en base a la metodología descrita por Ojeda (1985) (Cuadro 2A).

En este segundo estudio, la composición del material original más la melaza fué determinada como base para la identificación posterior de los cambios que tuvieron lugar durante el tiempo de fermentación.

Los resultados están expresados en forma gráfica, a fin de destacar los cambios ocurridos en el tiempo y a su vez, indicar las relaciones más importantes entre las mediciones.

4.4.1.1 pH y materia seca

Los valores de MS y pH aparecen en la Figura 9. El contenido inicial de MS fué de 38,3% presentando los mayores cambios en los primeros días (0, 4, 7, 11, 14, 21 y 28) en que el descenso fué considerable. Después del día 42 se observó una declinación gradual hasta los 154 días de prueba. Estos resultados son diferentes a los encontrados

por Aguilera (1975), estudiando la dinámica del ensilaje del pasto elefante durante un periodo de prueba correspondiente a 0, 10, 20, 30, 60 y 90 días. Este autor encontró pequeñas fluctuaciones en el contenido de MS hasta los 30, a partir del cual y hasta los 60 días un descenso considerable, después del cual hubo un ligero incremento en el % de MS hasta el término de la prueba. Estas diferencias entre los dos estudios pueden deberse a la aplicación del aditivo melaza vs no aditivo del estudio de Aguilera. En otro estudio de este mismo investigador (Aguilera, 1980) comparó el ensilaje del pasto Bermuda de Costa con y sin adición del 4% de melaza, siendo los tiempos de fermentación a estudiar; 0, 10, 20, 30, 60, 90 y 180 días, encontrando resultados similares a los del estudio anterior; hubo fluctuaciones en los 0 a 90 días de prueba para el tratamiento sin aditivo, y después de los 90 días el descenso fué lento pero significativo. Respecto a el tratamiento con 4% de melaza se redujeron las pérdidas de MS total de la masa ensilada al contrario de lo señalado en el presente estudio

El pH declinó rápidamente, entre el momento del ensilado y el 11º día (5,9 y 4,4 respectivamente). Se logró una estabilidad relativa durante algun tiempo, tal y como lo indican los valores a los 21, 28, 42 y 70 días (4,1,

4,0, 3,9 y 3,9). A partir del día 98 hubo un incremento gradual, pero sostenido en el pH desde 4,0, 4,1 y 4,2, a los 98, 126 y 154 días, respectivamente. Esto es lógico debido a que la producción de amoníaco (Figura 11) siempre fue en ascenso, así como el consumo de carbohidratos en descenso (Figura 10), factores que influyen en el incremento del pH.

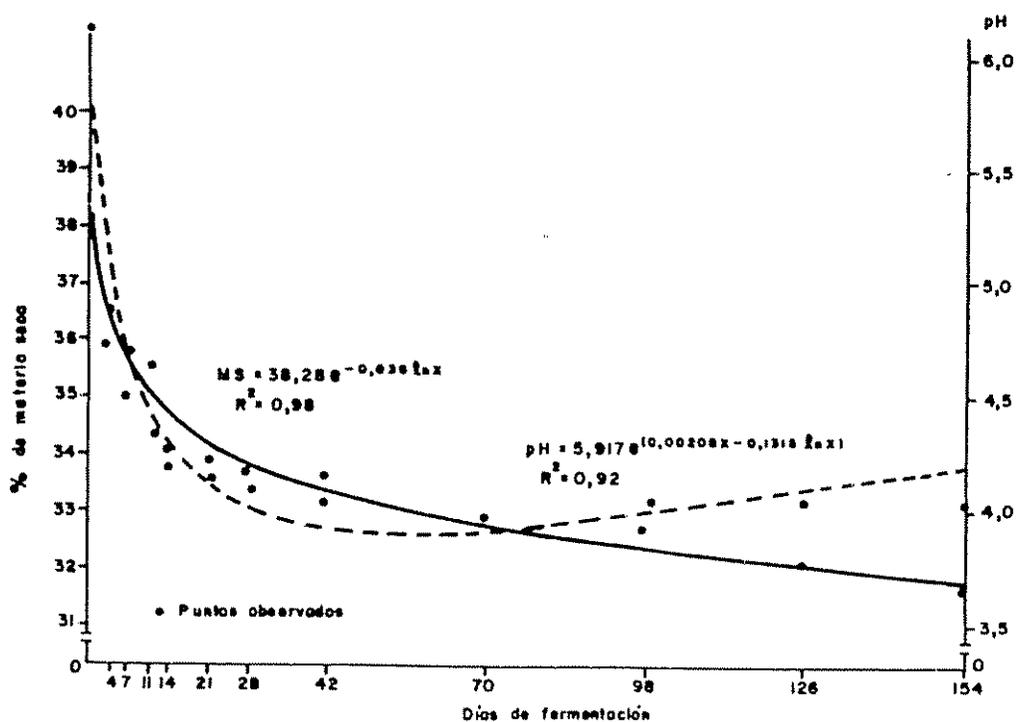


Fig. 9 Cambio de la materia seca y el pH del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo

Lo anterior concuerda con lo encontrado por Aguilera (1975) en cuanto a la caída drástica de el pH en los primeros tiempos, seguido por la estabilidad del ensilaje, sólo que en ese trabajo este periodo fué sólo a los 20 y 30 días, observándose después de los 60 y 90 días el incremento gradual del pH, el material usado por este investigador fué el pasto Elefante cv Candelaria (P. purpureum) sin aditivo, lo que hace suponer que la melaza tiene influencia en este parámetro, para la acidificación y estabilización del ensilaje. De igual manera, Alli et al (1984) encontró el mismo efecto acidificante de la melaza sobre el ensilaje de Leucaena comparado con la Leucaena sin aditivos.

4.4.1.2 Carbohidratos solubles y ácido láctico

Los carbohidratos solubles experimentaron una caída drástica en los primeros 4 días del experimento (Fig. 10). Luego hubieron reducciones marcadas en el contenido de carbohidratos solubles hasta los 42 días del ensilaje, para luego tender a mantenerse a un nivel cercano al 2% hasta los 154 días que duró la prueba.

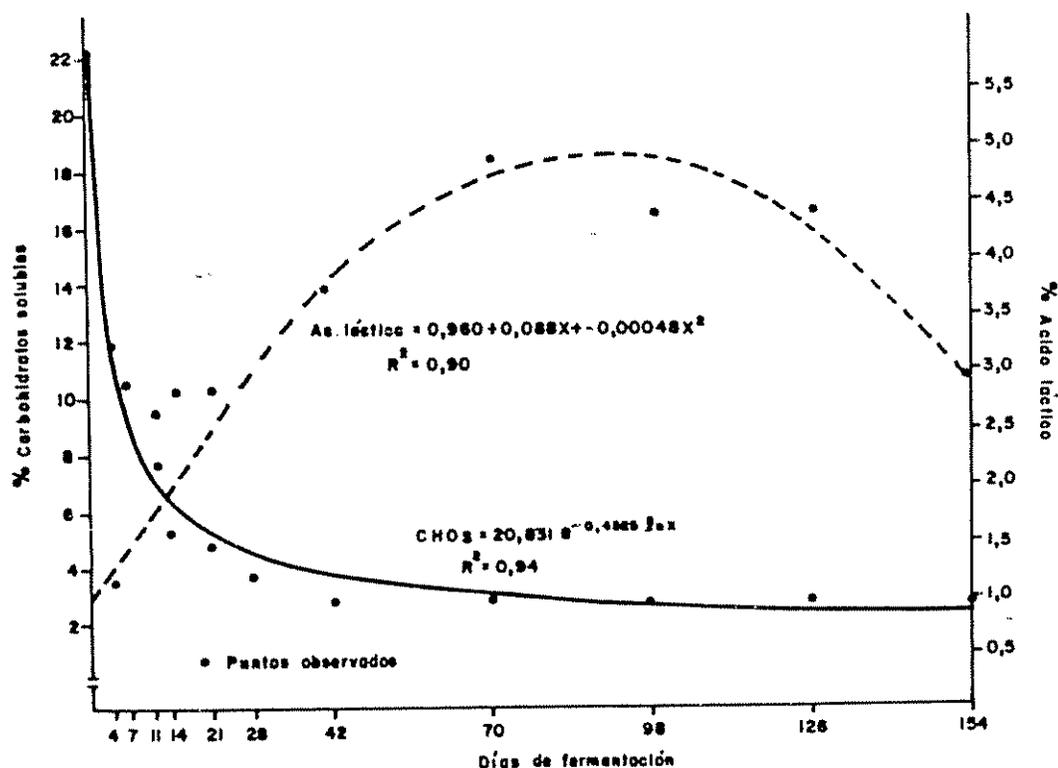


Fig. 10 Cambio en el ácido láctico y carbohidratos solubles del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo

En el contenido de ácido láctico (Fig. 10) se observó un incremento del 0,96% a los 0 días, hasta 4,92% a los 92 días de experimentación, a partir de este punto los niveles descendieron hasta llegar a 2,98% al final del experimento (154 días).

La notable disminución de los carbohidratos presentes estuvo acompañada de un incremento simultáneo en el contenido de ácido láctico, sugiriéndose que los carbohidratos fueron los precursores del ácido láctico producido en el ensilaje. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por Aguilera (1975) en pasto Elefante cv Candelaria, ensilada sin aditivos por un periodo de hasta 90 días. Lo mismo Aguilera (1979) en su trabajo de dinámica de la fermentación de Pangola común ensilada con y sin melaza, encontró que la adición de melaza (0 y 4% de melaza) no afectó la producción de ácido láctico y los carbohidratos solubles también descendieron hasta los 20 días de prueba, para luego recuperarse a partir de los 30 días.

Los resultados de este trabajo concuerdan con lo encontrado por Allí et al (1984) quienes encontraron que la adición de melaza (45,0 kg de melaza por Tn) incrementó los niveles de carbohidratos solubles de la masa ensilada en relación al tratamiento sin melaza. Así mismo, ellos observaron que los carbohidratos se transforman, en los primeros días de fermentación.

4.4.1.3 Proteína cruda y amoníaco

El contenido inicial de la proteína cruda fue relativamente alto (20,3%), disminuyendo significativamente a través de todo el tiempo de experimentación (Figura 11). Durante los primeros 42 días, la caída del % de proteína cruda fué más rápida que la ocurrida entre los 70 y 154 días.

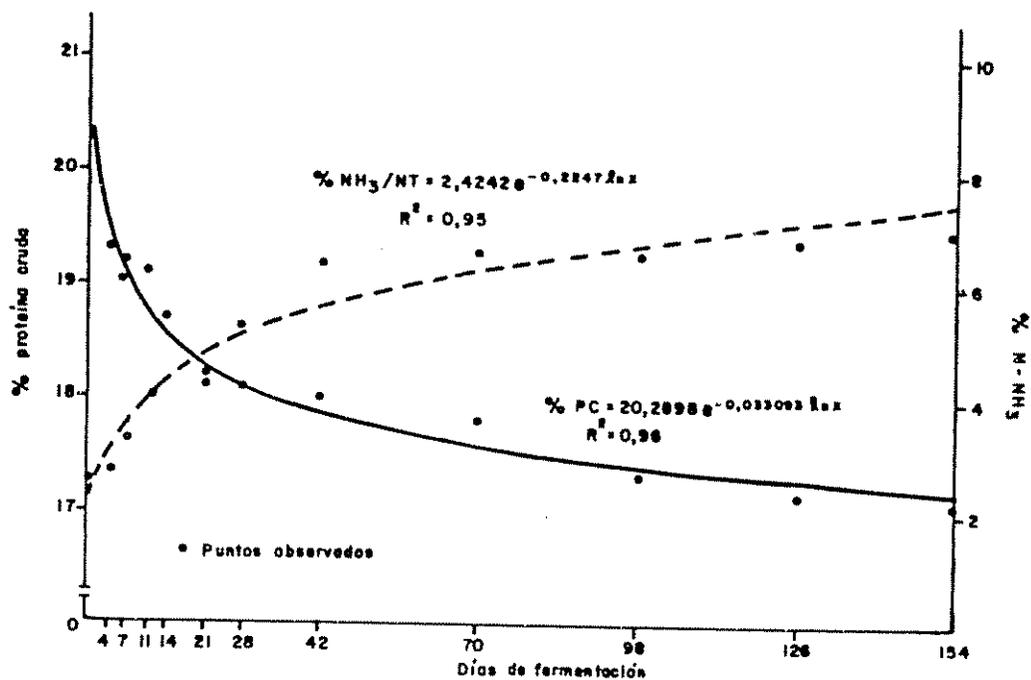


Fig. 11 Cambio en los contenidos de proteína cruda y nitrógeno amoniacal del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en el tiempo

El amoniaco mostro un incremento gradual a través de todo el experimento, observándose que a medida que la proteína del ensilado descendía, se incrementaba el porcentaje de amoniaco (Figura 11).

Resultados similares fueron reportados por Aguilera (1975), en el ensilaje de pasto elefante sin aditivo. En relación al amoniaco, también esta variable conserva la tendencia encontrada en este trabajo, solo a partir de los 60 días el amoniaco empieza a descender, mientras que la degradación de las proteínas continúa en ascenso. Asi mismo, Aguilera (1980) trabajando con pasto Bermuda de Costa ensilado sin melaza o con 4% de melaza, encontró resultados similares, del descenso del amoniaco a partir del día 90 en los dos tratamientos.

4.4.1.4 Acido butírico

Aunque los niveles del ácido butírico detectados en este ensayo están muy por debajo del rango considerado como ensilaje del tipo clostridico (Wieringa 1966). Los valores son significativos estadísticamente, presentando un incremento gradual, desde el inicio del experimento, hasta el día 154 (0,007 a 0,045% respectivamente). En la Figura 12 se compara el comportamiento del ácido butírico con la proteína. Donde se observa que a medida que disminuye el

porcentaje de proteína, aumenta el nivel del ácido butírico, lo que sugiere que una proteólisis este contribuyendo a la producción de este ácido (Aguilera 1975 y 1979).

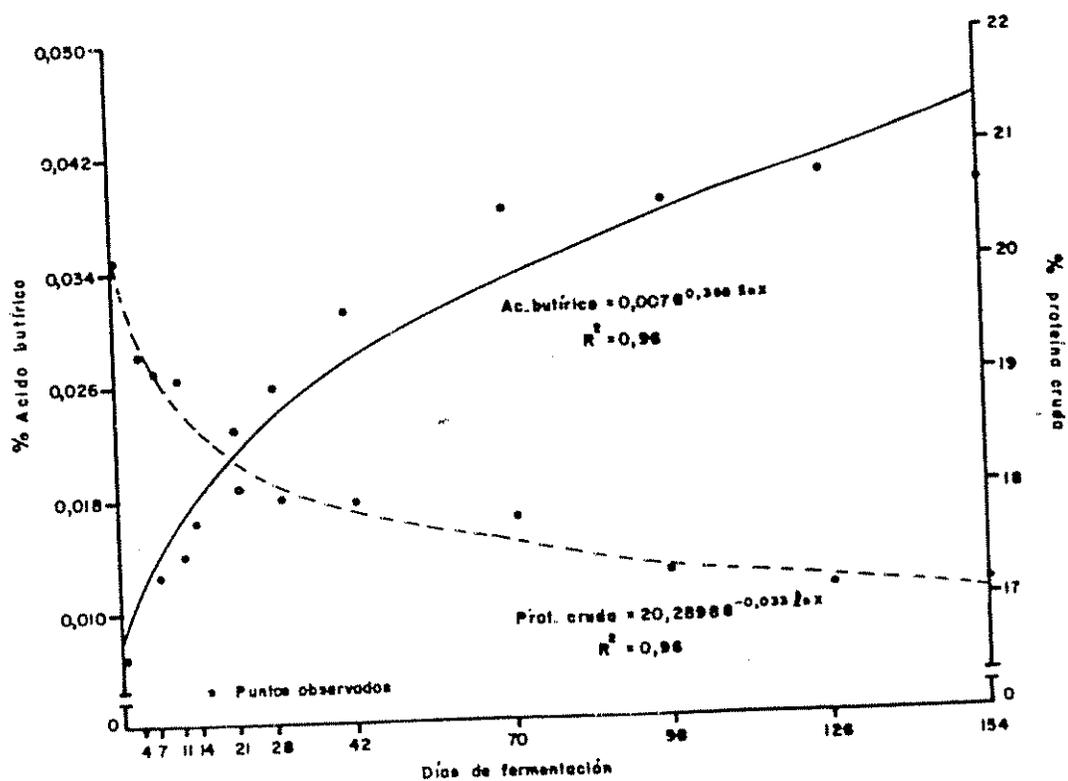


Fig. 12 Cambio en los contenidos de ácido butírico y proteína cruda del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo

Las cantidades mínimas del ácido butírico encontradas en este trabajo, coinciden con los de Alli *et al* (1984) en los tres experimentos que efectuó con *Leucaena* (Sin melaza, con 22,5 y 45 kg de melaza TM^{-1}) y sugiere que la fermentación clostridial fue mínima, debido a el alto contenido de MS ($400g\ kg^{-1}$) del material ensilado.

4.4.1.5 Ácido acético

La Figura 13 muestra que el ácido acético experimentó un ascenso hasta alcanzar un 0,98% en el día 70, para luego comenzar a descender hasta llegar a 0.67% en el día 154. Como se puede observar, los niveles se mantuvieron muy bajos aún cuando se detectaron diferencias significativas entre ellos. En esta misma gráfica se ilustra el ácido láctico anteriormente discutido solo para destacar el comportamiento similar de estos dos ácidos.

Los datos obtenidos en este estudio para el ácido acético concuerdan con los de Aguilera; (1975, 1979 y 1980), para *Pasto Elefante cv Candelaria* sin aditivo durante 90 días, *pasto Pangola* con y sin el aditivo melaza durante 180 días y *pasto Bermuda de costa* con y sin melaza como aditivo durante 180 días, respectivamente.

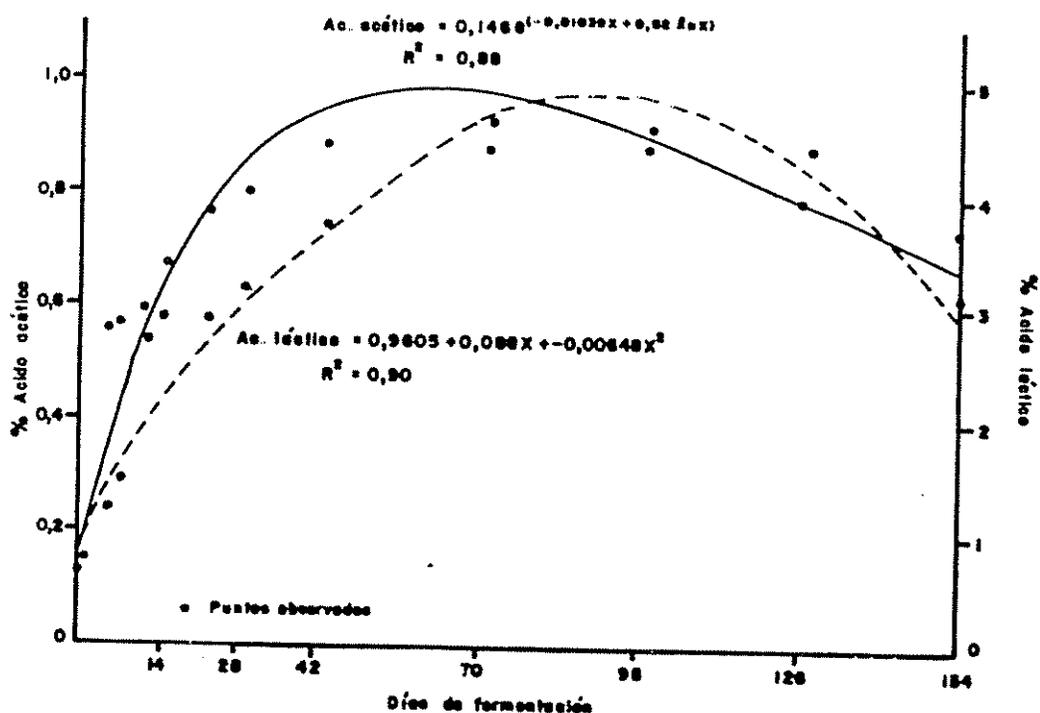


Fig. 13 Cambios en el ácido acético y ácido láctico del ensayo de madera negra con 8% de melaza en función del tiempo

4.4.1.6 Acido Propiónico

Este ácido estuvo presente en cantidades mínimas igual que el ácido butírico, pero las diferencias fueron estadísticamente significativas comenzando de 0,015, siguiendo un ascenso en sus valores hasta el día 70 (0,59), 98 días (0,065), 126 días (0,071) y 154 días (0,076) (Figura 14).

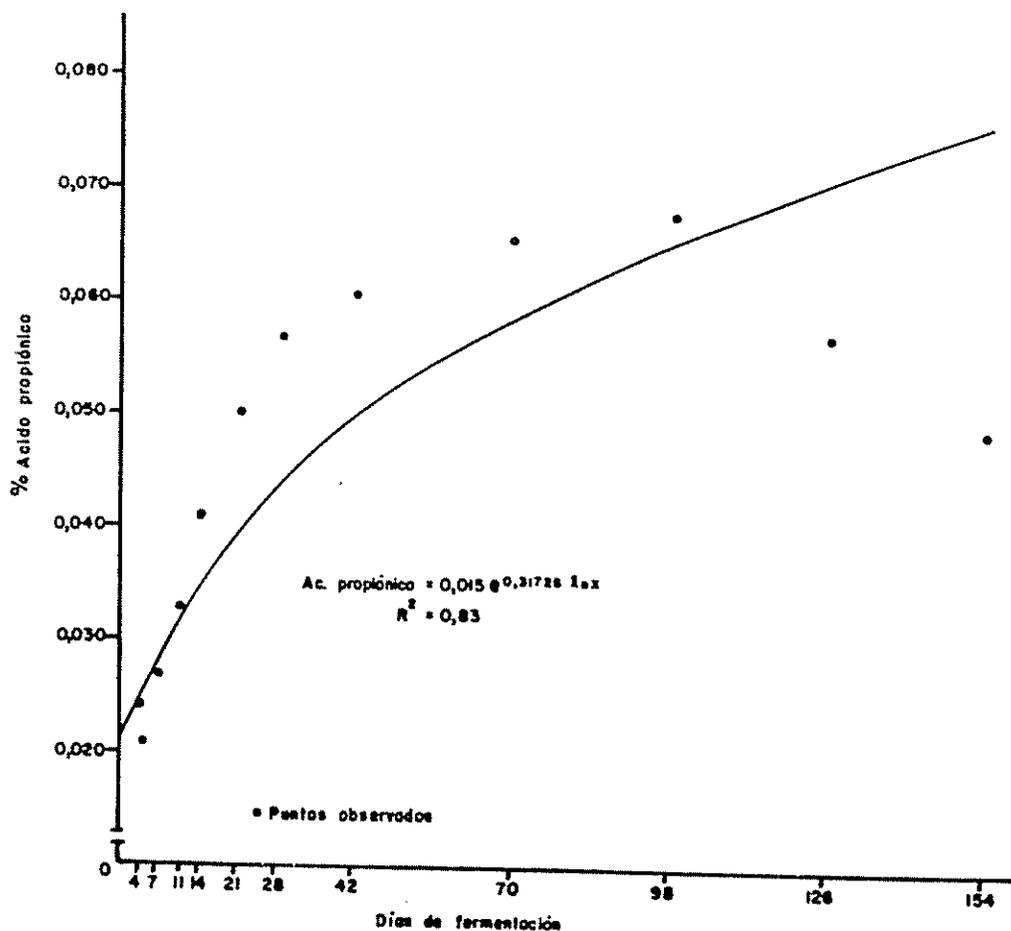


Fig. 14 Cambios en el ácido propiónico del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo

4.4.1.7 Digestibilidad in vitro de la materia seca

En la Figura 15 se observa la variación de los valores de digestibilidad a través de la duración del experimento, mostrando una tendencia lineal negativa, tal vez por la pérdidas de nutrientes en la fermentación. Este parámetro se incluyó como base para ir comparando con futuros estudios (Wernli y Ujeda, 1988), ya que a la fecha no ha

sido una determinación muy utilizada para la evaluación de ensilajes.

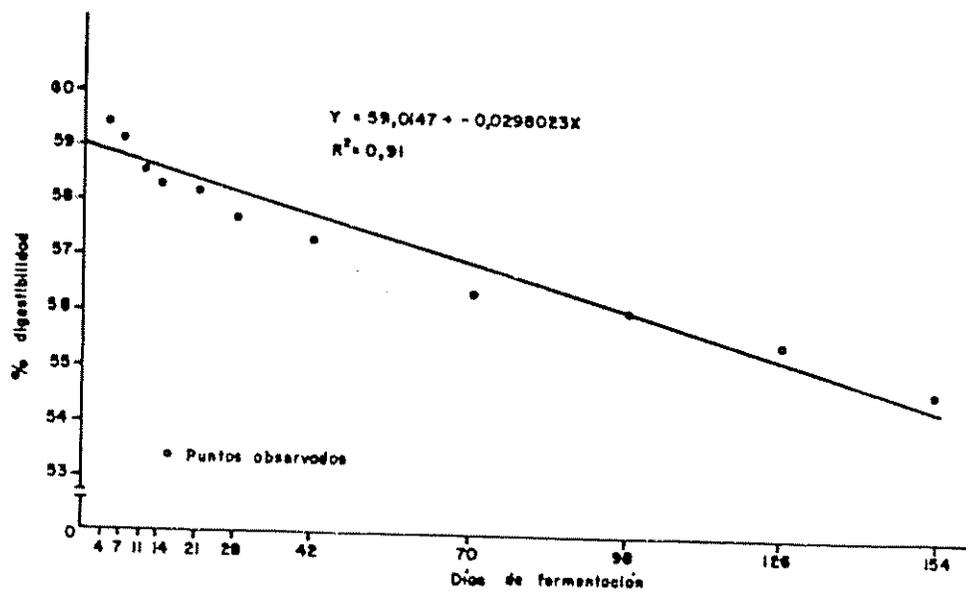


Fig. 15 Cambio en la digestibilidad del ensilaje de madero negro con 8% de melaza en función del tiempo

4.4.1.8 Constituyentes de pared celular

En la Figura 16 se observa la variación de los datos obtenidos sobre la variable constituyentes de pared celular a través del tiempo de experimentación, este parámetro al igual del de digestibilidad se incluye como base a futuros trabajos.

La Figura 16 nos muestra la tendencia negativa de los CPC en función del tiempo de fermentación, esto es debido a la adición de la melaza.

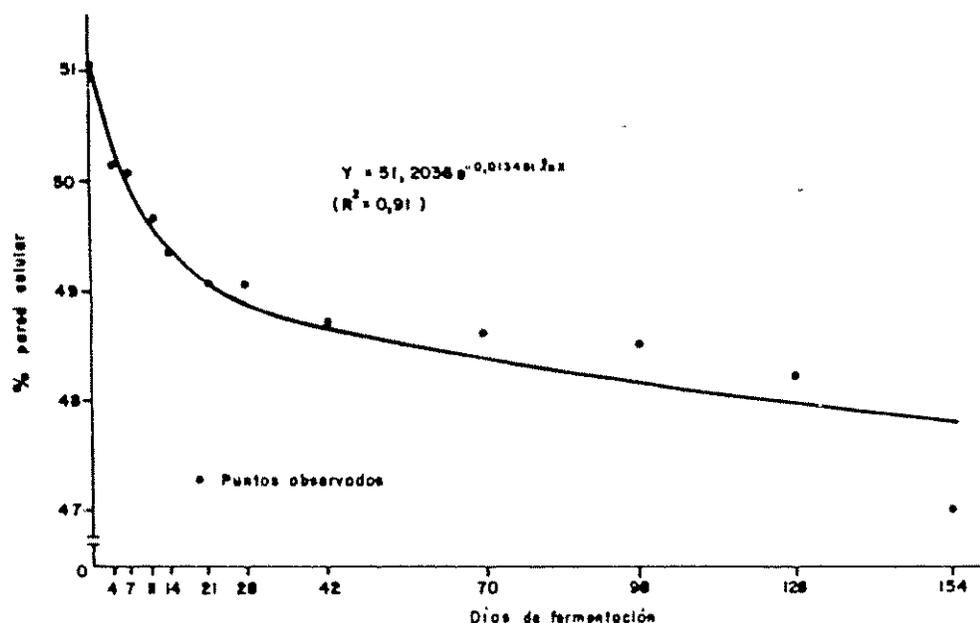


Fig. 16 Cambio en la pared celular del ensilaje de madero negro con 8 % de melaza en función del tiempo

4.5 Experimento III

4.5.1 Prueba de aceptación

Durante la prueba de aceptación, en el periodo de acostumbramiento se observó que las cabras cuando se les ofrecía material ensilado proveniente de Turrialba el rechazo del ensilaje era mínimo, no así cuando este material provenía de Guápiles donde el rechazo fue superior a simple vista, por lo que se procedió a realizar lo siguiente,

a. El material ensilado que se ofreció a las cabras provenía de dos localidades (Guápiles y Turrialba), dicho material se ofreció por separado durante la etapa de acostumbramiento observándose a groso modo diferencias en el consumo por lo que se midieron por separado los consumos de los materiales provenientes de cada localidad.

En el Cuadro 4 se muestra la composición química del material de las dos localidades, observándose a este nivel que no hay diferencias entre ellos.

Cuadro 4. Composición química del ensilaje de Madero Negro (Gliciridia sepium) proveniente de Guápiles y Turrialba.

Localidad	DIVM %	P.C. %	M.S. %	NNH3%
Guápiles	56,3	19,4	31,5	0,41
Turrialba	59,0	19,4	29,4	0,76

b. Se realizaron regresiones lineales del alimento aceptado por cada animal a través del tiempo, para el ensilaje de cada localidad. Lo anterior fué para evaluar si dentro de cada animal había variación al ofrecerle ensilaje de Guápiles o Turrialba. El resultado fué que dentro de cada periodo de prueba, o sea, los días durante los que se ofreció material de cada localidad no mostraron variación, sino que el consumo se mantuvo constante durante cada periodo.

Cuadro 5. Consumo del ensilaje (g) de madero negro/día/animal/localidad.

# animal	G U A P I L E S							
	DIAS							
	1	2	3	4	5	6	7	X
1	164	243	139	201	183	130	128	170
2	99	179	172	192	191	149	188	167
3	193	219	172	208	170	151	194	187
4	199	199	194	208	205	196	176	197
5	240	223	191	198	223	225	193	213
6	125	247	132	200	130	164	123	160
7	105	188	148	219	152	183	183	168
8	174	162	171	179	121	175	171	165
9	189	192	210	205	194	210	170	196
X	165	206	174	201	174	176	170	

# animal	T U R R I A L B A									
	DIAS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	X
1	231	249	225	272	259	294	319	282	297	270
2	229	258	244	258	250	271	294	266	271	260
3	164	222	237	261	248	249	255	238	268	238
4	255	254	244	253	254	285	291	256	294	265
5	231	276	261	284	296	302	336	329	275	288
6	195	239	245	271	248	263	261	242	257	247
7	173	236	230	285	259	278	275	248	282	252
8	232	244	249	283	249	258	297	276	275	263
9	179	279	259	295	280	281	295	291	256	268
X	207	251	244	274	260	276	291	270	275	

c Se llevaron a cabo regresiones lineales para cada animal con el total del ensilaje consumido para cada localidad, comparándose los coeficientes β y con estos coeficientes se llevó a cabo una prueba de T, siendo el resultado altamente significativo en favor de la localidad

de Turrialba con una media de 11,107 y para Guápiles la media fué -1,52.

5. CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. La adición de melaza favorece la conservación del madero negro (Gliricidia sepium) como ensilaje. El porcentaje de materia seca, digestibilidad in vitro de la MS y el ácido láctico aumentan, mientras que el pH y el contenido de N-NH₃ como porcentaje del nitrógeno disminuyen con los incrementos en los niveles de melaza.

2. Se observaron tendencias similares a los tratamientos con melaza para todos los parámetros estudiados con la adición de ácido fórmico, a excepción de la proteína cruda y la producción de ácido láctico que no cambió con los niveles de ácido fórmico estudiados.

3. El ácido fórmico produce ensilajes con valores más cercanos al material original ensilado de madero negro.

4. El marchitamiento mejora la calidad del material ensilado con y sin la adición de melaza.

5. La estabilización del ensilaje no ocurrió completamente en los 154 días de estudio. Pero, los cambios ocurridos después de los 90 a 110 días en los parámetros estudiados fueron pequeños, lo que indica que el ensilaje se conserva bien a través del tiempo.

6. La aceptabilidad del ensilaje de M.N. con 8% de melaza fué consumido satisfactoriamente por cabras en crecimiento, sin embargo la procedencia del madero negro tiene efecto sobre la aceptabilidad del mismo por las cabras

6. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de la calidad del madero negro en diferentes localidades, principalmente de factores anticualitativos, así como diferencias de clones del madero negro.

2. Realizar silos de forraje de madero negro, a nivel de campo para estudiar consumo y respuesta animal, considerando factores económicos y otras especies animales (bovinos).

7. BIBLIOGRAFIA

- AGUILERA, G.R. 1975. Dynamics of the fermentation of tropical grass silage. 1. Elephant grass (Purpureum) without additives. Cuban Journal of Agricultural Science. (Cuba). 9:227-235 p.
- _____. 1979. Dinámica de la fermentación de los ensilajes tropicales. II Pangola común (Digitaria decumbens stent) ensilada con y sin 4% de melaza de caña de azúcar. Pastos y Forrajes. (Cuba). 2:489-501.
- _____. 1980. Dinámica de la fermentación de pastos tropicales 3. Bermuda de Costa con y sin adición de miel. Pastos y Forrajes (Cuba) 3:309-319 p.
- ALDER, F.E.; StMcLEOD, L.; GIBBS, B.G. 1969. Comparative feeding value of silages made from wilted and unwilted grass and grass/clover herbage. Journal British Grassland Society (G.B.) 24:199-204.
- ALLI, I.; FAIRBAIRN, R.; NOROOZI, E.; BAKER, E. 1984. The effects of molasses on the fermentation of chopped whole-plant leucaena. Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.) 35(3):285-289.
- ANDERSON, R. 1983. The effect of extended moist wilting and formic acid additive on the conservation as silage of two grasses differing in total nitrogen content. Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.) 34(8):808-818.
- ARCHIBAD, J.G. 1952. Sugar and acids in grass silage. Journal of Dairy Science (EE.UU.) 36:385-390 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). 1984. Official methods of analysis. 14 ed. Ed. by Sidney Williams. Arlington, Va. (EE.UU.), 1141 p.
- BARRY, T.N.; COOK, J.E.; WILKINS, R.J. 1978. The influence of formic acid and formaldehyde additives and type of harvesting machine on the utilization of nitrogen in lucerne silages 1. The voluntary intake and nitrogen retention of young sheep consuming the silages with and without intraperitoneal supplements of D.L. methionine. Journal of Agricultural Science (G.B.) 91:701-715.

- CARPINTERO, C.M.; HENDERSON, A.R.; McDONALD, P. 1979. The effect of some pre-treatment on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass and Forage Science (G.B.)* 34:311-315.
- _____ ; HOLDING, A.J.; McDONALD, P. 1969. Fermentation studies on Lucerne. *Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.)* 20(11):677-681.
- CATCHPOOLE, V.R. 1966. Laboratory ensilage of Setaria sphacelata (Nandi) with molasses. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry (A.C.T.)* 6(20):76-81.
- _____ . 1970. The silage fermentation of some tropical pasture plants. In *International Grassland Congress (11) 1970, Surfers Paradise, Queensland, A. (T)*. Proceedings Ed. by M.J.T. Normal. Queensland, A.C.T. p. 891-894.
- ↳ _____ ; HENZELL, E.F. 1971. Silage and silage-making from tropical herbage. *Herbage Abstracts (G.B.)* 41:213-221.
- _____ ; WILLIAMS, W.T. 1969. The general pattern in silage fermentation in two subtropical grasses. *Journal of the British Grassland Society (G.B.)* 24:317-324.
- CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA. 1987. Resumen de datos meteorológicos. Turrialba, Costa Rica. 1 p.
- CHADHOKAR, P.A. 1982. Gliricidia maculata una leguminosa forrajera prometedora. *Revista Mundial de Zootecnia (Roma)* 44:36-43.
- DAVIDSON, T.R.; STEVENSON, K.R.; BUCHANAN, J. 1973. Influence of formic acid and formaline on the production of organic acid in direct-cut alfalfa silage. *Canadian Journal Plant Science (Can.)* 53:81-85 p.
- DAVIES, T. 1963. Fodder conservation in Northern Rhodesia. *Journal of Agricultural Science (G.B.)* 61:309-328

- DEMARQUILLY, C. 1973. Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: modifications par rapport au fourrage vert initial. Annales de Zootechnie (France) 22(1):1-35.
- DONALDSON, E.; EDWARDS, R.A. 1976. Feeding value of silage: Silages made from freshly cut grass and formic acid treated wilted grass. Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.) 27:536-544.
- FALVEY, L. 1982. Gliricidia maculata a review. The International Tree Crops Journal (G.B.) 2(1):1-14.
- _____; ANDREWS, A.C. 1981. Agroforestry in highland regions of north Thailand. In World Forestry Congress (8, 1981, Jakarta, Indonesia). Proceedings. Rome, FAO. October. FAO.
- GOERING, H.; VAN SOEST, P. 1972. Análisis de fibra de forrajes. Trad. del inglés por Danilo Pezo. Perú Universidad Nacional Agraria La Molina. Boletín No. 10. 21 p.
- GREENHILL, W.L. 1964. Plant juices in relation to silage fermentation. 2. Factors affecting the release of juices. Journal of the British Grassland Society (G.B.) 19(2):231-236.
- HENDERSON, A.R.; McDONALD, P.; WOOLFORD, M.K. 1972. Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass treated with formic acid. Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.) 23:1079-1087.
- _____; McDONALD, P. 1975. The effect of delayed sealing on fermentation and losses during ensilage. Journal of the Science of Food and Agriculture. (G.B.) 26:653-667.
- HOLDRIDGE, L.R. 1978. Ecología basada en zonas de vida. San José, C.R., IICA. 206 p.
- JACKSON, N.; FORBES, T.J. 1970. The voluntary intake by cattle of four silages differing in dry matter content. Animal Production (G.B.) 12:519-599.
- KASS, M.L.; RODRIGUEZ, G. 1985. Manual de evaluación nutricional de pastos y forrajes. Turrialba, C.R., CATIE Depto de Producción Animal. 43 p.

- _____; RODRIGUEZ, G. 1987. Preliminary studies on silage making from gliricidia sepium (Madero negro). In Gliricidia sepium (Jacq.) Walp.: Management and Improvement. Proceedings of a Workshop held at CATIE, Turrialba, Costa Rica, June 1987. Nitrogen Fixing tree Association Special Publication 87-01 201-204
- MARSH, R. 1979. The effect of wilting on fermentation in the Silo and on the nutritive value of silage. *Grass and Fodrage Science* (G.B.) 34:1-10
- MCDONALD, P., HENDERSON, A.R.; MCGREGOR, A.W. 1968. Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (G.B.) 19:125-132.
- MCDONALD, P. 1981. The biochemistry of silage. New York, John Wiley & Sons. 226 p.
- MCDONALD, P.; PURVES, D. 1956. Effects of the addition of molasses on the composition and digestibility of field silages. *Journal of the Food Science and Agriculture* (G.B.) 7:189-196.
- _____; WHITTENBURY, R. 1973. The ensilage process. chemistry and biochemistry of herbage. *Butler & Bailey*. (N.Z.). (3) 29:33-60.
- MORENO, A.H. 1977. Evaluación de ensilajes de pasto Panamá (Saccharum sinense) para la alimentación de vacas de doble propósito. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C.R., UCR-CATIE. 98 p.
- MURPHY, J.J.; GLEESON, P.A. 1984. Effect of wilting and formic acid. Treatment on silage preservation and performance of autumn-calving cows. *Irish Journal of Agricultural Research* (Irlanda) 23:105-116.
- NON LIN-non linear regression analysis. Palmer's statistical package heather Palmer, CATIE. (Costa Rica). Sin publicar
- OJEDA, F. 1985. Estudio de los aditivos quimicos para la conservación como ensilajes de cuatro gramíneas tropicales. Tesis doctorado. Cuba, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de La Habana Instituto de Ciencia Animal. 224 p

- _____ ; CACERES, O. 1981. Troceado, adición del 4% de miel y el presecado sobre el consumo y digestibilidad de la hierba Guinea cv. Likoni. Pastos y Forrajes. (Cuba) 4:373-382.
- _____ ; CACERES, O. 1984. Efecto de los aditivos químicos sobre el consumo y la digestibilidad de los ensilajes de King Grass. Pastos y Forrajes. (Cuba) (7):409-419.
- _____ ; FERNANDEZ, R.; CAÑIZARES, F. 1980. Edad de reborte y nivel de miel sobre los patrones fermentativos de la hierba Guinea cv. Likony. Pastos y Forrajes (Cuba) 3(3):481-502.
- _____ ; VARFOLOMIEV, G. 1983. Efecto de los aditivos químicos en la calidad de los ensilajes de hierba Guinea cv. Likoni. Pastos y Forrajes. (Cuba) 6(2):263-276.
- _____ ; VARFOLOMIEV, G. 1983. Efecto de los aditivos químicos sobre la conservación del King Grass. Pastos y Forrajes (Cuba) 6:117-133.
- ORTEGAS, R. 1956. The nutritive value and palatability of combination of corn and madre de cacao (Gliricidia sepium Steud) silage. Phillipine Agriculturist (Filipinas) 40(4):171-177.
- PAPADOPOULOUS, Y.A.; MCKERSIE, B.D. 1983. A comparison of protein degradation during wilting and ensiling of six forage species. Canadian Journal of Plant Science (Can.) 63:903-912.
- PEZO, D. 1981. Ensilajes de forrajes tropicales. Producción y utilización de forraje en el trópico; compendio, Turrialba, C.R., CATIE. Serie Materiales de Enseñanza No. 10. p. 141-154.
- PLAYNE, M.J. 1985. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. Journal of the Science of Food and Agriculture (G.B.) 36:638-644.
- SMITH, O.B.; VAN HOUTERT, M.F.J. 1987. The feeding value of Gliricidia sepium a review. World Animal review (Roma) 62:57-62.
- SOMOGYI, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal Biological Chemistry. (EE.UU) 160-161:61-68.

- STEEL, G.D.; TORRIE, J.H. 1960. Principles and procedures of statistics. New York, E.E.U.U., McGraw-Hill 481.
- SWAIN, N., M. MISHRA and NAYAK, J.B. 1971. Use of Gliricidia maculata fodder as a source of legume with hybrid napier for preparation of silage. The Orissa Veterinary Journal (India) 12:1-8.
- THOMAS, J.W. 1978. Preservatives for conserved forage crops'. Journal of Animal Science (E.E.U.U.) 47(3):721-735.
- VAN SOEST, P.J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fiberse. Corvallis, Oregon, OR. 374 p.
- WERNLI, C.; OJEDA, F. 1988. Metodologías para investigación sobre conservación y utilización de ensilajes. Reunión de trabajo sobre metodología de investigación en nutrición de rumiantes. Turrialba, C.R., CATIE. 7-12 marzo. 97 p. En prensa.
- WIERINGA, G.W. 1966. The influence of nitrate on silage fermentation. In International Grassland Congress (10, 1966, Helsinki, Finland). Proceedings. Helsinki, Finland, University of Helsinki. p. 537-540.
- WILKINS, R.J.; HUTCHINSON, K.J.; WILSON, R.F.; HARRIS, C.E. 1971. The voluntary intake of silage by sheep. Journal of Agricultural Science (G.B.) 77:531-537.
- _____; HUTCHINSON, K.L.; WILSON, R.F.; HARRIS, C.E. 1971. The voluntary intake of silage by sheep 1. Inter-relationships between silage composition and intake. Journal of Agricultural Science (G.B.) 77(3):531-537.
- WILKINSON, J.M. 1983. Silage made from tropical and temperate crops. 1. The ensiling process and its influence on feed value. World Animal Review (Roma) 45:36-42
- _____. 1983. Silage made from tropical and temperate crops 2. Techniques for improving the nutritive value of silage. World Animal Review 46:35-40 p.

_____ ; WILSON, R.F.; BARRY, T.W. 1976. Factors affecting the nutritive value of silage outlook on agriculture. 9:3-8 p.

B. A P E N D I C E

Cuadro IA. Bases para clasificación del ensilaje (sin marchitar).

Clasificación	pH	% Acido Butirico	% NH ₃ /NT
Buena	≤ 4,2	≤ 0,2	≤ 8,0
Media	4,3-4,5	0,3-0,5	9-15
Pobre	> 4,2	> 0,5	15-18
Muy buenos	< 4,2	< 0,1	5-8

Fuente: Wieringa, G. (1966).

Cuadro 2A. Valores medios y su significancia estadística para las diferentes variables con diferentes niveles de melaza.

Nivel	Variable							
	% MS	% PCBS	DIVMS	pH	NH ₅ -N	Ac Lac	Ac Ace	
Forraje fresco	20,9c	22,2b	53,3b	4,7b	18,2a	0,6b	1,1	
Melaza %								
2	20,8c	21,6bc	56,6b	4,4c	10,3b	1,3b	0,8	
4	23,3cd	21,0c	59,5ab	4,1d	9,1d	1,5b	0,8	
6	24,5cs	20,6c	61,6a	4,1cd	8,1c	1,7b	0,8	
8	28,2c	19,9c	62,8a	4,0d	7,0e	2,6c	0,8	
10	29,9c	19,0c	62,5a	4,1d	8,9c	2,6c	0,9	

*Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente, mediante la prueba de Duncan (Steel & Torrie, 1960)

Metodología Usada por Ojeda (1985) para la Evaluación del Ensilaje

En primer lugar se sustituyó la evaluación de los ensilajes de buenos, regulares y malos que se proporcionaba por la suma de la puntuación de los indicadores individualmente, por una suma donde los valores de los indicadores, se multiplicara por coeficientes ponderativos, de forma tal que cada uno de ellos aportara a la cifra final de acuerdo a su importancia y no en igualdad de condiciones.

Para limitar el rango de valores posibles a obtener y para facilitar la interpretación posterior de los resultados, la suma de los coeficientes ponderativos se hizo igual a 1 y a la cifra obtenida se le llamó INDICE DE CALIDAD.

Como una de las características primordiales que deben tener los conservantes es la de evitar la formación de ácido butírico, a este compuesto se le otorgó el 50% de prioridad, en el índice establecido, asignándosele al pH y al N-NH₃/NT el 50% restante a partes iguales, quedando el índice de calidad de la siguiente forma: $IC = 0,50 \text{ Ac. But.} + 0,25 \text{ N-NH}_3/\text{NT} + 0,25 \text{ pH}$.

En segundo lugar, como estos indicadores están en diferentes unidades de medida y resultaba imposible la sustitución directa de los valores de cada ensilaje en la fórmula del índice de calidad se determinó realizar una homogenización de las medias utilizando la significación estadística como base, el valor real obtenido en cada indicador se transformó a una escala desde 1 hasta 5 donde a igual nivel de significación entre dos medias le correspondiese el mismo valor de homogenización, tomando siempre como referencia a la letra que se encontrara en la extrema derecha.

Estos indicadores tienen como característica común, que mientras más bajos son sus valores, mejor será la calidad de los ensilajes por lo tanto a la letra a como reflejo de la media con mayor valor, se le asignó el valor, comenzando a partir de la misma el incremento de la puntuación hasta un máximo de 5.

Cuando las letras asignadas a las medias, por la dócima de Duncan, sobrepasan de la letra e, las misma se agruparon por pares teniendo como criterio que cuando a una puntuación le correspondiese dos letras, los valores de las medias agrupadas pudieran considerarse como equivalentes desde el punto de vista práctico.

Es necesario establecer una tabla de puntuación para cada aditivo en algunos indicadores.

El valor máximo alcanzable para este índice de calidad es de 5 puntos y el mínimo de 1.

En este sistema se estableció que para considerar a un adi-

tivo como efectivo, se debía alcanzar una puntuación de 3,75 o más, es decir un 75% ó más del total posible alcanzar.

Cuadro 3A. Valores medios y su significancia estadística para las diferentes variables en ensilajes de forraje fresco, forraje marchitado y forraje marchitado más 6% de melaza.

	% MS	% PCBS	DIVMS	pH	NH ₃ -N	Ac Lac.	Ac. Ace.
Forraje fresco	20,9c	22,2b	53, ^{3b}	4,7b	18,2a	0,6b	1,1
Marchitado	33,8b	25,6a	54,7b	5,0a	7,7b	0,5b	0,4
March. + 6% melaza	37,4a	24,2a	60,10a	4,8b	6,6c	2,9a	0,7

*Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente.

Cuadro 4A. Valores observados y esperados de las variables de pH y MS de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.

Nivel melaza	MS		pH	
	O	E	O	E
0	20,91	19,78	4,7	4,62
2	20,95	21,73	4,4	4,42
4	23,37	23,68	4,1	4,12
6	24,53	25,64	4,1	4,14
8	28,23	27,59	4,0	4,04
10	29,97	29,54	4,1	3,98

Cuadro 5A. Valores observados y esperados de las variables de PC y N-NH₃ de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.

Nivel Melaza	PC		N-NH ₃	
	O	E	O	E
0	22,20	22,19	18,20	15,38
2	21,60	21,61	10,30	12,21
4	20,90	21,02	9,00	9,70
6	20,60	20,44	8,10	8,48
8	19,90	19,86	7,00	7,70
10	19,20	19,28	8,90	7,15

Cuadro 6A. Valores observados y esperados de las variables de digestibilidad in vitro de la M5 en los ensilajes con diferentes niveles de melaza.

% Melaza	Observado	Esperado
0	53,30	54,59
2	56,60	56,51
4	59,50	58,42
6	61,50	60,34
8	62,80	62,26
10	62,60	64,18

Cuadro 7A. Valores observados y esperados en las variables de ácido láctico de los ensilajes con diferentes niveles de melaza.

% Melaza	Observado	Esperado
0	-0,600	0,714
2	1,300	1,109
4	1,500	1,503
6	1,700	1,897
8	2,500	2,291
10	2,600	2,686

Cuadro 8A. Valores observados y esperados en las variables de pH y MS de los ensilajes de madero negro en diferentes niveles de ácido fórmico.

Ac. fórmico %	MS		pH	
	O	E	O	E
0,0	20,91	20,82	4,7	4,68
0,2	21,01	21,03	4,5	4,53
0,4	21,08	21,24	4,4	4,38
0,6	21,47	21,44	4,2	4,23
0,8	21,71	21,65	4,1	4,08

Cuadro 9A. Valores observados y esperados en la variable de N-NH₃ de los ensilajes de madero negro con diferentes niveles de ácido fórmico.

% Ac. fórmico	Observado	Esperado
0	18,20	15,40
0,2	9,73	11,66
0,4	5,47	7,42
0,6	3,63	4,17
0,8	2,53	0,42

Cuadro 10A. Valores observados de proteína cruda en el ensilaje de madero negro para los diferentes niveles de ácido fórmico (%).

Acido fórmico %	Observado
0,0	22,23
0,2	21,53
0,4	22,20
0,6	22,00
0,8	22,00

Cuadro 11A. Valores observados y esperados de digestibilidad in vitro de la MS en los ensilajes de madero negro para los diferentes niveles de ácido fórmico.

Acido Fórmico %	O	DIVMS	E
0,0	53,27		53,23
0,2	53,43		53,39
0,4	53,50		53,56
0,6	53,57		53,73
0,8	54,03		53,89

Cuadro 12A. Valores observados en las variables de ácido láctico y ácido acético de los ensilajes de madero negro con los diferentes niveles de ácido fórmico.

Acido Fórmico %	Acido Láctico %	Acido Acético %
0,0	0,6	1,03
0,2	0,0	1,17
0,4	0,0	0,87
0,6	0,0	0,80
0,8	0,0	1,13

Cuadro 13A. Valores observados y esperados en las variables de MS y pH en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo

Días	MS		pH	
	O	E	O	E
0	38,34	38,3	6,30	5,9
4	36,50	36,4	4,70	5,0
7	35,75	35,6	4,50	4,6
11	35,50	35,1	4,30	4,4
14	34,06	34,7	4,20	4,3
21	33,93	34,2	4,15	4,1
28	33,67	33,9	4,10	4,0
42	33,55	33,4	4,10	3,9
70	32,89	32,8	4,08	3,9
98	32,65	32,3	4,07	4,0
126	32,06	32,1	4,05	4,1
154	31,68	31,8	4,05	4,2

Cuadro 14A. Valores observados y esperados de las variables de carbohidratos y ácido láctico en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.

Días	CHOS		Acido Láctico	
	O	E	O	E
0	22,13	20,83	0,02	0,96
4	11,94	11,12	1,10	1,31
7	10,40	8,64	1,41	1,55
11	7,64	7,00	2,56	1,87
14	5,21	6,31	2,80	2,10
21	4,90	5,25	2,83	2,60
28	3,63	4,61	3,12	3,05
42	2,93	3,84	3,71	3,80
70	2,84	3,05	4,67	4,74
98	2,75	2,62	4,41	4,92
126	2,79	2,33	4,48	4,33
154	2,64	2,13	3,09	2,98

Cuadro 15A. Valores observados y esperados en la variable proteína cruda y nitrógeno amoniacal en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza en relación a el tiempo.

Días	PC		N-NH ₃	
	O	E	O	E
0	20,01	20,28	2,63	2,42
4	19,34	19,38	2,86	3,31
7	19,21	19,04	3,41	3,75
11	19,11	18,74	4,26	4,16
14	18,70	18,59	4,37	4,39
21	18,19	18,34	5,12	4,80
28	18,09	18,17	5,26	5,13
42	17,96	17,73	6,42	5,61
70	17,83	17,63	6,60	6,30
98	17,33	17,43	6,67	6,79
126	17,17	17,29	6,89	7,19
154	17,07	17,17	7,05	7,52

Cuadro 16A. Valores observados y esperados de la variable ácido butírico del ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.

Días	Observado	Esperado
0	0,007	0,007
4	0,013	0,012
7	0,013	0,014
11	0,014	0,017
14	0,017	0,018
21	0,023	0,021
28	0,026	0,024
42	0,031	0,028
70	0,038	0,033
98	0,038	0,038
126	0,040	0,041
154	0,039	0,045

Cuadro 17A. Valores observados y esperados de la variable del ácido acético en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.

Días	Observado	Esperado
0	0,103	0,146
4	0,535	0,331
7	0,549	0,454
11	0,560	0,576
14	0,648	0,649
21	0,740	0,756
28	0,786	0,862
42	0,869	0,958
70	0,852	0,984
98	0,897	0,906
126	0,786	0,791
154	0,746	0,670

Cuadro 18A. Valores observados y esperados de la variable de ácido propiónico en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.

Días	Observado	Esperado
0	0,012	0,015
4	0,021	0,024
7	0,027	0,028
11	0,036	0,033
14	0,041	0,035
21	0,050	0,040
28	0,058	0,044
42	0,060	0,050
70	0,065	0,059
98	0,068	0,065
126	0,057	0,071
154	0,049	0,076

Cuadro 19A. Valores observados y esperados de digestibilidad in vitro y de pared celular en el ensilaje de madero negro con 8% de melaza a través del tiempo.

Dias	DIVMS		Pared Celular	
	O	E	O	E
0	59,91	59,01	51,05	51,20
4	59,46	58,90	50,15	50,26
7	59,14	58,81	50,05	49,88
11	58,58	58,69	49,68	49,58
14	58,23	58,60	49,39	49,42
21	58,03	58,39	49,07	49,15
28	57,63	58,18	49,01	48,96
42	57,25	57,76	48,73	48,69
70	56,38	56,93	48,61	48,36
98	56,12	56,09	48,51	48,14
126	55,53	55,26	48,19	47,98
154	54,73	54,43	47,02	47,85

Cuadro 20A. Coeficientes/animal/localidad (Guápiles y Turrialba).

# animal	Guápiles	Turrialba
1	-10,357	13,857
2	8,071	8,107
3	- 4,821	12,071
4	- 2,286	6,429
5	- 3,750	14,357
6	- 6,214	8,893
7	8,143	14,964
8	- 1,179	7,964
9	- 1,321	13,321

Cuadro 21A. Promedio de aceptación de alimento/animal.

# animal	Ensilaje Guápiles g MS	King Grass g MS	Ensilaje Turrialba g MS	King Grass g MS
1	170	973	270	898
2	167	998	260	907
3	187	876	238	822
4	197	974	265	833
5	213	1132	288	890
6	160	784	247	805
7	168	1081	252	920
8	165	884	263	915
9	196	971	268	867
X	180	964	261	873

Cuadro 22A. Promedio de aceptación del alimento/9 cabras /día.

Días	Ensilaje Guápiles g MS	King Grass g MS	Ensilaje Turrialba	King Grass g MS
1	165	862	210	1015
2	206	852	251	969
3	170	837	244	829
4	201	1027	273	736
5	174	1003	260	781
6	176	992	276	1026
7	170	971	291	875
8			270	1044
9			275	963
X	180	934	261	915