

ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE INOCULANTES PARA EL ENSILADO DE FORRAJES II. EFECTO DE LA ADICIÓN DE UN COADYUVANTE

VICENTE, F.¹, SCOLLO, D.¹, MORA, V.¹,

GIRAUDO, M.¹, RAMIREZ, E.² & RECHIMONT, R.²

RESUMEN

El presente experimento compara el efecto de dos inoculantes y un coadyuvante sobre la acidez y calidad del proceso de fermentación de silajes de pasturas. Se utilizó una pastura de alfalfa y cebadilla (relación 80/20) cortada con motoguadaña a la que se le aplicaron los siguientes tratamientos: T1: Testigo, agua destilada (16 mL/kg de forraje); T2: inoculante UNLa (16 mL/kg de forraje); T3: Sill-All® (16 mL/kg de forraje); T4: inoculante UNLa + Nutrisilaje (16 mL/kg de forraje); y T5: Sill-All® + Nutrisilaje (16 mL/kg de forraje). El material de cada tratamiento se compactó en microsilos de P.V.C. hasta lograr una densidad de 0,5 kg/dm³. Los microsilos fueron abiertos a los 7, 15, 30 y 60 días para analizar pH y concentración de N-NH₃ del forraje. Se observó que la adición de inoculantes aumenta la acidez y la velocidad con que esta se alcanza respecto del testigo. También se observaron menores concentraciones de N-NH₃ en los tratamientos que incluían un inoculante, lo mismo que con el agregado de coadyuvante.

Palabras clave: silajes, coadyuvante, inoculante, pH.

SUMMARY

Study of inoculating for fodder silages. II: Effect of coadjutant addition.

The present experiment compared at intervals of 7, 15, 30 and 60 days the effect of two inoculants and a coadjutant on the acidity and quality of the process of fermentation of microsilages under anaerobiosis of forages (alfalfa and autochthonous barley).

The addition of the inoculants increased the acidity and produced a minor concentration of N-NH₃ in the treatments that included an inoculant. The same occurred on adding the coadjutant.

Key words: silages, coadjutant, inoculant, acidity.

1.- Universidad Nacional de Lanús, 29 de Septiembre 3901. (1826) Lanús, provincia de Buenos Aires, tel.: (011) 6322-9200 int. 105, email: mgiraudd@unla.edu.ar

2.- NutriWorld Consultora.

Manuscrito recibido el 20 de marzo de 2008 y aceptado para su publicación el 9 de septiembre de 2008.

INTRODUCCIÓN

Los forrajes, como por ejemplo las gramíneas de pastoreo, alfalfa, maíz y sorgo, son comúnmente conservados en silaje como una de las formas de preservar sus cualidades nutritivas en la alimentación del ganado. Los principios de conservación del forraje mediante el ensilado es la reducción del pH por efecto de la anaerobiosis láctica (Driehuis *et al.*, 1999).

El proceso de ensilado de forrajes de diferentes especies y estadios vegetativos puede mejorarse mediante el agregado de inoculantes que ayudan en los procesos fermentativos. La mayoría de estos inoculantes contienen bacterias homofermentativas de tipo lácticas y suplementos de diferentes composiciones para que las mismas garanticen velocidad y eficiencia en la fermentación (Ramírez, 1999).

Cada inoculante generalmente contiene una o más cepas de *Lactobacillus plantarum* y otras especies de bacterias lácticas como son los géneros *Pediococcus* o *Streptococcus*. Estas bacterias crecen rápidamente bajo una gran variedad de condiciones y producen principalmente ácido láctico cuando se multiplican usando los azúcares agregados o los propios de la pastura (Ramírez, 1999).

Los inoculantes microbianos son aplicados a los forrajes al momento de ensilar para acelerar el descenso del pH durante la etapa inicial de fermentación, su proteína por disminución de la proteólisis y desaminación inhibiendo la fermentación butírica (Seale 1986), de este modo lograr medio anaeróbico ácido en el cual el forraje se conserva.

La variación en la concentración de protones (pH) es un indicador de vital relevancia en el proceso de conservación de los

forrajes ensilados, debido a que es una de las transformaciones más radicales que aparecen durante los procesos fermentativos y tiene estrecha relación con los procesos conservativos. Es necesario que el descenso del pH sea lo más rápido posible para garantizar un hábitat desfavorable para los clostridium, reduciendo la aerobiosis en el medio y evitando así la proteólisis del forraje ensilado y la proliferación de microorganismos indeseables durante el proceso (Pezo, 1981; Muck, 1988). En este sentido, el agregado de azúcares solubles, buffers y otras sustancias (Coadyuvantes) mejoran la acción de las bacterias homofermentativas y el equilibrio de las reacciones bioquímicas iniciales tanto en los procesos de fermentación como en la posterior conservación.

La presencia de amoníaco en los ensilajes es un índice del catabolismo (proteolisis) de las sustancias nitrogenadas, principalmente proteínas. En los ensilajes bien conservados se considera como óptima una concentración menor del 7% de nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (Ojeda *et al.*, 1991).

En base a lo anterior, la medición del pH y la concentración del nitrógeno amoniacal en relación al nitrógeno total (proteína bruta), permite comparar forrajes ensilados con la adición de inoculantes y/o el efecto del agregado de coadyuvantes. Al mismo tiempo comparar la calidad de la pastura obtenida después de la fermentación (calidad en la conservación).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento de un inoculante en vías de desarrollo que se esta efectuando en la UNLa (Universidad Nacional de Lanús) comparándolo con inoculantes comerciales, y el efecto del agregado de un coadyuvante sobre ensilados de pasturas base alfalfa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó durante el mes de abril del 2006. El forraje a ensilar se obtuvo de una pastura proveniente de un ensayo de evaluación de forrajeras del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (FCA-UNLZ), ubicado en Vicente Casares, Argentina. La pastura estaba compuesta por un 80% de alfalfa (*Medicago sativa*) en estado vegetativo tardío y un 20% de cebadilla criolla (*Bromus catharticus*, Vahl) mediante cuadrado de corte y evaluación botánica. Para obtener el material a ensilar, la pastura fue cortada mecánicamente con una motoguadaña simulando el proceso que se realiza a campo. El material obtenido fue previamente oreado al aire libre durante 3 horas, luego cosechado en bolsas “ad hoc” e inmediatamente trasladado al laboratorio para ser ensilado y analizado. Entre la cosecha del material oreado y el momento del ensilado en el laboratorio transcurrieron menos de 2 horas.

El forraje cosechado (60Kg. aproximadamente) fue homogéneamente mezclado y dividido en 5 partes iguales. Cada parte fue asignada a uno de los siguientes tratamientos:

T1: Testigo (control) adición de agua destilada mediante aspersión a razón de 16mL/kg de forraje, con el fin de lograr igual humedad en todas las variables a determinar.

T2: Adición de un inoculante en desarrollo (UNLa)* mediante aspersión a razón de 16 ml/kg de forraje. Solución compuesta por 5 mL de inoculante y 11 mL de agua destilada.

T3: Adición de un inoculante comercial** mediante aspersión a razón de 16 mL/kg de forraje de una solución compuesta por 4mL de solución madre según especificaciones del fabricante (2,5g de inoculante por litro de agua) y 12mL de agua destilada.

T4: Adición del inoculante en desarrollo (Unla) y un coadyuvante comercial*** mediante aspersión de 16mL/kg de forraje de una solución compuesta por 5 mL de inoculante, 7 mL de agua destilada y 4 ml de coadyuvante.

T5: Adición de un inoculante comercial** mediante aspersión a razón de 16 mL/kg de forraje de una solución compuesta por 4mL de solución madre según especificaciones del fabricante (2,5g de inoculante por litro de agua), 4mL de coadyuvante comercial *** y 8mL de agua destilada.

(*) Inoculante UNLa: compuesto por *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, y dos diferentes *Streptococcus* spp. (Vicente *et al.*)

(**) Sill-All Water Soluble (Alltech Biotechnology S.A)

(***) Nutrisilaje (Nutriworld-división biotecnología)

Para el proceso de ensilado en laboratorio se utilizaron microsilos fabricados en tubos de PVC de 11cm de diámetro por 20cm de alto con tapas del mismo material, con un peso (vacío) de 350g. El material obtenido en cada uno de los tratamientos se ensiló mediante compactación mecánica hasta que cada microsilo pesara unos 1350g (aproximadamente se compactaron 1000g de forraje en cada microsilo), logrando así una densidad uniforme en todo el material de 0,5 kg/dm³ (similar a la obtenida “a campo”). Se efectuaron 4 microsilos por cada tratamiento. Previamente a ello, se tomó una muestra de forraje cosechado para su evaluación fisi- coquímica (día 0). Luego de compactar el material tratado hasta la densidad deseada se procedió al sellado eficiente de los microsilos con cinta adhesiva plástica para asegurar anaerobiosis. Los microsilos fueron almacenados a temperatura ambiente en área oscura hasta la evaluación. Los micro-silos fueron abiertos a los días 7, 15, 30 y 60 de iniciado el experimento.

Los cambios en la acidez fueron determinados por medición de pH mientras, que la calidad de la conservación fue evaluada mediante la determinación del nitrógeno amoniacal (N-NH₃).

Los valores de pH fueron obtenidos con pehachímetro (Polaris) en dilución acuosa del material ensilado en la relación 1:2 a los 0; 7; 15; 30 y 60 días. Se muestran en el Cuadro 1.

Los valores de nitrógeno amoniacal fueron determinados por el método de destilación y valoración ácido-base del amoniaco a los 0; 7; 15 y 30 días. Se muestran en el Cuadro 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cambios de acidez observados entre los tratamientos (efecto del inoculante y/o el efecto del agregado de coadyuvante) se muestran en el Cuadro 1. La calidad de conservación del forraje puede observarse en el Cuadro 2 (concentración de N-NH₃).

La figura 1 muestra los valores de pH del testigo conjuntamente con el promedio de valores del inoculante UNLa y el promedio de valores del inoculante comercial. Las muestras fueron agrupadas de acuerdo al tipo de inoculante. En este caso se vio claramente que, tanto los ensilados tratados como el material testigo, aumentaron la acidez a valores de pH menores a 4,5 en los primeros 25 días, siendo los valores del inoculante UNLa un poco menores que el inoculante comercial ensayado, aunque probablemente estas diferencias carezcan de significado estadístico. A los 60 días, el inoculante UNLa mantuvo los valores mas bajos de acidez (pH=4,00) indicando una clara persistencia en relación al pH del testigo y del otro inoculante (pH>4,00 en ambos casos).

La figura 2 muestra los valores de N-NH₃ del testigo, conjuntamente con valores promedio del inoculante UNLa y del inoculante comercial. Las muestras fueron agrupadas de acuerdo al inoculante utilizado. Se ob-

Cuadro 1.- Valores de pH en función del tiempo para cada tratamiento

Días	T1	T2	T3	T4	T5
0	5,89	5,89	5,79	5,89	5,84
7	4,96	4,76	4,84	4,50	4,64
15	4,10	4,11	4,24	3,90	4,48
30	3,97	4,25	4,28	3,98	4,01
60	4,37	3,99	4,60	3,86	3,99

T1: Testigo; T2: inoculante UNLa; T3: inoculante comercial; T4: inoculante UNLa + coadyuvante; y T5: inoculante comercial + coadyuvante.

Cuadro 2.- Valores de N-NH₃, mg/100g, en función del tiempo para cada tratamiento

Días	T1	T2	T3	T4	T5
0	350,00	257,00	325,50	335,30	346,80
7	381,60	376,10	471,00	416,10	459,70
15	458,30	484,10	424,60	458,80	568,10
30	727,30	467,00	568,10	404,40	493,90

T1: Testigo; T2: inoculante UNLa; T3: inoculante comercial; T4: inoculante UNLa + coadyuvante; y T5: inoculante comercial + coadyuvante

servó que todas las muestras inoculadas tuvieron, a partir de los 15 días, una concentración de N-NH₃ menor que el testigo no inoculado, lo que indicaría menor proteólisis. Nuevamente a los 30 días de ensilado, el material tratado con inoculante UNLa tuvo menor concentración de N-NH₃ que el material tratado con inoculante comercial. Fue notable que el testigo a los 30 días de ensilado mostró valores de 750 mg de N-NH₃/100 gr. de materia seca lo que indica que, a pesar de mantener niveles aceptables de acidez, la proteólisis se producía igual.

Las figuras 3 y 4 muestran el efecto del agregado de un coadyuvante sobre la acidez (pH) y el nitrógeno amoniacal en las muestras tratadas. La figura 3 promedia los

valores de pH de acuerdo al uso del coadyuvante. En el mismo se muestra claramente que el pH de los silos inoculados se mantuvo más bajo a partir de los 60 días de agregado del coadyuvante.

La figura 4 describe en función del tiempo, la concentración de N-NH₃ por el uso de un coadyuvante. En este caso, tanto los materiales tratados con coadyuvante como los no tratados, incluyendo al testigo, mostraron comportamientos similares hasta los 30 días (el testigo indicó una diferencia marcada), alcanzando concentraciones de hasta 750mg N-NH₃/100gr materia seca, en relación a los silos inoculados con y sin coadyuvante. El coadyuvante aceleró el crecimiento de las bacterias lácticas lo que fue verificado por el descenso del pH.

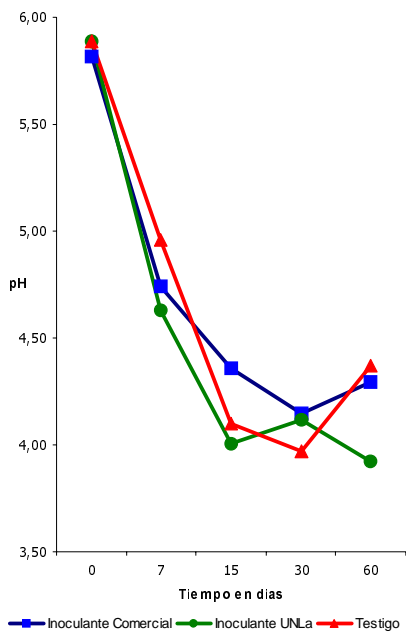


Fig. 1: Efecto del inoculante sobre el pH en función del tiempo.

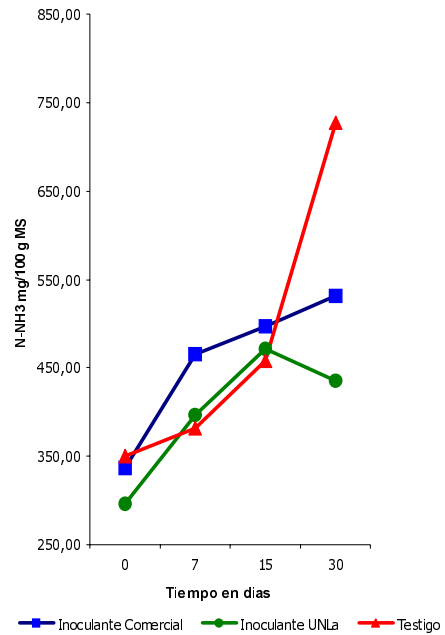


Fig. 2: Efecto del inoculante sobre el N-NH₃ en función del tiempo.

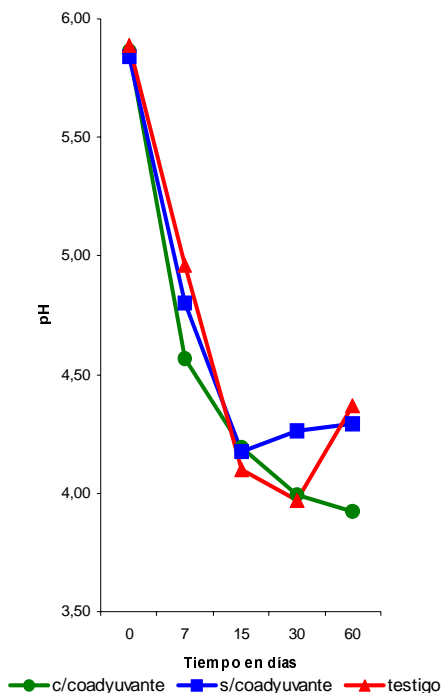


Fig. 3: Efecto del coadyuvante sobre el pH en función del tiempo.

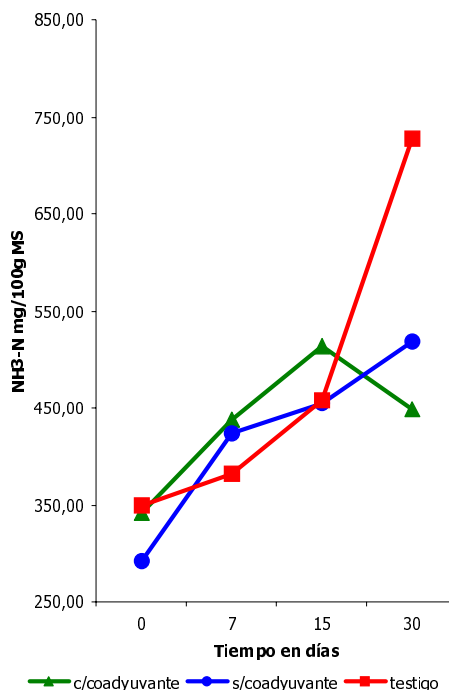


Fig.3: Efecto del coadyuvante sobre el N-NH₃ en función del tiempo.

CONCLUSIONES

No se presentan los datos fisicoquímicos del material ensilado. Los datos aportados en los cuadros y figuras 1 y 2 mostraron que la adición de inoculantes mejoró la acidez (pH) del silaje de pasturas base alfalfa, con una persistencia hasta los 60 días. El inoculante desarrollado por UNLa parecería producir pH más bajos y persistentes, aunque no fue demostrado estadísticamente. Con respecto a la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se observó claramente un efecto del agregado de inoculantes en relación al material ensilado sin estos aditivos, mostrando una menor proteólisis y por lo tanto una mejor conservación de la fracción proteica. La determinación de altos valores de N-NH₃ en forrajes ensilados se aso-

ció a una menor disponibilidad proteica y a la existencia de sustancias derivadas irritantes y/o tóxicas, particularmente cuando superaron el 7% del nitrógeno total inicial (Ojeda *et al.*, 1991). El inoculante UNLa fue el de menor valor a los 30 días porque no sobrepasó el 7% de nitrógeno amoniacal con relación al nitrógeno total. Si se sobrepasa dicho valor, aparecen como componentes de los silajes varias aminas biogénicas, principalmente histamina, tiramina y putrescina.

En base a los datos observados en los gráficos 3 y 4, se puede concluir diciendo que el agregado de coadyuvantes a silos inoculados mejoró el comportamiento de ambos inoculantes en relación al testigo, aunque no se dispuso de un testigo sin inocular, pero tratado con coadyuvante en lugar de agua destilada solamente. El efecto del coadyu-

vante podría inferirse que es pequeño en los cambios de acidez que en la concentración de $N-NH_3$. Lamentablemente el tamaño de las muestras no resultó suficiente para una mejor evaluación estadística de la interacción coadyuvante vs. tipo de inoculante, lo cual nos permitiría establecer dosis en función del tipo de inoculante o bien del tipo de pastura a ensilar.

Cabe destacar que los resultados mostraron que el material original tuvo un buen comportamiento en los cambios de acidez aún sin el agregado de aditivos. Pero no sucedió lo mismo con los datos obtenidos de $N-NH_3$, los que alcanzaron valores muy altos mostrando que, si bien el uso de aditivos no influyó mucho en la acidez, el uso de coadyuvantes potenció el efecto de los inoculantes estudiados y que, tanto la adición de inoculantes como de otros coadyuvantes, mejoró la calidad de la conservación del forraje al producir menores concentraciones de $N-NH_3$.

BIBLIOGRAFÍA

- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S. & SPOELSTRA, S.** 1999. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growths and improves aerobic stability - *Journal of Applied Microbiology*, 87, 583-594.
- MUCK, R.** 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*. 71(11): 2992-3002.
- OJEDA, F.; CÁCERES, O. & ESPERANCE, M.** 1991. Conservación de Forrajes. Editorial Pueblo y Educación. 80p.
- PEZO, D.** 1981. Ensilajes de forrajes tropicales. *En: Producción y Utilización de Forrajes en el Trópico*. Compendio. Turrialba, C. R., CATIE. p. 141-154 (Serie Materiales de Enseñanza n° 10).
- RAMIREZ, E.** 1990. Aditivos en la confección de silaje - *Marca Líquida*, 37-40.
- SEALE, D. R.** 1986. Bacterial inoculants as silage additives. *Journal of Applied. Bacteriol. Microbiology*. 61 (Suppl.): 9S-26S.
- VICENTE, F.; SCOLLO, D.; MORA, V.; GIRAUDO, M.; RAMÍREZ, E. & RECHIMONT R.** 2008. Estudio de inoculantes para el ensilado de forrajes I (en prensa).

