

Características fermentativas y estabilidad aeróbica de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*) ensilado en Puerto Rico bajo varias dosis de inóculo comercial^{1,2}

José L. Martínez,³ Abner A. Rodríguez,⁴ Federico Arias,³
Raúl Macchiavelli⁵ y Ernesto O. Riquelme⁶

J. Agric. Univ. P. R. 83(3-4):135-151 (1999)

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación de un inóculo comercial que contenía bacterias productoras de ácido láctico (IBPAL) a razón de 0, 1 ó 2 veces la dosis recomendada, sobre las características fermentativas y estabilidad aeróbica de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* var. Júpiter) cosechado a 90 d de crecimiento y picado en pedazos de 2.5 cm. Al ensilarse, el forraje se asignó a uno de tres tratamientos: sin aditivo (control) e IBPAL aplicado a la dosis recomendada y a mayor dosis (5.477 y 5.788 cfu/g de forraje fresco, respectivamente). Se abrieron tres silos por tratamiento después de 0, 2, 4, 7, 14, 28 y 56 días de fermentación y se evaluó el ensilaje en términos de pH, composición química y productos de fermentación. El uso de IBPAL, independientemente de la dosis de aplicación, no tuvo mayor efecto sobre la composición química de los ensilajes, pero aumentó la acidez y el contenido de ácido acético durante las etapas iniciales de la fermentación, y la concentración de ácido láctico después de 56 días de ensilamiento. Sin embargo, no evitó el deterioro de los ensilajes al ser expuestos al aire. Se concluye que la aplicación del inóculo comercial a la dosis recomendada mejoró ciertas características fermentativas del ensilaje de sorgo granífero, pero no favoreció la estabilidad aeróbica. No se observó ningún beneficio al aumentar la dosis del aditivo al doble de lo recomendado.

ABSTRACT

Fermentation characteristics and aerobic stability of grain sorghum (*Sorghum bicolor*) ensiled in Puerto Rico with various doses of commercial inoculum

An experiment was conducted to evaluate the effectiveness of a commercial lactic acid-producing bacterial inoculant (LAPBI) applied at 0, 1, and

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 26 de octubre de 1998.

²Esta investigación fue financiada por T-STAR/CBAG #97-34135-4714.

³Ex estudiantes Graduados, Departamento de Industria Pecuaria, Recinto Universitario de Mayagüez.

⁴Catedrático Auxiliar, Departamento de Industria Pecuaria, Recinto Universitario de Mayagüez, P.O. Box 9030, Mayagüez, P.R. 00681-9030.

⁵Catedrático Asociado, Departamento de Agronomía y Suelos, Recinto Universitario de Mayagüez.

⁶Catedrático, Departamento de Industria Pecuaria, Recinto Universitario de Mayagüez.

2 times the recommended rate to improve the fermentation characteristics and aerobic stability of grain sorghum (*Sorghum bicolor* var Jupiter) ensiled in a tropical environment. The sorghum was harvested at 90 d of growth and chopped into 2.5-cm pieces. At ensiling, three treatments were imposed: no additive (control), and LAPBI applied at the recommended (5.477 cfu/g of fresh forage) or higher rate (5.788 cfu/g of fresh forage). Three silos per treatment were opened after 0, 2, 4, 7, 14, 28, and 56 d of fermentation, and silage was analyzed for pH, chemical composition and fermentation end-products. Addition of the LAPBI did not markedly influence the chemical composition of the silages at either rate. It did increase the acidity and acetic acid content during early stages of fermentation, and the lactic acid content at 56 d post-ensiling, but did not reduce the deterioration of silage after exposure to air. It is concluded that use of the LAPBI, applied at the recommended rate, partially improved the fermentation characteristics of the grain sorghum silage, but did not enhance its aerobic stability. Doubling the application did not produce beneficial effects.

Key words: Grain sorghum, silage, commercial inoculation

INTRODUCCION

La utilización de inóculos de bacterias productoras de ácido láctico (BPAL) para mejorar la fermentación y estabilidad aeróbica de alimentos conservados ha sido el objetivo de numerosos estudios (Seale, 1986; Bolsen et al., 1992; Kung y Muck, 1997). La inoculación con BPAL aumenta la población de microorganismos deseables para la fermentación, resultando en ensilajes con un menor pH y un mayor contenido de ácido láctico. En ambientes templados, la utilización de inóculos bacterianos aplicados al forraje a la dosis recomendada por el fabricante ha producido ensilajes de mejor calidad que los ensilajes sin tratar (Bolsen, citado por Kung y Muck, 1997). En ensilajes de los forrajes *Trifolium* spp. y *Lolium multiflorum* inoculados con BPAL se promovió la disminución de pH y se redujo el contenido de N-amoniaco (Harrison et al., 1989). En Irlanda del Norte, al tratar ensilajes con un inóculo conteniendo *Lactobacillus plantarum* (Ecosyl) se mostró un beneficio potencial en términos de digestibilidad, consumo y rendimiento animal, comparados con ensilajes sin tratar (Anderson et al., 1989). Hay poca información sobre el uso de inóculos conteniendo BPAL como método para mejorar la calidad del ensilaje en ambientes tropicales. En un estudio se demostró que la adición de un inóculo comercial a sorgo forrajero mejoró la calidad del ensilaje durante la primera etapa de la fermentación, evidenciado por una reducción en pH, una mayor población de BPAL y un mayor contenido de ácido láctico (Rodríguez, 1996). Sin embargo, las características del ensilaje luego de 100 días de fermentación fueron similares a las de ensilajes sin inóculo. Estas observaciones sugieren que la actividad del inóculo podría haber sido afectada por las altas temperaturas y mayores poblaciones de microorganismos indeseables durante el transcurso de la fermentación,

que caracterizan los ensilajes tropicales al compararse con los de climas templados (Woolford, 1984; McDonald et al., 1991). Por lo tanto, los autores hipotetizan que una mayor tasa de inoculación con BPAL al momento de ensilarse podría mejorar la calidad de forrajeras ensiladas en ambientes tropicales, ya que aumentaría la posibilidad de la bacteria de competir y sobrevivir durante el transcurso de la fermentación. Contrariamente a las características fermentativas, el efecto de inóculos bacterianos sobre la estabilidad aeróbica de los ensilajes es un área de investigación que ha tenido resultados variables. En climas templados, Wolht (1989) reportó que ensilar maíz con inóculo de bacterias resultó en un pH y una temperatura menor después de cuatro días de exposición aeróbica al compararse con maíz ensilado sin inóculo. En cambio, Rust y colaboradores (1989) demostraron que la adición de inóculo bacteriano a maíz ensilado disminuyó la estabilidad aeróbica del ensilaje resultante. En ambientes tropicales la información acerca del efecto de inóculos bacterianos sobre la estabilidad aeróbica es muy limitada, por lo que se necesitan más estudios. El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de la adición de inóculo comercial, aplicado a tres dosis diferentes, sobre las características fermentativas y la estabilidad aeróbica de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* var. Júpiter), ensilado en el ambiente tropical de Puerto Rico.

MATERIALES Y METODOS

Se cultivó el sorgo granífero en la finca del Servicio de Investigación de Agricultura Tropical (TARS), ubicada en el municipio de Isabela al noroeste de Puerto Rico (18°28' y a 128 msnm). A los 90 días de crecimiento, el forraje se cosechó manualmente, se picó mecánicamente en pedazos de 2.5 cm y se analizó para determinar el contenido de materia seca (MS, 65°C/72h), N-total (AOAC, 1990), carbohidratos solubles en agua (Dubois et al., 1956) y carbohidratos estructurales (Van Soest et al., 1991). Al ensilarse el forraje, se aplicaron tres tratamientos asignados al azar a los silos: sin aditivo (control, T1); inóculo bacteriano aplicado a la dosis recomendada por el fabricante (5.477 cfu/g de forraje fresco; T2); e inóculo bacteriano aplicado a 2× la dosis recomendada (5.788 cfu/g de forraje fresco; T3). El inóculo bacteriano consistió de cepas homofermentativas de las BPAL *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus cerevisiae* (QT TRI-LAC 3300. Quali Tech Laboratories, Chaska, MN).⁷ El forraje se mezcló manualmente con el aditivo y se ensiló en mi-

⁷Las marcas de fábrica se mencionan sólo para proveer información específica. Su mención no constituye endoso o preferencia de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico a otros productos similares que no se mencionan. Tampoco constituye garantía.

crotilos construidos de PVC, con capacidad para 1.8 kg y equipados con una válvula para permitir la liberación de gases. Los microsilos se mantenían a temperatura ambiente (26 a 29°C). El tratamiento control requirió la adición de una cantidad de agua similar a la de los tratamientos con inóculo, en los cuales se diluyó el inóculo en agua a razón de 2.3 g/L en el T2 y 4.6 g/L en el T3).

Para determinar las características fermentativas, se abrieron tres silos por tratamiento después de 0, 2, 7, 14, 28 y 56 días de fermentación. El ensilaje se evaluó para determinar pH, cambios en composición química y productos de fermentación. Para la determinación del pH, se mezcló 450 ml de agua destilada (pH 7.0) con 50 g del ensilaje correspondiente a cada día de la fermentación y se agitó manualmente por espacio de cinco minutos. La solución homogenizada se filtró a través de cuatro capas de gasa de tela esterilizada. El extracto se utilizó para medir el pH usando un electrodo de combinación (Bekman 50 pH Meter Bekman Instruments, Fullerton, CA) estandarizado de pH 4 a 7 utilizando soluciones amortiguadoras comerciales (Fisher Scientific, Fair Lawn, NY). La composición química se analizó como previamente descrito para el material fresco. El extracto de la solución homogenizada de cada tratamiento correspondiente a cada intervalo de fermentación fue utilizado para analizar los productos de fermentación, que incluyeron: contenido de N-amoniaco [Método de oxidación (Strickland y Parson, 1972)] y ácidos orgánicos por cromatografía de gases (HP 5890GC, Series 2, Hewlett Packard CO, Wilmington, DE, USA).

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza para un diseño completamente aleatorizado, con un arreglo factorial de tratamientos, con tres dosis de inoculación y siete intervalos de fermentación (Steel y Torrie, 1980), utilizando el procedimiento de Modelo Lineal General en SAS (1990). Se utilizó la prueba de Bonferroni para la separación de medias.

Para evaluar la estabilidad aeróbica de los ensilajes resultantes, se abrieron microsilos en triplicado de cada tratamiento después de 56 días de fermentación. Muestras de cada silo (400 g) se dejaron expuestas al medio ambiente por tres días en bolsas plásticas situadas en envases de isopor. Después de 0, 1 y 3 d de exposición aeróbica, el ensilaje se analizó para determinar pH, composición química y productos de fermentación, como previamente descrito. Además, se observó la temperatura dos veces al día durante los tres días de exposición aeróbica, utilizando termómetros situados en la masa del ensilaje. La degradación *in vitro* de la materia seca se determinó por el método de Tilley y Terry (1963) (primera etapa). La recuperación de la materia seca se calculó después de uno y tres días de exposición aeróbica utilizando el peso inicial y final del ensilaje expuesto a condiciones aeróbicas, corregido por el contenido

de materia seca, que fue determinado secando las muestras a 65°C durante 72 horas después de cada período de exposición aeróbica.

Los datos del efecto del aditivo sobre la estabilidad aeróbica se analizaron de la misma manera que en la evaluación de las características fermentativas, con excepción del arreglo factorial de tratamientos, que consistió de tres dosis de inoculación y tres períodos de exposición aeróbica.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características fermentativas

La composición química y el pH del sorgo granífero utilizado en este experimento (Cuadro 1) coincide con valores previamente reportados para gramíneas cosechadas en ambientes tropicales (Vicente-Chandler et al., 1983; Van Soest, 1994). El forraje tuvo en promedio un pH inicial de 6.53, y un contenido de 40.86% de materia seca, 94.51% de materia orgánica, 8.58% de carbohidratos solubles en agua (CSA), 62.49% de paredes celulares y 1.17% de nitrógeno total en base seca.

Luego de dos días de ensilamiento, la acidez fue mayor (pH menor, $P < 0.05$) en sorgo tratado con el inóculo aplicado a la dosis recomendada comparado con ensilaje sin aditivo, pero fue similar a la del sorgo tratado con la dosis duplicada de inóculo (Cuadro 2). No se observaron diferencias significativas en pH debido a tratamientos durante los otros intervalos de ensilamiento. En todos los tratamientos, el pH disminuyó a través del transcurso de la fermentación, pero este cambio tendió a ser más rápido en los ensilajes con aplicación de inóculo bacte-

CUADRO 1.—Composición química y pH del sorgo granífero (*Sorghum bicolor* var. *Júpiter*) antes de ensilarse en Puerto Rico.

Componente	Media	Desviación estándar
pH	6.53	0.06
Composición química		
M.S., g/100 g	40.86	3.33
M.O. ¹	94.51	0.72
CSA ¹	8.58	3.09
FDN ¹	62.49	3.55
FDA ¹	44.15	5.14
Hemicelulosa ¹	18.33	1.96
Nitrógeno Total ¹	1.17	0.13

¹g/100 g M.S.

CUADRO 2.— Efecto del tratamiento y día de ensilamiento sobre el pH y la composición química de sorgo granífero ensilado en Puerto Rico.

Componente	Día	Tratamiento ¹			Probabilidad			
		SA	1×	2×	ESM ²	T ³	D ⁴	T×D ⁵
pH	0	6.50	6.56	6.53	0.08	0.001c	0.001e	0.001e
	2	5.00a ⁶	4.28b	4.35b				
	4	4.61	4.32	4.39				
	7	4.54	4.27	4.29				
	14	4.33	4.31	4.48				
	28	4.29	4.22	4.31				
	56	4.36	4.29	4.50				
Composición química ⁷								
CSA	0	9.30	7.77	8.67	1.32	0.115	0.001	0.588
	2	4.35	3.50	5.49				
	4	5.34	6.22	2.44				
	7	5.64	5.89	5.34				
	14	6.41	6.34	4.55				
	28	7.53	7.23	4.24				
	56	6.47	8.95	5.66				
N-total	0	1.08	1.20	1.23	0.07	0.551	0.310	0.613
	2	1.18	1.21	1.31				
	4	1.31	1.29	1.15				
	7	1.22	1.26	1.26				
	14	1.28	1.29	1.28				
	28	1.33	1.28	1.18				
	56	1.29	1.40	1.27				
FDN	0	64.74	59.58	62.86	2.61	0.051	0.060	0.961
	2	61.58	57.56	59.93				
	4	61.70	58.52	59.30				
	7	61.53	58.35	61.96				
	14	60.09	58.85	61.74				
	28	60.54	61.87	62.56				
	56	57.21	50.41	58.51				

¹SA: sin aditivo; 1×: inóculo aplicado a la dosis recomendada; 2× inóculo aplicado al doble de la dosis recomendada.

²Error estándar de las medias.

³Efecto de tratamiento.

⁴Efecto de día de ensilamiento.

⁵Interacción entre tratamiento y día de ensilamiento.

⁶Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (a, b) en la misma fila difieren ($P < 0.05$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

⁷g/100 g MS.

CUADRO 2.—(Continuación) Efecto del tratamiento y día de ensilamiento sobre el pH y la composición química de sorgo granífero ensilado en Puerto Rico.

Componente	Día	Tratamiento ¹			ESM ²	Probabilidad		
		SA	1×	2×		T ³	D ⁴	T×D ⁵
FDA	0	43.72	42.24	46.50	2.29	0.240	0.001	0.980
	2	47.00	44.35	46.06				
	4	47.36	44.77	49.20				
	7	48.70	47.11	49.17				
	14	48.98	48.22	47.53				
	28	51.60	53.59	52.45				
	56	45.36	42.66	46.48				
Hemicelulosa	0	21.01	17.65	16.35	1.83	0.216	0.001	0.578
	2	14.58	13.20	13.87				
	4	14.34	13.74	10.09				
	7	12.83	11.24	12.78				
	14	11.10	10.63	14.21				
	28	8.94	8.28	10.11				
	56	11.84	7.74	12.03				

¹SA: sin aditivo; 1×: inóculo aplicado a la dosis recomendada; 2× inóculo aplicado al doble de la dosis recomendada.

²Error estándar de las medias.

³Efecto de tratamiento.

⁴Efecto de día de ensilamiento.

⁵Interacción entre tratamiento y día de ensilamiento.

⁶Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (a, b) en la misma fila difieren ($P < 0.05$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

⁷g/100 g MS.

riano a cualquiera de las dos dosis estudiadas. Sin embargo, no se logró en ningún tratamiento un pH final menor o igual a 4.2, que representa la acidez recomendada para definir un ensilaje como estable y de alta calidad (Ulveldi, citado por McCullough, 1978). Estos resultados coinciden con experimentación previa realizada en el mismo ambiente tropical, donde se demostró que la adición de inóculos conteniendo bacterias productoras de ácido láctico disminuyó el pH en ensilajes de sorgo forrajero y de yerba Johnson durante las primeras etapas de fermentación, pero no resultó en ensilajes más ácidos luego de 40 y 60 días de ensilamiento (Rodríguez, 1996).

La inoculación del sorgo granífero con el aditivo utilizado en este experimento a niveles 1 ó 2 veces la dosis recomendada, no afectó la composición del ensilaje durante el transcurso de la fermentación. En todos los tratamientos, el contenido de carbohidratos solubles en agua

disminuyó ($P < 0.05$) rápidamente durante los primeros días de ensilamiento, manteniéndose posteriormente constante. Esta temprana disminución en el contenido de CSA es indicativa de una mayor actividad metabólica de la microflora durante las primeras fases de ensilamiento (fases de respiración, producción de ácido acético y de ácido láctico). El contenido de N-total se mantuvo relativamente constante, mientras que el contenido de paredes celulares disminuyó. Dicha disminución podría estar asociada con la hidrólisis parcial de la fracción hemicelulosa del forraje debido a las condiciones ácidas dentro del silo. Los productos de esta posible hidrólisis de hemicelulosa también podría explicar la variabilidad en el contenido de CSA de los ensilajes luego de la primera semana de ensilamiento. La variabilidad observada en el contenido de FDA durante el transcurso de la fermentación en todos los tratamientos, no presentó ningún patrón definido. Esto podría deberse a la resistencia de sus componentes (mayormente ligno-celulosa) en las condiciones ácidas o la actividad microbiana. Estos cambios en composición química en los ensilajes de sorgo granífero con independencia al uso del inóculo concuerdan con observaciones realizadas en climas sub-tropicales con yerba bermuda (Dawson, 1989) o en climas tropicales con sorgo forrajero y yerba guinea (Panditharatne et al., 1986; Tjandraadmadja et al., 1991). Sin embargo, nuestros resultados difieren de los obtenidos en otros experimentos donde se reportaron efectos significativos en los componentes químicos durante el transcurso de la fermentación, en ensilajes tropicales o sub-tropicales, debido a la adición de inóculos de bacterias productoras de ácido láctico (Dawson, 1989; Rodríguez, 1996).

El contenido de ácido acético fue menor ($P < 0.05$) luego de dos y siete días de fermentación en ensilajes con aplicación del inóculo bacteriano a $1\times$ ó $2\times$ la dosis recomendada, al compararse con sorgo ensilado sin aditivo (Cuadro 3). Sin embargo, no se observaron diferencias entre las dos dosis de inoculación. Los ensilajes obtenidos en este experimento no tuvieron alto contenido de acetato luego de 56 días de fermentación, lo que está en desacuerdo con estudios previos, que relacionan ensilajes tropicales con altos contenidos de ácido acético y bajos contenidos de ácido láctico (Catchpoole y Henzel, 1971). Estas diferencias entre experimentos en las concentraciones finales de ácidos orgánicos podrían deberse a la especie forrajera utilizada o a la duración del proceso fermentativo. Es bien conocido que ensilar forrajeras con un bajo contenido de carbohidratos solubles (e.g., leguminosas tropicales) y largos períodos de ensilamiento resultan en fermentaciones con alto contenido de acetato, mientras que en forrajeras con un contenido adecuado de CSA, su ensilamiento durante períodos cortos resulta en ensilajes con mayores concentraciones de ácido láctico.

CUADRO 3.—Efecto del tratamiento y día de ensilamiento sobre los productos de fermentación de sorgo granífero ensilado en Puerto Rico.

Producto de fermentación (g/100 g MS)	Día	Tratamiento ¹			ESM ²	Probabilidad		
		SA	1×	2×		T ³	D ⁴	T ³ D ⁵
Acido acético	0	0.90	0.84	0.90	0.04	0.001	0.001	0.050
	2	0.94a ⁶	0.71b	0.77ab				
	4	0.71	0.64	0.56				
	7	0.69a	0.48b	0.49b				
	14	0.55	0.50	0.37				
	28	0.46	0.43	0.44				
	56	0.24	0.15	0.19				
Acido láctico	0	0.00	0.00	0.00	0.04	0.001	0.001	0.001
	2	0.05	0.06	0.07				
	4	0.13	0.21	0.28				
	7	0.12b	0.60a	0.65a				
	14	0.19b	0.49a	0.67a				
	28	0.21c	0.67b	0.93a				
	56	0.32b	1.16a	1.14a				
Acido butírico	0	0.00	0.00	0.00	0.01	0.001	0.001	0.260
	2	0.00	0.00	0.00				
	4	0.00	0.00	0.00				
	7	0.00	0.00	0.00				
	14	0.00	0.00	0.00				
	28	0.02	0.05	0.04				
	56	0.01	0.03	0.03				
N-NH ₃	0	0.00	0.00	0.00	0.01	0.001	0.001	0.041
	2	0.10a	0.04b	0.02b				
	4	0.08a	0.05ab	0.03b				
	7	0.11a	0.05ab	0.05b				
	14	0.10a	0.03b	0.05b				
	28	0.12	0.08	0.09				
	56	0.12	1.09	1.11				

¹SA: sin aditivo; 1×: inóculo aplicado a la dosis recomendada; 2× inóculo aplicado al doble de la dosis recomendada

²Error estándar de las medias

³Efecto de tratamiento

⁴Efecto de día de ensilamiento

⁵Interacción entre tratamiento y día de ensilamiento

⁶Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (a, b) en la misma fila difieren (P < 0.05). Se presentan las medias basadas en n = 3 repeticiones.

⁷Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (y, z) en la misma fila difieren (P < 0.10). Se presentan las medias basadas en n = 3 repeticiones.

CUADRO 3.—(Continuación) Efecto del tratamiento y día de ensilamiento sobre los productos de fermentación de sorgo granífero ensilado en Puerto Rico.

Producto de fermentación (g/100 g MS)	Día	Tratamiento ¹			ESM ²	Probabilidad		
		SA	1×	2×		T ³	D ⁴	T ⁵ D ⁶
N-NH ₃ /	0	4.16	0.68	2.81	0.81	0.001	0.001	0.082
N-Total (%)	2	8.59y ⁷	3.42z	2.31z				
	4	6.35y	2.21z	2.65z				
	7	9.59y	4.69z	4.52z				
	14	8.00y	4.95yz	4.01z				
	28	9.25	6.41	7.90				
	56	9.58	6.76	8.69				

¹SA: sin aditivo; 1×: inóculo aplicado a la dosis recomendada; 2× inóculo aplicado al doble de la dosis recomendada

²Error estándar de las medias

³Efecto de tratamiento

⁴Efecto de día de ensilamiento

⁵Interacción entre tratamiento y día de ensilamiento

⁶Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (a, b) en la misma fila difieren ($P < 0.05$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

⁷Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (y, z) en la misma fila difieren ($P < 0.10$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

El ácido láctico fue el principal producto asociado con la fermentación de sorgo granífero, lo que se asemeja a los resultados de estudios realizados bajo condiciones tropicales en ensilaje de caña de azúcar (Kung y Stanley, 1982) y sorgo forrajero (Rodríguez, 1996). Se observó una mayor ($P < 0.05$) concentración de ácido láctico en ensilajes tratados con el aditivo de bacterias del día 7 al 56 de fermentación al compararse con ensilajes sin inóculo, pero la mayor dosis de inoculación no resultó en ensilajes con mayor contenido de ácido láctico. Este resultado es cónsono con la falta de un efecto de la dosis de inoculación sobre el contenido de ácido acético. En estudios previos realizados con ensilajes de sorgo forrajero en el mismo clima tropical, la inoculación con BPAL incrementó el contenido de ácido láctico solamente durante los primeros 14 días de fermentación (Rodríguez, 1996); en nuestro experimento, luego de 56 días, el contenido de ácido láctico seguía siendo mayor en los ensilajes tratados con inóculo bacteriano que en los ensilajes no tratados. Sin embargo, el contenido final de lactato no llegó a 1.5% del forraje en base seca, que constituye la concentración mínima requerida para que un ensilaje sea considerado de alta calidad, o en otras palabras que sea producto de una fermentación homoláctica (Ulvelsi, citado por McCullough, 1978).

Los cambios en productos de fermentación observados en este experimento no coinciden con los cambios concurrentes en acidez, lo que podría ser indicativo de que la ecología microbiana asociada con la fermentación fue heterogénea y de que se utilizaron diferentes sustratos a lo largo de los 56 días de ensilamiento. En otros estudios realizados en climas tropicales también se han reportado fermentaciones poco estables durante el período de ensilaje, con cambios no definidos en componentes químicos, poblaciones microbianas y productos de fermentación (Panditharatne et al., 1986; Tjandraadmadja et al., 1991; Rodríguez, 1996). Además, la baja concentración final de ácido láctico y el bajo contenido de carbohidratos residuales observados en este experimento sugieren poca actividad de los microorganismos asociados con la hidrólisis de oligosacáridos. También es posible una elevada tasa de producción y utilización de ácido láctico por parte de la microflora láctica dentro del silo. Las diferencias en actividad entre diversos inóculos comerciales evaluados bajo condiciones tropicales podría atribuirse a la cepa bacteriana utilizada (e.g., *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae*), a la composición química de las especies forrajeras ensiladas, a la presencia de poblaciones de microorganismos no deseables antes y durante el proceso fermentativo o a la inhabilidad de los microorganismos a competir bajo condiciones típicas encontradas en ensilajes tropicales (e.g., altas temperaturas).

En los tres tratamientos experimentales no se detectó la presencia de ácido propiónico en ningún momento y solamente se observaron contenidos bajos de ácido butírico después de la cuarta semana de ensilamiento. Sin embargo, la concentración de este ácido no fue lo suficientemente alta para alterar el proceso de fermentación. Esto coincide con estudios previos que demostraron poco o ningún efecto de la adición de inóculos bacterianos sobre la producción de estos ácidos orgánicos (McDonald et al., 1991). El contenido de N-amoniaco fue mayor ($P < 0.05$) en sorgo sin aditivo después de 2, 4, 7 y 14 días de ensilamiento al compararse a los ensilajes de sorgo con el inóculo. El incrementar la dosis de inoculación tampoco afectó la producción de amoniaco en el ensilaje resultante. Se observaron algunas diferencias ($P < 0.10$) en el contenido de N-amoniaco como porcentaje del N-total entre tratamientos experimentales. Los ensilajes con el inóculo bacteriano tuvieron menores valores de este criterio durante la mayor parte del proceso fermentativo, lo que es indicativo de una mayor hidrólisis de compuestos nitrogenados en ensilajes sin aditivo.

Estabilidad aeróbica

Está bien documentado que el deterioro aeróbico de ensilajes ocurre como resultado del metabolismo de azúcares residuales y ácidos orgánicos por microorganismos (bacterias aeróbicas, hongos, levaduras) y que

puede ser detectado por incrementos en pH y temperatura (Spoeltra et al., 1988). En este experimento, en ensilajes tratados con el inóculo bacteriano a la dosis recomendada y expuestos a condiciones aeróbicas durante tres días, se observaron incrementos en dichos criterios ($P < 0.10$) al compararse con ensilajes sin aditivos (Cuadro 4). Durante el primer día de exposición aeróbica el contenido de CSA residual, tendió ($P < 0.10$) a ser mayor en ensilajes tratados con el inóculo bacteriano a la dosis recomendada que en los ensilajes tratados con la dosis doble, pero fue similar entre el ensilaje inoculado $1\times$ y los ensilajes sin aditivos. No se encontraron diferencias atribuibles a la inoculación sobre la hidrólisis de CSA después de 1 ó 3 d de exposición aeróbica.

En todos los ensilajes el contenido de ácido butírico se mantuvo constante durante el período de exposición aeróbica. El contenido de ácido láctico después de 0 y 1 d de exposición aeróbica fue mayor ($P < 0.01$) al compararse con sorgo ensilado sin aditivo. Sin embargo, la disminución de ácido láctico durante el primer día de exposición aeróbica fue mayor en ensilajes con el inóculo microbiano, desapareciendo el mismo en los tres tratamientos luego de tres días de exposición. Los cambios en CSA residual y concentraciones de ácido láctico observados en este experimento sugieren que éstos podrían estar asociados con el deterioro de los ensilajes expuestos al aire, ocasionado por levaduras que utilizan azúcares (*Saccharomyces cerevisiae*) o ácido láctico (*Candida krusei*) como sustrato, así como bacterias productoras de ácido acético, que oxidan alcoholes a ácido acético, y ácido acético y ácido láctico a CO_2 y H_2O .

Los resultados indican que la utilización de inóculo de bacterias no evitó el deterioro del ensilaje de sorgo granífero luego de ser expuesto a condiciones aeróbicas. En experimentos previos (Rodríguez, 1996), se demostró que la adición de inóculos bacterianos mejoró las características fermentativas de ensilaje de sorgo, pero resultó en la producción de ensilajes más inestables que los ensilajes sin aditivo. En ambientes templados, Lindgren y colaboradores (1985) encontraron que en forrajeras ensiladas con inóculos microbianos predomina la fermentación tipo homoláctica, lo que reduce las pérdidas energéticas durante el período de almacenamiento, pero que éstos no resisten más el deterioro una vez expuestos al aire. Rust y colaboradores (1989) también indicaron que un aumento en la producción de ácido láctico, mediante fermentaciones homolácticas, podría resultar en ensilajes menos estables al exponerse a condiciones aeróbicas. El acelerar la producción de ácido láctico mediante una fermentación más homoláctica podría también afectar negativamente la producción de ácidos orgánicos de cadena corta (Woolford, 1975). Se ha demostrado que tanto el ácido acético como el propiónico tienen funciones bacteriostáticas o micostáticas y su presencia mejora la estabilidad aeróbica de los ensilajes (Pitt et al., 1991).

CUADRO 4.—Efecto del tratamiento y día de exposición aeróbica sobre el pH, la temperatura, contenido de carbohidratos solubles en agua (CSA) y los productos de fermentación de sorgo granífero ensilado en Puerto Rico.

Componente	Día	Tratamiento ¹			Probabilidad			
		SA	1x	2x	ESM ²	T ³	D ⁴	T ⁵ D ⁵
pH	0	4.36	4.29	4.54	0.49	0.175	0.028	0.095
	1	4.13	4.07	4.09				
	3	4.08z ⁶	6.60y	5.09yz				
Temperatura (°C)	0	26.70	26.70	26.70	2.32	0.090	0.001	0.060
	1	27.80	27.80	27.60				
	3	27.96z	41.33y	34.63yz				
CSA (g/100 g MS)	0	6.57z	8.45y	5.66yz	0.70	0.032	0.001	0.101
	1	2.96	2.70	2.22				
	3	3.48	2.11	1.26				
Productos de fermentación (g/100 g MS)								
Acido acético	0	0.24	0.15	0.19	0.35	0.044	0.359	0.842
	1	0.21	0.17	0.18				
	3	0.27	0.16	0.25				
Acido láctico	0	0.32b ⁷	1.16a	1.14a	0.03	0.001	0.001	0.001
	1	0.32b	0.54a	0.56a				
	3	0.00	0.00	0.00				
Acido butírico	0	0.01	0.03	0.03	0.01	0.001	0.001	0.200
	1	0.04	0.07	0.07				
	3	0.04	0.04	0.04				

¹SA: sin aditivo; 1x: inóculo aplicado a la dosis recomendada; 2x inóculo aplicado al doble de la dosis recomendada

²Error estándar de las medias

³Efecto de tratamiento

⁴Efecto de día de ensilamiento

⁵Interacción entre tratamiento y día de ensilamiento

⁶Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (y, z) en la misma fila difieren ($P < 0.10$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

⁷Medias entre tratamientos seguidas por letras diferentes (a, b) en la misma fila difieren ($P < 0.05$). Se presentan las medias basadas en $n = 3$ repeticiones.

No se encontraron diferencias atribuibles a la dosis de inóculo bacteriano sobre la degradabilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) (Figura 1). Sin embargo, independientemente del tratamiento experimental, la DIVMS disminuyó ($P < 0.05$) de 69.12 a 60.16% a medida que aumentó el período de exposición aeróbica. Este cambio podría ser el resultado de la utilización de los CSA, ácidos orgánicos y otros sus-

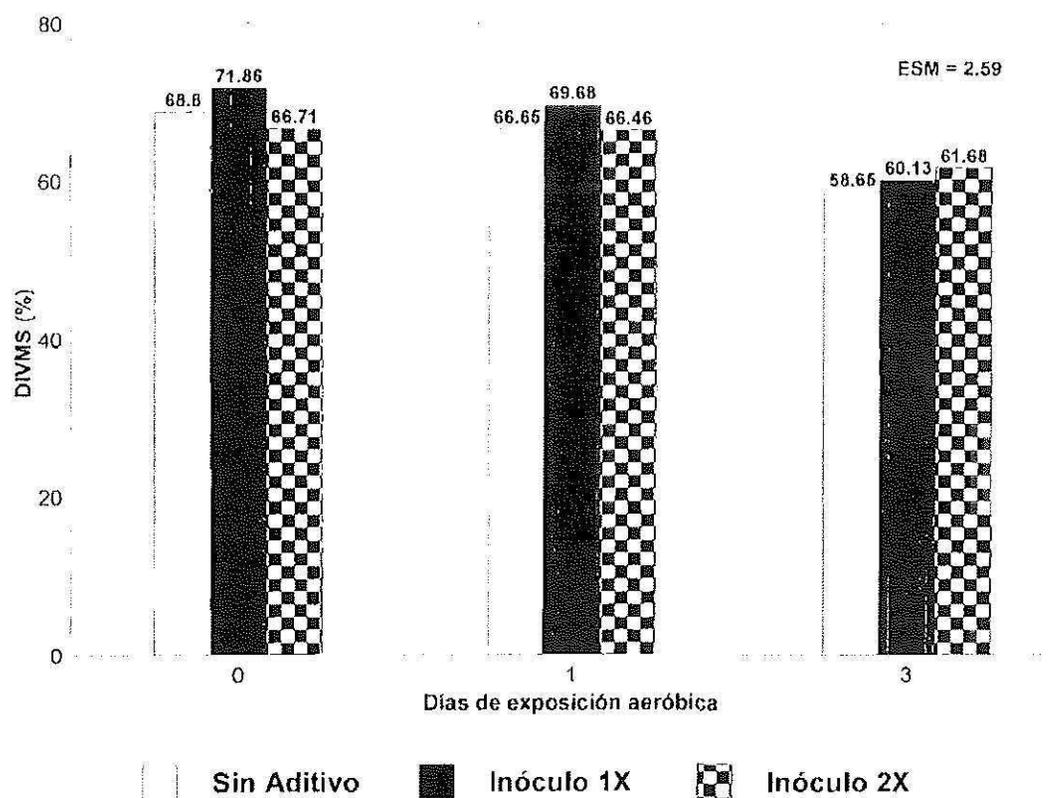


FIGURA 1. Efecto del tratamiento y días de exposición aeróbica sobre la degradabilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) de sorgo granífero ensilado en un ambiente tropical.

tratos altamente digeribles por los microorganismos responsables del deterioro del ensilaje, como bacterias aeróbicas, hongos y levaduras, con un incremento correspondiente en el contenido de material vegetativo no digerible.

Las pérdidas en contenido de materia seca fueron similares para los tres tratamientos (Figura 2). Estos resultados indican que la utilización del aditivo con BPAL no mejoró la recuperación de la MS independientemente de su dosis de aplicación. En general, la prolongación de la exposición del ensilaje a condiciones aeróbicas de 1 a 3 d disminuyó ($P < 0.01$) la recuperación de MS de 98.88% a 96.87%. Esto evidencia que cuanto más largo es el período de exposición al aire, mayores son las pérdidas en el contenido de MS. En otros estudios con ensilaje de sorgo forrajero, se demostró también que la adición de inóculos bacterianos no evitó la disminución en degradabilidad y recuperación de MS y que el deterioro del ensilaje fue mayor según aumentó el período de exposición aeróbica (Rodríguez, 1996).

Se concluye que la utilización del inóculo aplicado a la dosis recomendada como aditivo para ensilaje fue efectiva al aumentar la

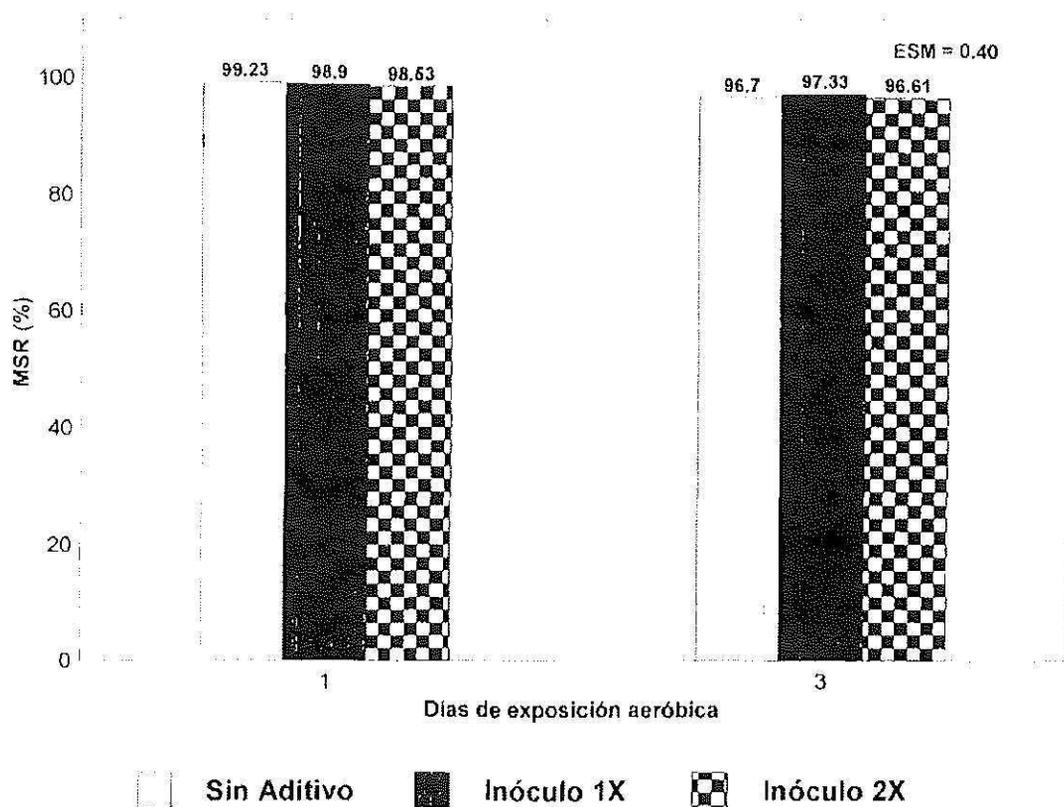


FIGURA 2. Efecto del tratamiento y días de exposición aeróbica sobre la materia seca recuperada (MSR) de sorgo granífero ensilado en un ambiente tropical.

concentración de ácido láctico y disminuir el contenido de nitrógeno amoniacal luego de 56 días de fermentación. Sin embargo, las características fermentativas finales (e.g., pH, contenido de ácidos orgánicos) del ensilaje inoculado no permiten clasificarlo como uno de alta calidad. Este ensilaje tampoco fue más estable a condiciones aeróbicas. El incrementar al doble la dosis de inoculación no afectó el proceso fermentativo ni la estabilidad aeróbica.

LITERATURA CITADA

- Anderson, R., H. I. Gracey, S. J. Kennedy, E. F. Unsworth and R. W. J. Steen, 1989. Evaluation studies in the development of a commercial bacterial inoculant as an additive for grass silage. 1. Using pilot-scale tower silo. *Grass and Forage Sci.* 44:361.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bolsen, K. K., C. Lin, B. E. Brent, A. M. Feyerherm, J. E. Urban and W. R. Aimutis, 1992. Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci.* 75:3036.
- Catchpoole, V. R. and E. F. Henzell, 1971. Silage and silage making from tropical herbage species. *Herbage Abst.* 41:3.

- Dawson, T. E., 1989. Effects of microbial inoculation on the silage quality of round bale bermuda grass silage. M.S. Thesis, University of Florida, Gainesville.
- Dubois, M. K., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28:350.
- Harrison, J. H., S. D. Soderlund and K. A. Loney, 1989. Effect of inoculation rate of selected strains of lactic acid bacteria on fermentation and in vitro digestibility of grass-legume forage. *J. Dairy Sci.* 72:2421.
- Kung, L. Jr. and R. W. Stanley, 1982. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. *J. Anim. Sci.* 54:689.
- Kung, L. and R. Muck, 1997. Animal response to silage additive. Proc. Silage: Field to Feedbunk. North America Conference. NRAES-99:200.
- Lindgren, S. E., K. Petterson, A. Johnson, P. Linguall and A. Kaspersson, 1985. Silage inoculation-selected strain, temperature, wilting and practical applications. *Swed. J. Agric. Res.* 15:9.
- McCullough, M. E., 1978. Silage: some general considerations. In M. E. McCullough (ed.). Fermentation of Silage—A review. National Feed Ingredients Association. West Des Moines, IA.
- McDonald, P., A. R. Henderson and S. J. Heron, 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd Ed. Chalcombe Publ. Cambriam Printers Ltd., Aberystwyth, UK.
- Panditharatne, S., V. G. Allen, J. P. Fontenot and M. C. N. Jayasuriya, 1986. Ensiling characteristics of tropical grasses as influenced by stage of growth and chopping length on digestibility and palatability of guinea—a grass silage. *J. Anim. Sci.* 66:1005.
- Pitt, R. E., Y. Liu, and R. E. Muck, 1991. Simulation of the effect of additives on aerobic stability of alfalfa and corn silages. *Trans. ASAE.* 34:1633.
- Rodríguez, A. A., 1996. Studies on the efficacy of a homofermentative lactic acid-producing bacterial inoculant and commercial, plant cell-wall degrading enzyme mixtures to enhance the fermentation characteristics and aerobic stability of forages ensiled in temperate and tropical environments. Ph.D. Dissertation, Michigan State University, East Lansing.
- Rust, S. R., M. S. Kim and G. L. Enders, 1989. Effects of a microbial inoculant on fermentation characteristics and nutritive value of corn silage. *J. Prod. Agric.* 2:235.
- SAS Institute, Inc., 1990. SAS/STAT User's Guide (Version 6). SAS Inst., Inc., Cary, NY.
- Seale, D. R., 1986. Bacterial inoculants as silage additives. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Supp.* 9S.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie, 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2nd Ed. McGraw Hill, NY. USA.
- Spoeltra, S. F., M. G. Courtin and J. A. VanBeers, 1988. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole-corn maize silage. *J. Agric. Sci.* 111:127.
- Strickland, J. and S. Parsons, 1972. Practical Handbook of Sea Water Analysis. Canada. 310 pp.
- Tjandraatmadja, M., B. W. Norton and I. C. Mac Rae, 1991. Fermentation patterns of forage sorghum ensiled under different environmental conditions. *World J. Microb. and Biotech.* 7:206-218.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry, 1963. A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grass Soc.* 18:104.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583.
- Van Soest, P. J., 1994. Forage Conservation. In P. J. Van Soest. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd Ed. Cornell University Press.

- Vicente-Chandler, J., F. Abruna, R. Caro-Costas and S. Silva, 1983. Producción y utilización intensiva de las forrajeras en Puerto Rico. Bol. 271. Univ. PR, EEA, Río Piedras, PR.
- Wolft, J. E., 1989. Use of silage inoculant to improve feeding stability and intake of a corn silage grain diet. *J. Dairy Sci.* 72:545.
- Woolford, M. K., 1975. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C₁-C₁₂) as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.* 26:229.
- Woolford, M. K., 1984. *The Silage Fermentation*. Marcel Dekker, Inc. New York, NY.