

PRESERVACION DEL FORRAJE RYE GRASS  
(LOLIUM MULTIFLORUM) CON LA ADICION DE BACILOS LACTICOS  
O BACITRACINA DE CINC

Tesis presentada ante la  
Division de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la

Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista

por

MIGUEL OCHOA RIVERA

Asesores: José Luis Laparra

Ricardo R. Navarro Fierro

México, D.F.

1984

0275

1. Pastro - Propagación  
2. emileje



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis padres por darme todo el apoyo a lo largo de mis estudios

A mis hermanos.

A María Eugenia Herrera Alberú, por su ayuda y apoyo.

A mis asesores, por su orientación en el desarrollo de esta investigación.

A Comercial Reka y Laboratorios Ciba-Geigy por proporcionar los aditivos utilizados en este trabajo.

Y a todas las personas que de una u otra manera intervinieron en la realización de este estudio.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	3
MATERIAL Y METODOS .....	8
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	8
METODOS QUIMICOS .....	9
METODOS ESTADISTICOS .....	9
RESULTADOS Y DISCUSION .....	10
LITERATURA CITADA .....	25
ANEXOS .....	27

## LOCALIZACION DE FIGURAS Y CUADROS

	<u>Página</u>
FIGURA 1 Materia seca durante el período de fermentación del forraje Rye grass adicionado con preservadores .....	11
FIGURA 2 Proteína cruda durante el período de fermentación del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	13
FIGURA 3 Acido láctico durante el período de fermentación del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	16
FIGURA 4 Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total durante el período de fermentación del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	19
FIGURA 5 pH durante el período de fermentación del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	23
CUADRO 1 Porcentajes de materia seca del forraje Rye grass adicionado con preservadores durante el período de fermentación.....	12
CUADRO 2 Porcentajes de proteína cruda del forraje Rye grass adicinado con preservadores durante el período de fermentación.....	14
CUADRO 3 Promedios de los análisis realizados al forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	17
CUADRO 4 Porcentajes de ácido láctico del forraje Rye grass adicionado con preservadores durante el período de fermentación.....	18
CUADRO 5 Porcentajes de nitrógeno amoniacal del forraje Rye grass adicionado con preservadores durante el período de fermentación.....	20
CUADRO 6 pH del forraje Rye grass adicionado con preservadores durante el período de fermentación.....	22

## LOCALIZACION DE ANEXOS

	<u>Página</u>
ANEXO 1 Análisis de la varianza para materia seca del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	28
ANEXO 2 Análisis de la varianza para proteína cruda del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	29
ANEXO 3 Análisis de la varianza para ácido láctico del forraje Rye grass adicionado con preservadores.....	30
ANEXO 4 Análisis de la varianza para nitrógeno amoniacal del forraje Rye grass adicionado con preservadores....	31
ANEXO 5 Análisis de la varianza para pH del forraje Rye grass adicionado con preservadores. ....	32

## R E S U M E N

OCHOA RIVERA, MIGUEL. Preservación del forraje Rye grass (Lolium multiflorum) con la adición de bacilos lácticos o bacitracina de cinc. (Bajo la dirección de José Luis Laparra y Ricardo R. Navarro Fierro).

Para estudiar los cambios que sufren los nutrimentos del forraje Rye grass (Lolium multiflorum variedad gulf) tratado con aditivos en silos de laboratorio, se procedió a ensilar el forraje adicionado de bacilos lácticos, bacitracina de cinc y un testigo, al cual no se le agregó ningún aditivo. Se utilizaron microsilos con capacidad de 250 g de forraje, analizándose 9 períodos de fermentación por triplicado para cada tratamiento, las variables analizadas fueron materia seca, proteína cruda, ácido láctico, nitrógeno amoniacal y pH; los resultados se evaluaron a través de un análisis de varianza factorial  $3 \times 3 \times 9$ , y para la comparación entre los promedios se usó la prueba de Tukey. Se observó que la materia seca disminuyó a partir del 7° día en el forraje tratado con bacilos lácticos y bacitracina de cinc, sin embargo no presentaron diferencia ( $P > 0.05$ ) comparados con el testigo. En el forraje tratado con bacitracina de cinc, aumentó ( $P < 0.05$ ) la proteína cruda hasta el día 28, sin embargo no se encontró diferencia ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos. Para el forraje tratado con bacilos lácticos y el testigo, el ácido láctico mostró un incremento ( $P < 0.05$ ) hasta el día 28, sin embargo entre el promedio de estos tratamientos no se encontró diferencia significativa, aunque los bacilos lácticos mostraron tendencia a una mayor producción de ácido láctico. El nitrógeno amoniacal ( $N-NH_3$ ) fue aumentando progresivamente en los tres tratamientos, obteniéndose al final del período de fermentación, una mayor producción --

( $P < 0.05$ ) en el forraje tratado con bacitracina de cinc, pudiéndose deber a que también registró menor cantidad de materia seca sin embargo éste y el forraje tratado con bacilos lácticos, no presentaron diferencia ( $P > 0.05$ ) en sus promedios con el testigo. Con respecto al pH, se observó que éste fue menor ( $P < 0.05$ ) para el forraje tratado con bacilos lácticos que para el tratado con bacitracina de cinc y para el testigo, encontrándose diferencia ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos al final de la fermentación, -- por lo que se puede inferir, que los bacilos lácticos ayudaron a reducir el pH.

## INTRODUCCION:

Una de las formas de almacenar el forraje, aprovechando sus nutrientes cuando no hay disponibilidades de cosechas y además conservarlo por largo tiempo, es por medio del ensilaje, ya que presenta menos riesgos frente a las inclemencias del tiempo, y si éste, se realiza en forma adecuada los resultados serán más satisfactorios (6, 19).

El ensilado es un material que se produce por la fermentación controlada de una cosecha o forraje con alto contenido de humedad. La fermentación es controlada por la formación de ácidos orgánicos, producidos por bacterias presentes en el forraje fresco y directamente por la adición de ácidos o preservadores (16). Sin embargo, durante la fermentación hay cambios químicos y pérdidas de nutrimentos. Las pérdidas pueden ser divididas en inevitables y evitables, las primeras son cambios bioquímicos, respiración de la planta y fermentación y las segundas se refieren a deterioros debidos a las técnicas del ensilaje (19).

Cuando se utiliza un buen manejo en el proceso del ensilaje, las características que se obtengan de éste generalmente serán las deseadas, debido a que existen condiciones ambientales como la temperatura y humedad que modifican éste proceso y otros como el tiempo de corte, madurez de la planta y técnica de ensilaje, de modo que, ni con la adición de aditivos o preservadores se mejorará el ensilado si el proceso se realizó en forma incorrecta (7). Por otro lado se menciona que los aditivos alimenticios deben ser usados para suplementar la efectividad de los métodos tradicionales de conservación de alimentos más que para reemplazar éstos métodos (7).

Para que se obtenga un buen ensilado, la cosecha del forraje debe presentar un adecuado estado de madurez y la técnica usada durante el ensilaje debe ser la adecuada, excluyendo la mayor cantidad de aire (oxígeno) mediante una buena compactación del forraje. La preservación es llevada a cabo por los ácidos que se forman durante el proceso del ensilaje, entre los cuales se pueden mencionar principalmente los ácidos láctico y acético. Estos son formados a a partir de la fermentación de los azúcares, por bacterias que se

encuentran presentes en el forraje verde, como son los lactobacilos. El forraje, además, contiene bacterias no deseables como los clostridios, que pueden desdoblar los azúcares y el ácido láctico en ácido butírico y que también descomponen las proteínas del forraje produciendo amoníaco, éste, neutraliza parte del ácido láctico que se ha formado, produciendo un ácido inestable que continúa descomponiéndose, dando un ensilado desagradable y de mal olor. Además se conoce que la actividad de los clostridios se evita con la acidez, pero es acelerada por la humedad (6 11).

Se han utilizado diferentes tipos de preservadores para ensilar los forrajes; entre ellos se tienen a los que estimulan la fermentación (cultivos de bacterias y levaduras, enzimas, piedra caliza, melazas, urea y otros productos que contienen nitrógeno no proteico) y los inhibidores de la fermentación (ácidos minerales y orgánicos, antibióticos como la bacitracina de cinc y sal). Sin embargo, el modo de acción es difícil de explicar y los resultados son generalmente variables (15, 19).

Los efectos de los antibióticos en la fermentación del ensilado no han sido consistentes (1, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20).

El modo de acción de la bacitracina de cinc es la de inhibir las bacterias que causan putrefacción al mismo tiempo que se estimula la producción de bacterias ácido lácticas, esto parece dudoso si se toma en cuenta que ambos tipos de bacterias son gram positivas (14, 19). Sin embargo, otros estudios han demostrado que los clostridios no fueron inhibidos selectivamente y que las bacterias productoras de ácido láctico no fueron estimuladas por la bacitracina de cinc; en realidad, el antibiótico inhibió a las bacterias ácido lácticas durante la fase inicial de crecimiento (12). Esto puede explicar en parte los resultados tan variables reportados cuando los antibióticos han sido adicionados a cosechas.

Lusk en 1978 menciona que, la adición de bacitracina de cinc a trébol blanco, le hizo presentar buen aroma en comparación a la adición de melazas, metabisulfito de sodio y un control. También se reportaron incrementos en los niveles de ácido láctico, acético y propiónico y bajos en ácido butírico, en comparación a los

tratamientos ya mencionados. También menciona que en alfalfa se adicionó bacitracina de cinc y otros antibióticos, utilizando de 2 a 50 ppm previo al ensilaje y no se obtuvo mal olor ni cambió la calidad. Otros resultados demostraron efectos dudosos o ningún beneficio de la bacitracina de cinc en mejorar la composición química del ensilado (14).

Alexander y colaboradores en 1961, encontraron un incremento significativo en la digestibilidad de la proteína del ensilado de avena tratada con bacitracina de cinc comparado con un testigo, pero no hubo cambios significativos en el total de nutrimentos digestibles. Otros trabajos con avena, sorgo y leguminosas no demostraron ningún beneficio significativo en digestibilidad cuando la bacitracina de cinc fue usada como preservador (1, 17, 18, 20).

Por otro lado se menciona, que la adición de bacilos lácticos es incierta debido a los resultados tan variables que se han obtenido. Con la inoculación de lactobacilos y estreptococos al material ensilado, el pH bajó más rápidamente, aunque no se obtuvo evidencia analítica que sugiriera que esto fuera benéfico (16).

Burghardi y colaboradores en 1980 utilizando maíz forrajero mencionan que los niveles de nitrógeno no proteico tendieron a incrementarse al adicionarle lactobacilos y estreptococos. Sin embargo, los valores comparados con el control no tuvieron diferencia significativa, además de que todas las muestras a las que se les adicionaron los microorganismos tendieron a incrementar el nitrógeno amoniacal (5).

En silos experimentales de tubo, en los cuales se adicionó una mezcla de Streptococcus faecalis y Lactobacillus plantarum sobre forraje de Rye grass italiano, se demostró que el pH disminuyó, por consiguiente, es importante para la preservación, ya que, cuando la disminución de pH es relativamente lenta, la actividad de los clostridios ocurre en estados tempranos antes de empezar la inhibición (22).

La razón de adicionar un inóculo de bacterias ácido lácticas es la de incrementar el número de bacterias deseables y asegurar una rápida fermentación; sin embargo, si existen condiciones adversas en la técnica del ensilaje, la adición de bacterias no po

drá sobrevivir y multiplicarse en el forraje ensilado (19). En los países en desarrollo, donde es común que el forraje se -- compre en un lugar y tiene que ser transportado para ensilarlo -- en otro, se enfrenta el problema de la oxidación de los azúcares que impiden la formación de ácido láctico, por tal motivo, aumen -- ta la necesidad de usar ciertos aditivos para propósitos de con -- servación de alimentos. También en las regiones tropicales donde la humedad y las altas temperaturas favorecen el ataque microbia -- no y aumentan la velocidad de desarrollo de la rancidez oxidante puede ser justificado un mayor uso de agentes antimicrobianos y antioxidantes que en aquellos países de climas más templados (7) Como en México generalmente no se lleva a cabo un buen manejo -- del forraje para ensilar, ya que las técnicas que se utilizan -- por lo general, no son las adecuadas, se hace necesaria la adi -- ción de preservadores para evitar o disminuir las pérdidas de -- los nutrimentos de los forrajes ensilados, especialmente en esta época de crisis, en la que deben aprovecharse al máximo los re -- cursos con los que se cuentan, por lo que es conveniente utili -- zar aditivos que en México se puedan conseguir comercialmente, -- como lo es la bacitracina de cinc y un producto que contiene ba -- cilos lácticos.

El forraje de Rye grass (Lolium multiflorum) es una gramínea de desarrollo precóz, tierna, jugosa y apetecible por el ganado (9, 13) por lo tanto deben aprovecharse estas características y no -- perderlas, utilizando algún aditivo. Sin embargo no se cuenta -- con ningún reporte publicado de la adición de bacitracina de -- cinc y pocos con la adición de bacilos lácticos en este forraje; de manera que existen dudas acerca de la aplicación y efectivi -- dad de éstos preservadores, con lo que se tratará de demostrar, que la función de la bacitracina de cinc es la de inhibir las -- bacterias indeseables para favorecer una acidificación láctica y la adición de bacilos lácticos, que al aumentar el número, dan -- mayor oportunidad de que predominen sobre toda la población bac -- teriana y de ésta forma lograr una acidificación rápida y una -- producción de ácido láctico en menor tiempo, por lo que en éste trabajo se van a estudiar los cambios que sufren los nutrimentos del forraje Rye grass ensilado con bacitracina de cinc o bacilos

lácticos en silos de laboratorio.

## MATERIAL Y METODOS:

## Procedimiento Experimental.

Se realizaron muestreos periódicos de forraje Rye grass (Lolium multiflorum variedad gulf) para determinar el contenido de materia seca, sometiéndolo a desecación en estufa por 24 horas. Cuando la muestra contenía aproximadamente 30% de materia seca, se realizó la cosecha de la parte aérea del forraje, cortándose 30 Kg, los cuales fueron inmediatamente picados a un tamaño de 2.5 cm, para posteriormente adicionar el tratamiento correspondiente. Se utilizaron los siguientes tratamientos: Bacitracina de Cinc\* a una dosis de 2.5 Kg por tonelada de forraje verde, Bacilos Lácticos con un producto comercial\*\*, utilizando la dosis que el fabricante recomienda de 40.61 g por tonelada de alimento y finalmente un tratamiento testigo, al cuál no se le agregó ningún aditivo.

Se mezcló homogéneamente cada tratamiento en tinas de plástico por separado con el forraje de Rye grass, utilizando de acuerdo a las dosis ya mencionadas 18.75 g de Bacitracina de Cinc por 7.5 Kg de forraje verde, 0.304 g de Bacilos Lácticos por 7.5 Kg de forraje verde y para el testigo, solo 7.5 Kg de forraje verde. Por cada tratamiento se llenaron microsilos de plástico (3x3x9) con capacidad de 250 g de forraje verde, previamente identificados con el tipo de tratamiento, número de la muestra y día del muestreo.

Una vez llenos los microsilos se compactó el forraje al máximo posible, para extraer la mayor cantidad de aire y se sellaron con un tapón de hule oradado, al cual se le conectó un tubo de vidrio con una manguera y a través de ésta, se le extrajo el aire restante con ayuda de una bomba de vacío, para dejar dentro del microsililo un estado de anaerobiosis; realizado ésto, la manguera fue sellada para evitar la entrada de aire. Posteriormente y para su almacenamiento se pasaron a un cuarto que tenía una --

\* Bacitracina de Cinc-Dumex, 10% de actividad.

\*\* CULBAC Forage, TransAgra Corporation, Ciba-Geigy.

temperatura constante de 27°C. Se realizó el muestreo para el estudio en los siguientes períodos de fermentación: día 0, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 14 y 28. Por lo cual se hicieron 9 microsilos por triplicado en cada tratamiento, de acuerdo a esto, se contó con un total de 81 microsilos.

#### Métodos Químicos.

Al abrir cada microsililo se determinó materia seca por el método de arrastre por tolueno (8); proteína cruda, por el método Kjeldahl ( $N \times 6.25$ ) (2); nitrógeno amoniacal ( $N-NH_3$ ), por destilación con vapor (4); determinación de ácido láctico, de acuerdo como lo menciona Ramos (21) y medición del pH con un potenciómetro de marca Lamotte.

#### Métodos Estadísticos.

El método experimental utilizado fue un diseño factorial de  $3 \times 3 \times 9$ , respectivamente para los tratamientos, repeticiones y período de fermentación.

Los resultados se procesaron estadísticamente a través de un análisis de varianza (Anexos 1, 2, 3, 4, 5) con un modelo factorial tal como aparece a continuación:

$$Y_{ijk} = M + T_i + P_j + (TP)_{ij} + E_{ijk}$$

donde

$Y_{ijk}$  es la variable de respuesta medida en la k-esima repetición del i-esimo tratamiento en el j-esimo día. Se analizó por separado materia seca, proteína cruda, ácido láctico, nitrógeno amoniacal y pH, cada una con el mismo modelo.

M--- efecto de la media general

$T_i$ -- efecto del i-esimo tratamiento ( $i = 1, 3$ )

$P_j$ -- efecto del j-esimo período ( $j = 1, 9$ )

$(TP)_{ij}$ -- efecto de la interacción entre tratamiento y período.

$E_{ijk}$ -- error aleatorio.

Para realizar la comparación entre las medias de los efectos que resultaron significativos se usó la prueba de Tukey (10).

## RESULTADOS Y DISCUSION:

Se muestrearon 9 períodos de fermentación del forraje Rye grass adicionado por separado con bacilos lácticos, bacitracina de cinc y un testigo, estos tratamientos se analizaron con 3 repeticiones, obteniéndose lo siguiente:

Materia Seca. En los tres tratamientos se observó que la cantidad de materia seca disminuyó durante las 12 horas primeras de almacenamiento del forraje y a partir de ese momento, comenzó a incrementarse ( $P > 0.05$ ) (Figura 1), lo cual pudo haberse debido al manejo de las muestras durante el lapso de tiempo en que se llevaron a cabo los análisis químicos. Sin embargo, la curva de éste parámetro para el tratamiento con bacilos lácticos se mantuvo más o menos constante hasta el día 14 comparada con los otros tratamientos, en el cual se registró un decremento de la materia seca; los tratamientos con bacitracina de cinc y bacilos lácticos mostraron una disminución a partir del 7° día, sin que ambos tuvieran diferencia significativa (Cuadro 1), opuesto a lo mencionado anteriormente, el testigo aumentó su materia seca a partir del día 14 (Figura 1); ésto puede ser benéfico si se toma en cuenta que a mayor porcentaje de materia seca, disminuye la actividad de los clostridios, lo que producirá una mejor fermentación (11).

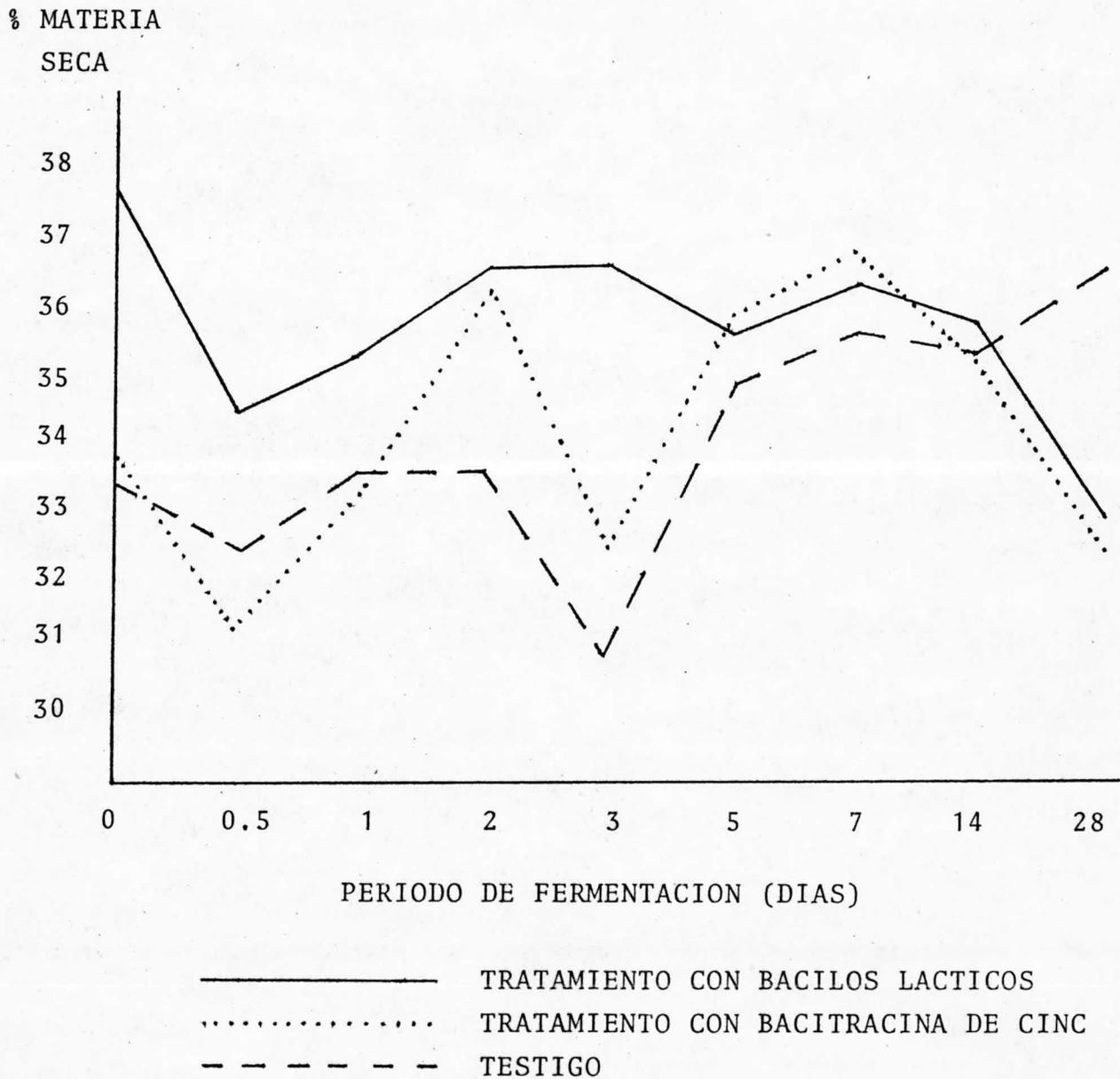
Proteína Cruda. Como se puede observar (Figura 2), en los tres tratamientos existe un aumento progresivo de la proteína cruda del forraje Rye grass durante el período de fermentación, manifestándose un cierto paralelismo entre las curvas de esos parámetros, encontrándose solo diferencia ( $P < 0.05$ ) en el tratamiento con bacitracina de cinc hasta el día 28 (Cuadro 2), por lo que el antibiótico pudo ayudar a evitar la destrucción de la proteína en el forraje (14, 19), sin embargo no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos.

Con respecto al promedio de la suma de los tratamientos, aumentó ( $P < 0.05$ ) la proteína a partir del día 14 (Cuadro 2).

Acido Láctico. Con respecto al promedio por tratamientos de las

FIGURA 1

MATERIA SECA DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES



CUADRO 1

PORCENTAJES DE MATERIA SECA DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION \*

TRATAMIENTO	DIAS DE ALMACENAMIENTO									X
	0	0,5	1	2	3	5	7	14	28	
BACILOS LACTICOS	37,6	34,5	35,3	36,5	36,5	35,7	36,6	35,8	33,1	35,7
BACITRACINA DE CINC	33,6	31,2	33,3	36,3	32,5	35,8	36,8	35,3	32,5	34,1
TESTIGO	33,3	32,5	33,5	33,7	30,9	34,9	35,7	35,2	36,5	34,0
PROMEDIO	34,8	32,8	34,0	35,5	33,3	35,5	36,3	35,4	34,0	

12

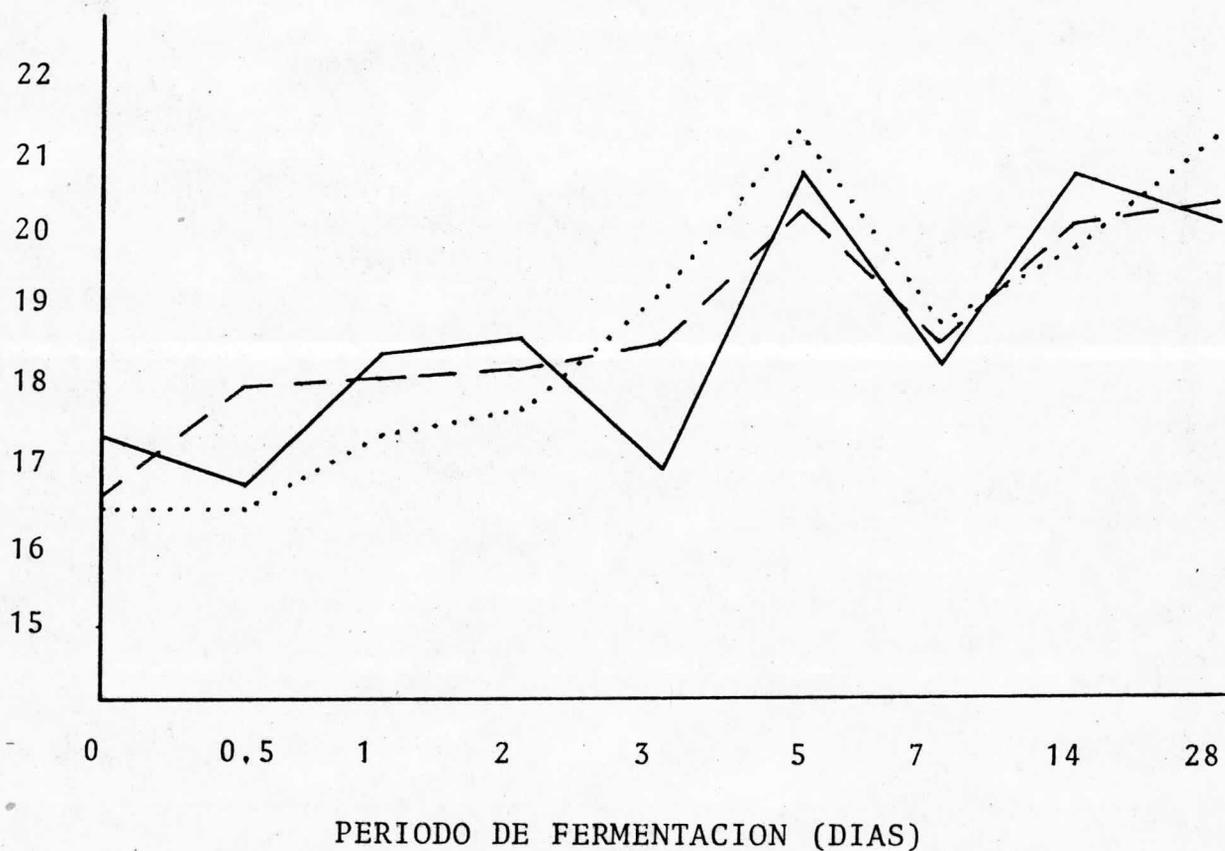
MATERIA SECA EXPRESADA EN %

\* NO SE ENCONTRO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS

FIGURA 2

PROTEINA CRUDA DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES.

% PROTEINA  
CRUDA



————— TRATAMIENTO CON BACILOS LACTICOS  
..... TRATAMIENTO CON BACITRACINA DE CINC  
- - - - - TESTIGO

CUADRO 2

PORCENTAJE DE PROTEINA CRUDA DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION

TRATAMIENTO	DIAS DE ALMACENAMIENTO									$\bar{X}$
	0	0.5	1	2	3	5	7	14	28	
BACILOS LACTICOS	17.35	16.80	18.49	18.75	17.07	20.90	18.35	20.91	20.28	18.76
BACITRACINA DE CINC	16.49	16.53	17.43	17.94	19.20	21.30	18.93	20.01	21.18	18.77
TESTIGO	17.58	18.09	18.16	18.36	18.76	20.75	18.71	21.31	29.45	19.13
PROMEDIO	17.14 <sup>a</sup>	17.14 <sup>a</sup>	18.03 <sup>a</sup>	18.35 <sup>a</sup>	18.34 <sup>a</sup>	20.98 <sup>b</sup>	18.66 <sup>a</sup>	20.74 <sup>b</sup>	20.63 <sup>b</sup>	

PROTEINA CRUDA; EXPRESADA COMO % DE LA MATERIA SECA

LITERALES DISTINTAS A LO LARGO DEL PERIODO DE FERMENTACION (LINEA HORIZONTAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES. ( $P < 0.05$ )

variables en los diferentes períodos de fermentación y sus réplicas correspondientes, se observó un incremento ( $P < 0.05$ ) en la cantidad de ácido láctico del forraje tratado con bacilos lácticos y en el testigo, a pesar de que los niveles finales de ácido láctico fueron demasiado bajos para todos los tratamientos, no así en el tratamiento con bacitracina de cinc, en donde la curva de éste parámetro (Figura 3), se mantuvo prácticamente constante esto puede deberse a que el antibiótico inhibió las bacterias -- productoras de ácido láctico, tal como fue demostrado por Langston (12).

En el forraje tratado con bacilos lácticos y el testigo, el ácido láctico mostró un incremento ( $P < 0.05$ ) hasta el día 28, sin embargo entre el promedio de estos tratamientos no se encontró diferencia significativa (Cuadro 3 y 4), por lo que se pudiera inferir, que la adición de bacilos lácticos al momento de ensilar el forraje de Rye grass no es realmente benéfico, a pesar de que con este tratamiento se logró una mayor producción de ácido láctico ( $P > 0.05$ ) con respecto al producido en el testigo (Figura 3, Cuadro 4).

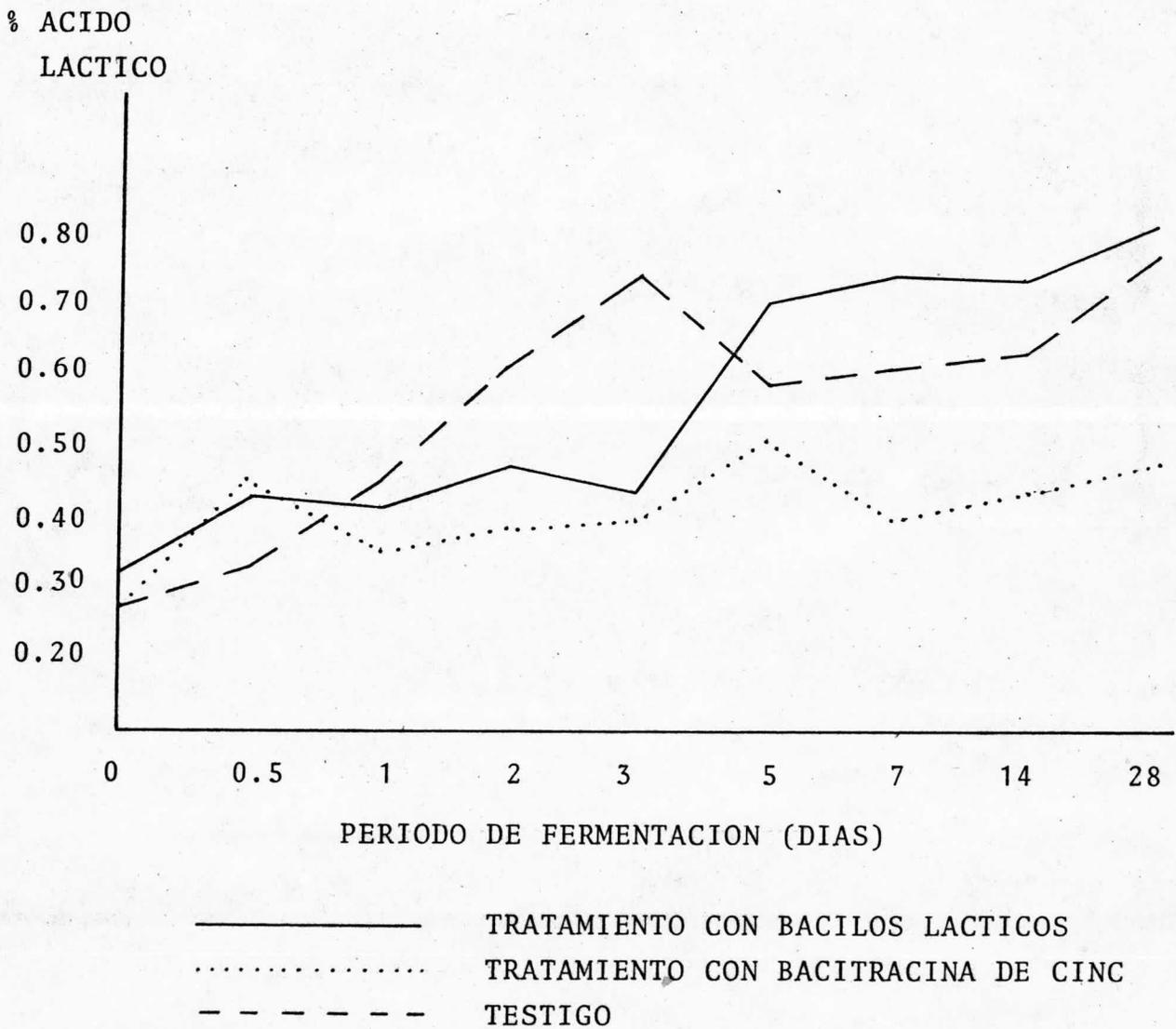
Nitrógeno Amoniacal. El nitrógeno amoniacal ( $N-NH_3$ ) está expresado como porcentaje del nitrógeno total de la materia seca.

Las curvas de producción de éste parámetro (Figura 4) muestran un aumento progresivo del nitrógeno amoniacal conforme aumenta el período de fermentación, lo cual coincide con lo reportado -- por varios autores (5). Para el promedio por tratamientos durante la fermentación (Cuadro 3), se observa una mayor cantidad de nitrógeno amoniacal ( $P < 0.05$ ) en el forraje tratado con bacitracina de cinc en comparación con el tratamiento con bacilos lácticos, no presentando éstos diferencia ( $P > 0.05$ ) con el testigo, lo cual pudiera sugerir, que el tratamiento con bacilos lácticos reporta algún beneficio, dada la menor destrucción de proteína -- en el forraje (14, 19).

El forraje tratado con bacilos lácticos produjo un aumento ( $P < 0.05$ ) del nitrógeno amoniacal el día 0 (Figura 4, Cuadro 5), pudiéndose deber a una mala técnica de muestreo o de análisis, por lo que se consideró el valor a partir de las 12 horas de fermen-

FIGURA 3

ACIDO LACTICO DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES.



CUADRO 3

PROMEDIOS DE LOS ANALISIS REALIZADOS AL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES

TRATAMIENTO	%				
	M.S.	P.C.	A.L.	N-NH <sub>3</sub>	pH
BACILOS LACTICOS	35.7	18.76	0.47 <sup>b</sup>	5.55 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a</sup>
BACITRACINA DE CINC	34.1	18.77	0.31 <sup>a</sup>	8.42 <sup>b</sup>	6.5 <sup>b</sup>
TESTIGO	34.0	19.13	0.46 <sup>ab</sup>	6.31 <sup>ab</sup>	6.3 <sup>ab</sup>

RESULTADOS DE P.C., A.L. Y N-NH<sub>3</sub> EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE LA MATERIA SECA.

M.S.: MATERIA SECA %

P.C: PROTEINA CRUDA (N x 6.25)

A.L.: ACIDO LACTICO

N-NH<sub>3</sub>: NITROGENO AMONIACAL, EXPRESADO COMO PORCENTAJE DEL NITROGENO TOTAL.

LITERALES DISTINTAS EN UNA COLUMNA (LINEA VERTICAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.05)

CUADRO 4

PORCENTAJES DE ACIDO LACTICO DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION

TRATAMIENTO	DIAS DE ALMACENAMIENTO									$\bar{X}$
	0	0,5	1	2	3	5	7	14	28	
BACILOS LACTICOS	0.23 <sup>a</sup>	0.33 <sup>ab</sup>	0.33 <sup>ab</sup>	0.38 <sup>ab</sup>	0.34 <sup>ab</sup>	0.60 <sup>a</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.71 <sup>b</sup>	0.47
BACITRACINA DE CINC	0.17	0.35	0.26	0.28	0.30	0.41	0.30	0.34	0.39	0.31
TESTIGO	0.17 <sup>a</sup>	0.22 <sup>ab</sup>	0.34 <sup>ab</sup>	0.51 <sup>ab</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.50 <sup>ab</sup>	0.50 <sup>ab</sup>	0.54 <sup>ab</sup>	0.68 <sup>b</sup>	0.46
PROMEDIO	0.19 <sup>a</sup>	0.30 <sup>ab</sup>	0.31 <sup>ab</sup>	0.39 <sup>ab</sup>	0.42 <sup>ab</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.48 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.60 <sup>b</sup>	

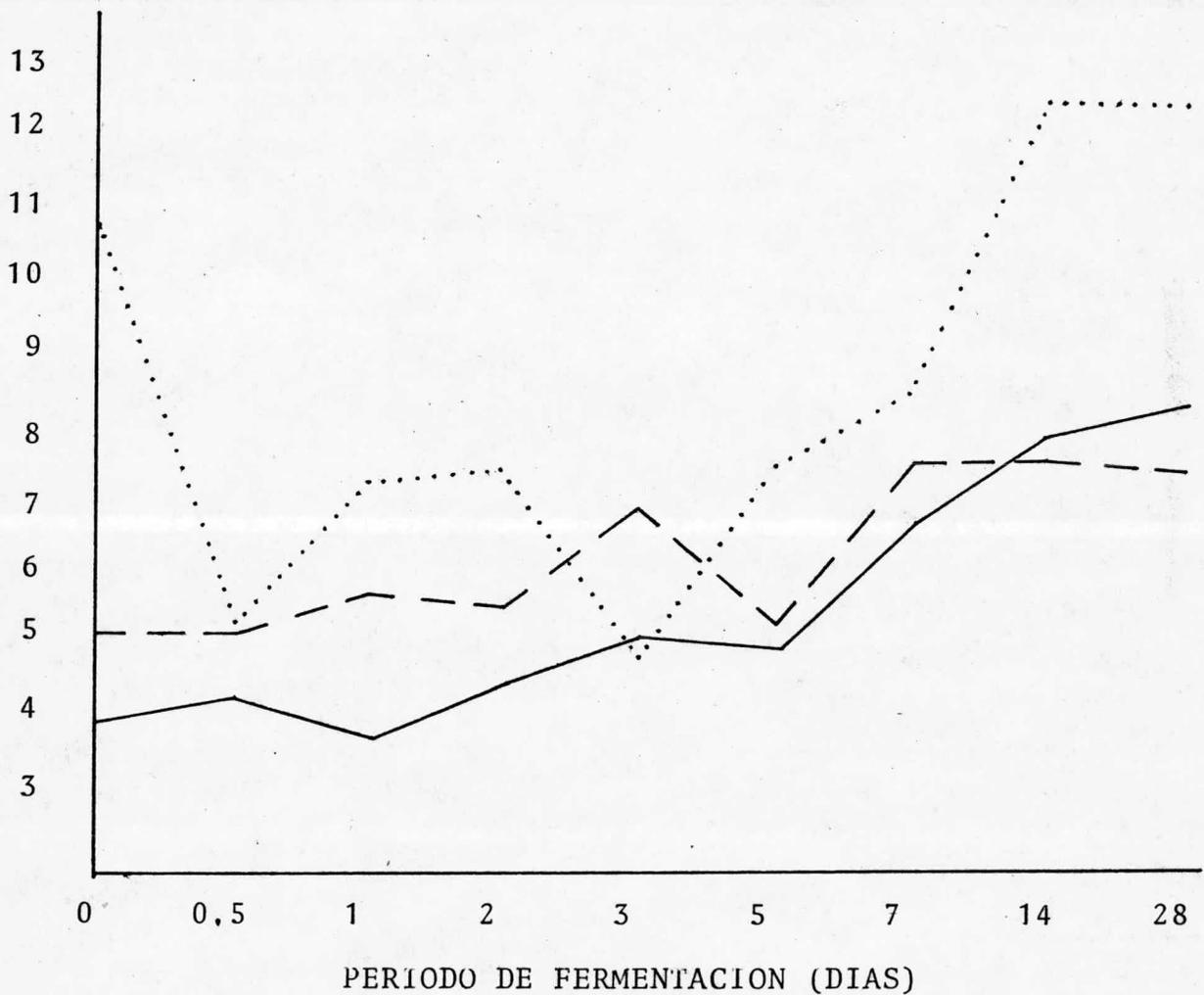
ACIDO LACTICO: EXPRESADO COMO % DE LA MATERIA SECA

LITERALES DISTINTAS A LO LARGO DEL PERIODO DE FERMENTACION (LINEA HORIZONTAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.05)

FIGURA 4

NITROGENO AMONIACAL COMO % DEL NITROGENO TOTAL DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES.

NITROGENO AMONIACAL COMO  
% DEL NITROGENO TOTAL



————— TRATAMIENTO CON BACILOS LACTICOS  
..... TRATAMIENTO CON BACITRACINA DE CINCO  
- - - - - TESTIGO

CUADRO 5

PORCENTAJES DE NITROGENO AMONIACAL DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION

TRATAMIENTO	DIAS DE ALMACENAMIENTO									X
	0	0.5	1	2	3	5	7	14	28	
BACILOS LACTICOS	4.02 <sup>a</sup>	4.39 <sup>a</sup>	3.98 <sup>a</sup>	4.69 <sup>ab</sup>	5.13 <sup>ab</sup>	5.3 <sup>ab</sup>	6.80 <sup>ab</sup>	7.85 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	8.13 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	5.55
BACITRACINA DE CINC	10.56	5.29 <sup>a</sup>	7.18 <sup>a</sup>	7.42 <sup>a</sup>	5.01 <sup>a</sup>	7.41 <sup>a</sup>	8.51 <sup>a</sup>	12.35 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	12.12 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	8.42
TESTIGO	5.29	5.23	5.95	5.60	6.99	5.22	7.56	7.54 <sub>1</sub>	7.43 <sub>1</sub>	6.31
PROMEDIO	6.62 <sup>a</sup>	4.97 <sup>a</sup>	5.71 <sup>a</sup>	5.90 <sup>a</sup>	5.71 <sup>a</sup>	5.89 <sup>a</sup>	7.62 <sup>ab</sup>	9.25 <sup>b</sup>	9.21 <sup>b</sup>	

NITROGENO AMONIACAL (N-NH<sub>3</sub>): EXPRESADO COMO % DEL NITROGENO TOTAL DE LA MATERIA SECA. LITERALES DISTINTOS A LO LARGO DEL PERIODO DE FERMENTACION (LINEA HORIZONTAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.05)

SUB-INDICES DISTINTOS EN LAS COLUMNAS (LINEA VERTICAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.05)

tación, obteniéndose un incremento ( $P < 0.05$ ) a partir del día 14. Este aumento en los niveles de nitrógeno amoniacal (Figura 4) en el forraje tratado con bacilos lácticos y bacitracina de cinc, se relaciona con la pérdida de materia seca a partir del 7º día (Figura 1), ya que a mayor cantidad de humedad, aumenta la actividad de los clostridios, ésta pudo haber ocasionado también que el ácido láctico no aumentara ( $P > 0.05$ ) en el forraje tratado con bacitracina de cinc (Cuadro 4).

Entre tratamientos la diferencia ( $P < 0.05$ ) fue a partir del día 14 en el forraje tratado con bacitracina de cinc, en comparación a los demás tratamientos, entre los cuales no se encontró diferencia analítica ( $P > 0.05$ ) y para el promedio de la suma de los tratamientos, el incremento ( $P < 0.05$ ) fue también a partir del día 14 (Cuadro 5).

pH. Con respecto al promedio por tratamientos durante la fermentación (Cuadro 3) el menor pH ( $P < 0.05$ ) se observó para el tratamiento con bacilos lácticos, comparado con el forraje tratado con bacitracina de cinc. El testigo no mostró diferencia ( $P > 0.05$ ) con los demás tratamientos (Cuadro 3), de manera que se infiere que los tratamientos no fueron estrictamente benéficos, sin embargo pudiera pensarse en que la adición de bacilos lácticos al forraje de Rye grass al momento de ensilar pudiera reportar algún beneficio (16, 22).

A lo largo del período de fermentación, el forraje tratado con bacilos lácticos produjo un decremento en el pH ( $P < 0.05$ ) a partir del día 14, reduciéndose aún más ( $P < 0.05$ ) para el día 28 (Cuadro 6). A pesar de que la reducción del pH no fue rápida, se registró un mayor decremento del mismo en el forraje tratado con bacilos lácticos (Figura 5), por lo que se puede inferir que éstos ayudaron a producir una mayor acidificación del ensilado (Figura 3), comparándose éstos resultados con los mencionados por McDonald (16).

En la comparación entre tratamientos, el forraje adicionado con bacitracina de cinc, mantuvo el pH más alto ( $P < 0.05$ ) que los otros tratamientos, la explicación de esto, es que el antibiótico pudo haber inhibido el desarrollo de los bacilos lácticos, tal -

CUADRO 6

pH DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION

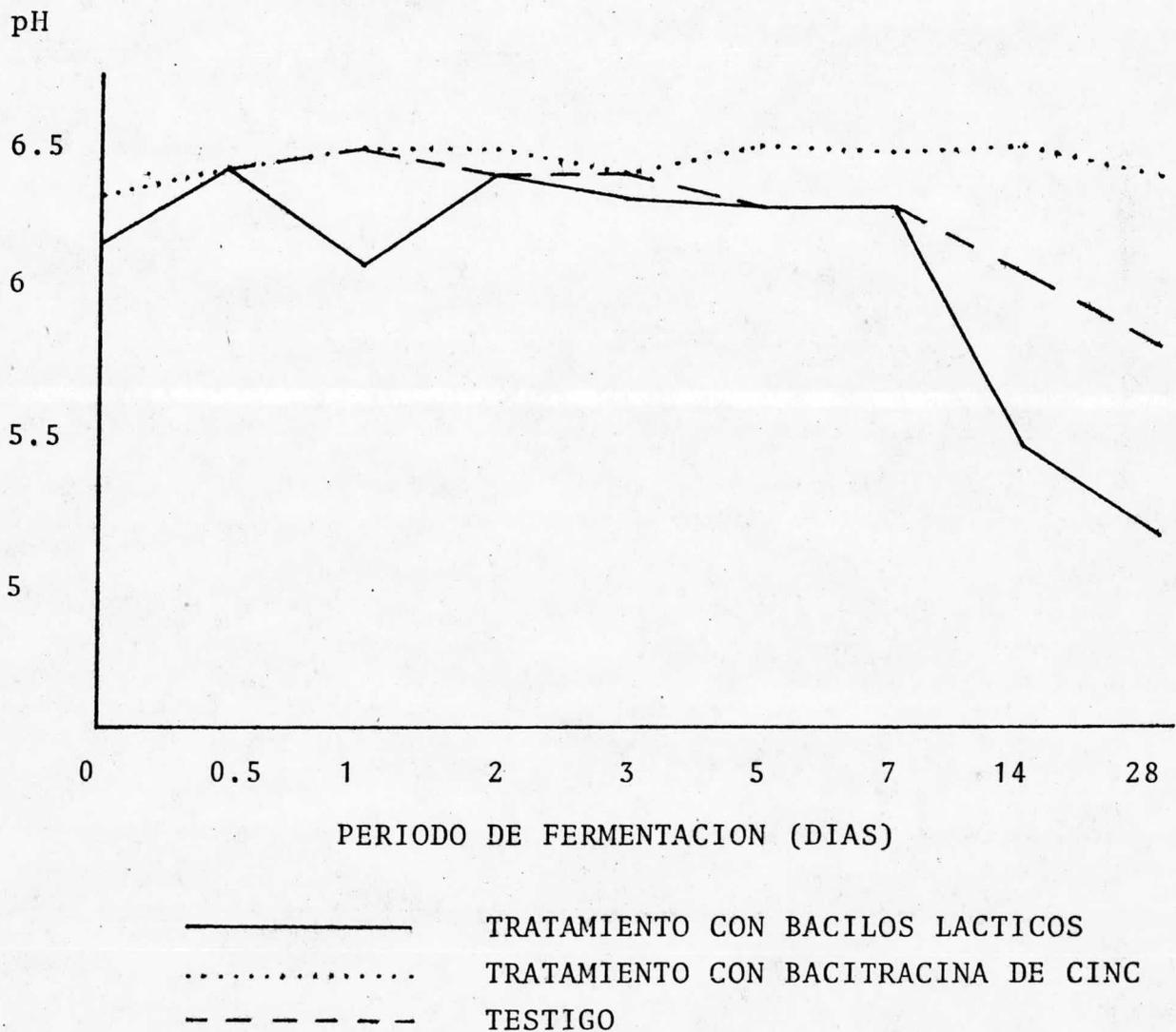
TRATAMIENTO	DIAS DE ALMACENAMIENTO									$\bar{X}$
	0	0.5	1	2	3	5	7	14	28	
BACILOS LACTICOS	6.2 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	5.5 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	5.2 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	6.1
BACITRACINA DE CINC	6.4 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.5 <sup>ab</sup>	6.5 <sup>ab</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.6 <sup>b</sup>	6.6 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	6.6 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	6.4 <sup>a</sup> <sub>3</sub>	6.5
TESTIGO	6.3 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.5 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.5 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup>	6.3 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	6.2 <sup>ab</sup> <sub>3</sub>	5.8 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	6.3
PROMEDIO	6.3 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.5 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.1 <sup>b</sup>	5.8 <sup>c</sup>	

LITERALES DISTINTAS A LO LARGO DEL PERIODO DE FERMENTACION (LINEA HORIZONTAL). SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.5)

SUB-INDICES DISTINTOS EN LAS COLUMNAS (LINEA VERTICAL) SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P < 0.05)

FIGURA 5

pH DURANTE EL PERIODO DE FERMENTACION DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES.



como lo menciona Langston (12). Sin embargo del día 14 al 28 los resultados entre tratamientos fueron distintos ( $P < 0.05$ ) unos de otros.

Respecto al promedio de la suma de los tratamientos se observa - (Cuadro 6), que el pH disminuyó a partir del día 14.

## LITERATURA CITADA:

- 1) Alexander, R.A., McCall, J.T., Hentges, J.F., Jr., Legins, P.E. and Davis, G.K.; Digestibility of chopped oat silage preserved with zinc bacitracin fed to cattle and sheep. J. Dairy Sci. 44:1928 (1961).
- 2) A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemists; Official Methods of Analysis, Washintong, D.C., 1969.
- 3) Baker, S.B. and Summerson, W.H.; The Colorimetric determination of Lactic Acid in Biological material. J. Biol. Chem. 138:535 (1941).
- 4) Bremer, J.M. and Keeney, D.R.; Steam distillation methods for determination of amonium, nitrate and nitrite. Anal. Chim. Acta 32: 485-495 (1965).
- 5) Burghardi, S.R, Goudrich, R.D, and Meiske, J.C.; Evaluation of Corn Silage treated with Microbial additives. J. Anim. Sci. 50: 729-736 (1980).
- 6) Ede. R. y Bood, T.F.; Ensilado. Acribia, Zaragoza, España, (1970).
- 7) Desrosier, N,W.; Conservación de Alimentos. Compañía Editorial Continental S.A. México, 1981.
- 8) Dewar,W.A. and McDonald, P.: Determiation of Dry Matter in Silage by distillation sith Toluene. J. Sci. Food Agric. 12: 790-795 (1961).
- 9) Flores, J.A.: Bromatologia Animal. Limusa, México, 1977.
- 10) Gill, John L.: Design and Analysis of Experiments in the Animal and Medical Sciences. The Iowa State University Press Ames, Iowa, USA, 1978.
- 11) Langston, C.W. and Bouma, C.: A study of microorganisms from gras silage- Appl. Microb. 8: 223-234 (1959).
- 12) Langston, C.W., Conner, R.M. and Moore. L.A.: Efect of zinc bacitracin on silage microorganisms. J. Dairy Sci. 45: 544 (1962).
- 13) León, H,J.; Forrajicultura Pasticultura. Salvat Editores, S.A., Barcelona, España, 1955,
- 14) Lusk, J,W.; The use of preservatives in silage production, In McCullough. (Ed.) Fermentation of silage-A Review. National Feed Ingredients Assoc. - West Des Moines, I.A. 203-208 (1978).
- 15) McCullough, M.E.: Silage and silage Fermentation. Feedstuffs 28: 49-51 (1977).
- 16) McDonald, P. and Whittenbury,R.: The Ensilage process. Chem. and Biochem. of Herbage, 33-60 (1973).
- 17) Own, F.G.; Effect of enzymes and bacitracin in silage quality. J.Dairy Sci. 45: 934 (1962)

- 18) Pratt, A.D. and Conrad, H.R.; Bacitracin as a preservative for legumegrass silage, Ohio Agr. Exp. Sta. Bul., 893 (1961)
- 19) Proc, Wis. Forage Council, 2nd Forage Production & Use Symposium, Stevens Point, WI, 41-59 (1978)
- 20) Tamsey, D.S.; The effect of preservatives on silage dry matter losses in sweet and grain sorghums, J. Dairy Sci., 44; 1206 (1961)
- 21) Ramos, M.C.; Manual de Métodos de Análisis de leche y lacticinios, México, D.F., 1976.
- 22) Whittenbury, R., McDonald, P. and Bryan-Jones, D.G.; A short Review of some Biochemical and Microbiological aspects of Ensilage, J. Sci. Food Agric. 18: 441-444 (1967)

A N E X O S

## ANEXO 1

ANALISIS DE LA VARIANZA PARA MATERIA SECA DEL FORRAJE RYE GRASS  
ADICIONADO CON PRESERVADORES

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F
TRATAMIENTO	2	47,08	23,54	3,49 ns
PERIODO	8	96,72	12,09	3,16 ns
INTERACCION T-P	16	107,88	6,74	1,76 ns
ERROR	54	206,05	3,81	----
TOTAL	80	457,74	----	----

ns - no significativo ( $P > 0.05$ )

## ANEXO 2

ANALISIS DE VARIANZA PARA PROTEINA CRUDA DEL FORRAJE RYE GRASS  
ADICIONADO CON PRESERVADORES

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F
TRATAMIENTO	2	2.29	1.14	0,958 ns
PERIODO	8	165,31	20,66	8,91 **
INTERACCION T-P	16	19.18	1.119	0.517 ns
ERROR	54	125.16	2.31	-----
TOTAL	80	311,96	-----	-----

ns - no significativo ( $P > 0.05$ )

\*\* - Altamente significativo ( $P < 0.01$ )

## ANEXO 3

ANALISIS DE LA VARIANZA PARA ACIDO LACTICO DEL FORRAJE RYE GRASS  
ADICIONADO CON PRESERVADORES

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F
TRATAMIENTO	2	4007.06	2003.53	6.50 **
PERIODO	8	11494.27	1436.78	4.42 *
INTERACCION T-P	16	4929.69	308.10	0.94 ns
ERROR	54	17533.29	324.69	-----
TOTAL	80	37964.32	-----	-----

\* significativo ( $P < 0.05$ )

\*\* Altamente significativo ( $P < 0.01$ )

ns no significativo ( $P > 0.05$ )

## ANEXO 4

ANALISIS DE LA VARIANZA PARA NITROGENO AMONIA CAL DEL FORRAJE --  
RYE GRASS ADICIONADO CON PRESERVADORES

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F
TRATAMIENTO	2	119,78	59,89	11,33 **
PERIODO	8	179,05	22,38	11,95 **
INTERACCION T-P	16	85,37	5,33	2,85 ns
ERROR	54	101,11	1,87	****
TOTAL	80	485,31	****	****

\*\* Altamente significativo ( $P < 0,01$ )

ns-no significativo ( $P > 0,05$ )

## ANEXO 5

ANALISIS DE LA VARIANZA PARA pH DEL FORRAJE RYE GRASS ADICIONA-  
DO CON PRESERVADORES

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F
TRATAMIENTO	2	1.96	0.98	6.53 **
PERIODO	8	3.19	0.39	20.46 **
INTERACCION T-P	16	2.42	0.15	7.77 **
ERROR	54	1.05	0.02	-----
TOTAL	80	8.64	-----	-----

\*\* Altamente significativo ( $P < 0.01$ )

