

# **Efecto del uso de Microorganismos Eficientes sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato II**

**María Gabriela Almeida Tamayo**

**Diana Lucía Cárdenas Murillo**

**ZAMORANO**

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Noviembre, 2006

**ZAMORANO**  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Efecto del uso de Microorganismos Eficientes  
sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato  
II**

Proyecto especial presentado como requisito parcial  
para optar al título de Ingeniera Agrónoma en el grado  
Académico de Licenciatura

Presentado por:

**María Gabriela Almeida Tamayo**

**Diana Lucía Cárdenas Murillo**

**Zamorano, Honduras**  
Noviembre, 2006

Las autoras conceden a Zamorano permiso  
para reproducir y distribuir copias de este  
trabajo para fines educativos. Para otras personas  
físicas o jurídicas se reserva los derechos de las autoras.

---

María Gabriela Almeida Tamayo

---

Diana Lucía Cárdenas Murillo

Zamorano, Honduras  
Noviembre, 2006

## **Efecto del uso de Microorganismos Eficientes sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato II**

Presentado por:

María Gabriela Almeida Tamayo

Diana Lucía Cárdenas Murillo

Aprobada:

---

Miguel Vélez, Ph. D.  
Asesor Principal

---

Abelino Pitty, Ph. D.  
Director Interino de la Carrera de  
Ciencia y Producción Agropecuaria

---

John Jairo Hincapié, Ph. D.  
Asesor

---

George Pilz, Ph. D.  
Decano Académico

---

John Jairo Hincapié, Ph.D.  
Coordinador del Área Temática  
Zootecnia

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## **DEDICATORIA M.G.A.T**

A Dios, por ser mi guía espiritual, mi iluminación y darme esperanza en los momentos difíciles.

A mi padres Clemencia Lucila Tamayo y Carlos Alberto Almeida, por su sacrificio, por ser mis amigos incondicionales, maestros, inspiración, apoyo y brindarme su infinito amor.

A mi hermana Carolina Almeida, por su coraje para enfrentar situaciones adversas y ser mi ejemplo a seguir.

## **DEDICATORIA D.L.C.M.**

A Dios, por permitirme llegar al final y por estar siempre a mi lado.

A mis padres Galo Cárdenas y Betty Murillo, por su inmenso amor, apoyo y comprensión necesaria en todo momento.

A mis queridos hermanos María Fernanda, Erika y Gustavo, por apoyarme y ayudarme a creer en mí siempre a pesar de la distancia.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por ser nuestro guía y fortaleza durante nuestra formación profesional y personal.

A nuestros padres, por la confianza que pusieron en nosotros, por el apoyo moral y por el sacrificio que hacen día a día por nosotros.

A nuestros hermanos, por su fraterno cariño y por ser en quienes podemos contar incondicionalmente.

A nuestros maestros: Doctores Miguel Vélez, John Jairo Hincapié, Isidro Matamoros, por su exigencia, conocimiento, enseñanza, predisposición, ánimo y buen humor que nos llevaron a culminar con éxito este proyecto.

A nuestras compañeras, Anabel Fernández y Claudia Montoya, con quienes compartimos cuatro años de nuestras vidas brindándonos su apoyo, amistad, lealtad y cariño sincero.

A nuestros compañeros de Zamorano, Serafín, Fabián Cárdenas, Marquito, Cristian Carvajal, Sandrita, Paola, Anita, Karlita, Daysy, Dayana, Cristina, Daniel Álvarez, José Andrés Ponce, Miguel Cocom, Ángel Albán, Álvaro Defas, Daniel Barragán, José Rubio y Olman Rivera con quienes compartimos momentos gratos en su compañía.

A Carlos Martínez, por su colaboración en la elaboración de este proyecto.

Muchas gracias a todos.

## RESUMEN

Almeida, M; Cárdenas, D. 2006. Efecto del uso de Microorganismos Eficientes sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato II. Proyecto especial de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 10 p.

Con el fin de mejorar la calidad del ensilaje de pastos se usan aditivos, entre ellos están los Microorganismos Eficientes (EM), que son una mezcla de diferentes microorganismos aeróbicos y anaeróbicos tales, como hongos actinomicetes, levaduras, bacterias ácido lácticas y fotosintéticas presentes en grandes cantidades en la naturaleza; y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> que es un producto que contiene cuatro bacterias productoras de ácido láctico y cuatro enzimas. El objetivo del estudio fue comparar el efecto de los microorganismos eficientes y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> en ensilaje de pasto Mulato II (*Brachiaria* sp.) y establecer la rentabilidad del uso de los mismos. Se evaluó a los 21 días el contenido de Materia Seca (MS), pH, Proteína Cruda (PC), Digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica (DIVMO), grado de daño y olor. Se realizaron tres tratamientos: Microorganismos Eficientes Activados (EMA), Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> y testigo; los tres con melaza, cuya cantidad fue el 4% del peso de la materia fresca. De cada tratamiento se elaboraron cinco repeticiones en silos experimentales de tubo de PVC de 15 cm de diámetro y 30 cm de largo. Se encontraron valores de pH entre 4.2 a 4.3 con la aplicación de EMA, 4.1 a 4.4 con Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> y en el pasto al que no se aplicó ninguno de los dos productos un pH de 3.9 a 4.1, los resultados de DIVMO y contenido de proteína cruda fueron 55 a 58% y 11.8 a 12.7%, respectivamente. Por lo que se concluye que el efecto de los aditivos utilizados para este estudio no influyó en el contenido de MS, PC ni DIVMO; el Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> y el testigo no presentaron daños por hongos, mientras que EMA sí. La comparación de precios mostró que el EMA tiene un costo más elevado que Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>.

**Palabras clave:** Aditivos, *Brachiaria* sp., fermentación.

## CONTENIDO

	Portadilla.....	1
	Autoría.....	ii
	Hoja de firmas .....	iii
	Dedicatoria M.G.A.T.....	iv
	Dedicatoria D.L.C.M.....	v
	Agradecimientos.....	vi
	Resumen .....	vii
	Contenido .....	viii
	Índice de cuadros.....	ix
<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
2.1	LOCALIZACIÓN .....	3
2.2	METODOLOGÍA.....	3
2.2.1	Elaboración del ensilaje y tratamientos.....	3
2.3	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	4
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>5</b>
3.1	EFECTO DE LOS INOCULANTES SOBRE EL pH Y LA MATERIA SECA (MS).....	5
3.2	EFECTO DE LOS INOCULANTES EN EL CONTENIDO DE PROTEÍNA CRUDA (PC) Y LA DIVMO.....	5
3.3	CALIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL ENSILAJE .....	6
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>7</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>8</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>9</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

### Cuadro

1.	Evaluación organoléptica de ensilaje de pasto Mulato II ( <i>Brachiaria</i> sp.) .....	4
2.	Efecto de la aplicación de EMA y Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup> sobre la Materia Seca (MS) y pH en el ensilaje de pasto Mulato II ( <i>Brachiaria</i> sp.) .....	5
3.	Efecto de la aplicación de EMA y Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup> sobre la Proteína Cruda (PC) y DIVMO en el ensilaje de pasto Mulato II ( <i>Brachiaria</i> sp.) con el uso de EMA y Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup> .....	6
4.	Calificación de la calidad del ensilaje de pasto Mulato II ( <i>Brachiaria</i> sp.) con el uso de EMA y Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup> .....	6

## 1. INTRODUCCIÓN

En el trópico en la época de sequía o de lluvia excesiva se reduce la disponibilidad de forrajes. Una de las alternativas para alimentar el ganado en esta época es la conservación de forraje en forma de ensilaje cuya ventaja es no depender de las condiciones climáticas para su elaboración (Cañas 1995).

El ensilado consiste en la conservación de forrajes u otros alimentos con alto contenido de humedad, por ácidos orgánicos producidos a partir de la fermentación anaeróbica de los azúcares. Las características del pasto a ensilar como su estado de madurez y la cantidad de materia seca afectan la calidad del ensilaje (Vélez *et al.* 2002). En los últimos años la adición de inoculantes como Bacterias Productoras de Ácido Láctico (BPAL), se ha convertido en parte del manejo de ensilajes; éstas convierten los azúcares en ácido, acelerando el descenso de pH del silo y reduciendo la degradación de proteína (Kung *et al.* 1984; Cai *et al.* 1998).

Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> (ALL TECH, Louisville, Kentucky), es un producto que contiene cuatro bacterias productoras de ácido láctico (*Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus salivarius*) y cuatro enzimas (amilasa, hemicelulasa, celulasa y pentosanasa) que ayudan a mejorar la fermentación y por ende la calidad del ensilaje.

Los microorganismos eficientes (EM) son una mezcla de diferentes microorganismos benéficos tanto aeróbicos como anaeróbicos. Consisten generalmente de hongos actinomicetes, levaduras, bacterias ácido lácticas y fotosintéticas, presentes en grandes cantidades en la naturaleza. Las bacterias fotosintéticas sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces y de materia orgánica; las bacterias ácido lácticas producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos desarrollados por bacterias fotosintéticas y levaduras, siendo el ácido láctico un compuesto supresor de microorganismos dañinos, además es promotor de la descomposición y fermentación de materiales como lignina y celulosa; las levaduras sintetizan sustancias antimicrobiales útiles para las bacterias ácido lácticas y actinomicetes.

Se han utilizado EM para el procesamiento y la conservación de alimentos para animales, como el ensilaje (Aoki 1994) ya que mantienen la estabilidad del pH y evitan procesos indeseados durante su almacenamiento (EM Technologies 1997). En la universidad costarricense EARTH, el uso de ensilaje de banano con EM generó un incremento significativo en la condición corporal de las vacas además de un aumento en la producción láctea durante las primeras semanas de suplementación con ensilaje en comparación con las vacas que recibieron ensilaje sin EM (Gallo y Mera 2001). Ya que no existe

información sobre la calidad del ensilaje de pasto con el uso de EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> se decidió estudiar el efecto de ambos productos sobre la calidad del ensilaje de pasto *Brachiaria* sp. en parámetros como la materia seca, pH, proteína cruda y pruebas organolépticas.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó entre agosto y septiembre de 2006 en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada en el Valle del Yeguaré, a 30 km al SE de Tegucigalpa, a 800 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 24°C y una precipitación de 1100 mm/año.

### 2.2 TRATAMIENTOS

Se hicieron tres tratamientos con cinco repeticiones cada uno:

- Silo con Microorganismos Eficientes Activados (EMA).
- Silo con Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>.
- Silo testigo.

### 2.3 METODOLOGÍA

Los EM se comercializan en forma inactivada. Para activarlos, en un envase plástico se prepararon 163.5 mL con 5% de EM inactivados, 5% de melaza y 90% de agua. El envase bien cerrado se colocó en un lugar oscuro y a partir del tercer día se abrió por diez segundos para liberar los gases que se generaron por efecto de la activación, además se registró el pH. Se esperaron 21 días hasta que el producto alcanzó un pH menor a 3.8 para usarlo.

Para la elaboración de los silos se cortó un área de 10 × 15 m de pasto Mulato II (*Brachiaria* sp.) con 35 días de crecimiento y se lo dejó secar al sol durante una hora, luego fue recogido y picado a una longitud de 2 cm, aproximadamente. Se usaron silos hechos con tubos de PVC de 15 cm de diámetro y 30 cm de longitud, que fueron llenados manualmente con 3.27 kg de pasto para obtener una densidad de 620 kg/m<sup>3</sup>. El pasto antes de ensilarlo fue tratado previamente con los productos EMA, Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> (según el tratamiento) y melaza, la cual se aplicó a todos los tratamientos a razón de 4% de la materia fresca, es decir, 0.13 kg/silo para ayudar en la fermentación. Al primer tratamiento, se agregaron 10 L/t de EMA, es decir 32.7 mL/silo de pasto, al segundo tratamiento Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> a razón de 250 g/t es decir, 32.7 mg/silo de pasto.

Los tubos se sellaron en los extremos con bolsas de plástico negro, reforzadas con cabuya plástica y cinta de embalaje para evitar la entrada de aire y lograr un ambiente anaeróbico.

A los 25 días se abrieron los silos y se realizaron evaluaciones organolépticas de olor, presencia de hongos y grado de daño (pudrición) del material en los primeros 3 cm de cada extremo para determinar la calidad del pasto ensilado (Cuadros 1) y se sumaron éstos parámetros para estimar un índice de daño. Además se tomaron muestras de 300 g de cada silo, las que se secaron durante 48 horas en un horno a 60°C para determinar la materia Seca (MS). De cada repetición por tratamiento se tomó una submuestra para obtener una muestra compuesta en la que se determinó el contenido de Proteína Cruda (PC) por el método Kjeldhal (AOAC 1980) y la Digestibilidad *in vitro* de la Materia Orgánica (DIVMO) por el método de Mencke *et al.* (1979).

Cuadro 1. Evaluación organoléptica de ensilaje de pasto Mulato II (*Brachiaria sp.*)

Descripción	Calificación
Olor:	
Ácido	1
Dulce	2
Rancio	3
Daño:	
Ausencia	0
Poco	1
Medio	2
Alto	3
Hongos:	
Ausencia	0
Poco	1
Medio	2
Alto	3

### 2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA). Para el análisis de datos se empleó el programa “Statistical Analysis System” (SAS<sup>®</sup> 2005), se utilizó el Modelo Lineal General (GLM) que involucra comparación de medias en los valores donde se encontraron diferencias con la prueba Tuckey con un nivel de significancia exigido de  $P < 0.05$ .

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 EFECTO DE LOS INOCULANTES SOBRE EL pH Y LA MATERIA SECA (MS)

El contenido de la materia seca fue similar ( $P>0.05$ ) en los tres tratamientos ya que todas tuvieron el mismo manejo durante todo el proceso previo y posterior al ensilado; el bajo promedio de MS (alrededor del 22%) fue debido a que el pasto tuvo poco tiempo de marchitamiento en el campo antes de ser ensilado. El pH del testigo fue menor ( $P<0.05$ ) que el de los dos tratamientos los cuales fueron similares (Cuadro 2). El pH obtenido en los tres tratamientos está dentro del rango óptimo para conservar el ensilaje de 3.8 a 4.2. Para el uso de aditivos se sugiere que antes de agregar el inoculante el pasto debe marchitarse para lograr una mejora en la fermentación.

Cuadro 2. Efecto de la aplicación de EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> sobre la Materia Seca (MS) y pH en el ensilaje de pasto Mulato II (*Brachiaria* sp.)

Tratamiento	MS (%)	pH
Microorganismos Eficientes Activados (EMA)	21.40 ± 0.004 <sup>a†</sup>	4.24 ± 0.04 <sup>a</sup>
Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup>	22.07 ± 0.002 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.01 <sup>a</sup>
Testigo	21.60 ± 0.003 <sup>a</sup>	3.98 ± 0.02 <sup>b</sup>

<sup>†</sup> Valores en la misma columna con diferente letra difieren entre sí ( $P<0.05$ )

#### 3.2 EFECTO DE LOS INOCULANTES EN EL CONTENIDO DE PROTEÍNA CRUDA (PC) Y LA DIVMO

El contenido de Proteína Cruda fue de 12% (Cuadro 3), valor inferior al obtenido por Castillo (2006) con el mismo pasto, que con una fertilización de 150 kg de N/ha/año a los 21 días mostró un contenido de proteína de 15.1%. Posible causa de esta diferencia es la mayor edad del pasto que se usó para el ensilaje y la fermentación durante la cual parte de la PC es utilizada por los microorganismos durante el proceso de ensilado y posteriormente eliminada en forma de amoníaco (Roca Fraga 2005) que se pierde al abrir el silo.

La DIVMO osciló entre 55 a 57.8%, los valores de los tratamientos están dentro del rango encontrado en Zamorano para ensilajes de entre 50 a 60% (Vélez *et al.* 2002).

Cuadro 3. Efecto de la aplicación de EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> sobre la Proteína Cruda (PC) y DIVMO en el ensilaje de pasto Mulato II (*Brachiaria* sp.) con el uso de EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>.

Tratamiento	PC (%)	DIVMO (%)
Microorganismos Eficientes Activados (EMA)	11.8	55.0
Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup>	12.0	57.8
Testigo	12.7	56.2

### 3.3 CALIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL ENSILAJE

La evaluación de la calidad del ensilaje mostró que el pasto tratado con EMA tenía un olor dulce mientras que el tratado con Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> y el testigo tuvieron olor ácido lo que indica un adecuado punto de fermentación ( $P < 0.05$ ). Los tres tratamientos mostraron daño en los primeros 3 cm de cada extremo de los tubos de PVC debido a la entrada de aire. La presencia de hongos fue diferente ( $P < 0.05$ ); el tratamiento con EMA mostró incidencia de hongos ya que este producto contiene levaduras que alargan el tiempo de fermentación dando lugar a la proliferación de hongos, lo que ocurrió en el tratamiento con Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> y el testigo

Cuadro 4. Calificación de la calidad del ensilaje de pasto Mulato II (*Brachiaria* sp.) con el uso de EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>.

Tratamientos	Olor	Daño	Hongos
Microorganismos Eficientes Activados (EMA)	2 <sup>a&amp;</sup>	1.6 ± 0.55 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
Sil-All 4 × 4 <sup>®</sup>	1 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.55 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
Testigo	1 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.55 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>

<sup>&</sup> Valores en la misma columna con diferente letra difieren entre sí ( $P < 0.05$ )

Se realizó una comparación de costos entre EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>, cuyos precios en el mercado son: \$10 por litro y \$30 por 250 g respectivamente. La recomendación para EMA es 1 L/t y para Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> 250 g/25t, por lo que el costo para realizar una tonelada de ensilaje utilizando Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> es de \$1.20 y de \$5 con EMA.

## 4. CONCLUSIONES

El efecto de los Microorganismos Eficientes con relación al Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> no mostró diferencias en MS, pH, PC y DIVMO.

Los tres tratamientos mostraron daño; en el tratamiento con EMA se observó incidencia de hongos. El olor fue dulce y ácido para EMA y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> respectivamente.

El tratamiento con EMA es más costoso que con Sil-All 4 × 4<sup>®</sup>.

## **5. RECOMENDACIONES**

Realizar estudios del efecto del uso de Microorganismos Eficientes Activados (EMA) y Sil-All 4 × 4<sup>®</sup> en la digestibilidad *in vivo* del ensilaje.

Medir el contenido de proteína cruda del pasto antes del ensilaje para compararlo con el del material ensilado.

## 6. LITERATURA CITADA

AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists 13<sup>ra</sup> Ed. Washington. D.C., USA. 520 p.

Aoki, M. 1994. Report on Acute Toxicity Study by Single Administration. Using Mice. Kizato Research Center of Environment Science. 15 p.

Cai, Y.; Benoo, Y.; Ogawa, M.; Kumai, S. 1998. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. *Journal of Dairy Science*. 82:520-526.

Cañas, R. 1995. Alimentación y Nutrición Animal. Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. 576 p.

Castillo, M. 2006. Producción y composición de los cultivares Mulato I y II de *Bachiaria* híbrido inoculados con Micorriza y *Trichoderma harzianum*. Tesis Lic. Ing. Agr. Honduras, Zamorano. 15 p.

EM Technologies. 1997. EM Swine Production Manual Using Effective Microorganisms (EM) in EM Probiotic and EM Waste Treatment to Improve Production, Control Odors and Process Wastes. EM Technologies. Tucson, Arizona, USA. 15 p.

Gallo, M; Mera, M. 2001. Evaluación de ensilaje de cáscara de banano maduro para consumo de ganado bovino. Tesis Lic. Ing. Agr. Costa Rica, EARTH. 43 p.

Kung, L.; Grieve, D.; Thomas, J.; Huber, J. 1984. Added ammonia on microbial inoculation for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled and various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science*. 67: 299-306.

Mencke, K.H.; Raab, L.; Salewski, A; Steingass, H.; Fritz, D.; Schneider, W. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agriculture Science*. 93:217-222.

Roca Fraga, F. 2005. Efecto del presecado y de la aplicación de cultivos lácticos sobre la calidad y el deterioro aeróbico el ensilaje de los pastos King Grass y Mulato I. Tesis Lic. Ing. Agr. Honduras, Zamorano. 19 p.

SAS<sup>®</sup>. 2005. User's Guide. Statistical Analysis System Inc. Carey N.C.

Vélez, M.; Hincapié, J.J.; Matamoros, I.; Santillán, R. 2002. Producción de ganado lechero en el trópico. 4a ed. Zamorano Academic Press, Zamorano, Honduras. 320 p.