

**Efecto de la inoculación de enzimas y
bacterias ácido lácticas sobre la digestibilidad
in vivo e *in vitro* de ensilaje de pasto Tobiata
(*Panicum maximum*) y de pasto *Brachiaria*
híbrido CIAT 36087(Mulato II)**

Rodrigo Javier Mack León

Nicolás Velásquez Mejía

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2007

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Efecto de la inoculación de enzimas y bacterias ácido lácticas sobre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de ensilaje de pasto Tobiata (*Panicum maximum*) y de pasto *Brachiaria* híbrido CIAT 36087(Mulato II)

Proyecto Especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingenieros Agrónomos en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Rodrigo Javier Mack León

Nicolás Velásquez Mejía

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

Los autores conceden a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Rodrigo Javier Mack León

Nicolás Velásquez Mejía

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

Efecto de la inoculación de enzimas y bacterias ácido lácticas sobre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de ensilaje de pasto Tobiata (*Panicum maximum*) y de pasto *Brachiaria* híbrido CIAT 36087 (Mulato II)

Por:

Rodrigo Javier Mack León

Nicolás Velásquez Mejía

Aprobado:

Miguel Vélez, Ph.D.
Asesor Principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director de la Carrera
de Ciencia y Producción
Agropecuaria

Isidro A. Matamoros, Ph.D.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

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

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

DEDICATORIA R.J.M.

A Dios y mi familia.

DEDICATORIA N.V.M.

A mis padres, hermano y familiares que siempre estuvieron conmigo.

AGRADECIMIENTOS R.J.M.

A Dios por estar siempre a mi lado.

A mis padres y familia por su constante e incondicional apoyo, sin el cual esto no sería posible.

Al Dr. Miguel Vélez por su importante apoyo y consejos que me brindó para la elaboración del proyecto y la vida.

A Carlos Martínez por su ayuda para la ejecución de este proyecto.

A Iván Maradiaga por su ayuda en el análisis químico de este proyecto.

A todos mis colegas quienes me ayudaron en la ejecución del proyecto.

A mis amigos y compañeros del colegio y de la EAP por brindarme su amistad y por haber compartido conmigo momentos de alegría y darme ánimos para poder culminar mis estudios.

AGRADECIMIENTOS N.V.M.

A Dios por estar siempre conmigo.

A mis padres y familiares por el apoyo incondicional y la confianza entera.

Al Dr. Miguel Vélez por el apoyo y compromiso como docente.

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

RESUMEN

Mack, R.; Velásquez, N. 2007. Efecto de la inoculación de enzimas y bacterias ácido lácticas sobre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de ensilaje de pasto Tobiata (*Panicum maximum*) y de pasto *Brachiaria* híbrido CIAT 36087 (Mulato II). Proyecto especial de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 9 p.

Se evaluó el efecto de la inoculación de enzimas y bacterias productoras de ácido láctico (Sil All 4x4[®], Alltech Inc.) sobre la digestibilidad del ensilaje de los pastos Tobiata (*Panicum maximum*) y Mulato II (*Brachiaria* híbrido) de 35 días de crecimiento. La digestibilidad *in vivo* se determinó utilizando borregos de las razas Katahdin y Black Belly. Se realizaron cuatro tratamientos: Tobiata con Sil-All[®] y melaza, Tobiata con melaza, Mulato II con Sil-All[®], y melaza, y Mulato II con melaza. El consumo de Materia Seca (MS) por kg de Peso Vivo (PV) del pasto Mulato II fue superior en un 19% al de Tobiata (34.6 y 31.2 g MS / kg PV, respectivamente). El ensilaje de Tobiata con melaza tuvo 12% más digestibilidad *in vivo* de MS que Mulato II con melaza (66.5 y 59.8 %, respectivamente). El ensilaje de Tobiata con Sil-All[®] y melaza tuvo un 8% más de digestibilidad *in vivo* de MS, (70.9 y 63.3 %, respectivamente) un 7% más en digestibilidad *in vivo* de Materia Orgánica (MO) y un 9% más en digestibilidad *in vivo* de Proteína Cruda (PC) que en Tobiata con melaza. Se concluye que Sil-All[®] aumentó la digestibilidad *in vivo* de MS, MO y PC en el pasto Tobiata; En el pasto Mulato II se observó la tendencia a aumentar la digestibilidad *in vivo* pero no se encontró diferencia significativa. La digestibilidad *in vitro* fue similar entre tratamientos.

Palabras clave: FND, FAD, Materia Seca, Materia Orgánica, Proteína Cruda, consumo.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Hoja de firmas.....	iii
Dedicatoria R.J.M.....	iv
Dedicatoria N.V.M.....	v
Agradecimientos R.J.M.....	vi
Agradecimientos N.V.M.....	vii
Resumen.....	viii
Contenido.....	ix
Índice de cuadros.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	2
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
CONCLUSIONES.....	6
RECOMENDACIONES.....	7
LITERATURA CITADA.....	8

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Composición de los ensilajes de los pastos Tobiata y Mulato II. Fibra Neutra Detergente (FND), Fibra Ácida Detergente (FAD), Materia Orgánica (MO), Extracto Etéreo (EE), Proteína Cruda (PC), Energía Bruta (EB).....	4
2. Consumo de MS del ensilaje en gramos por kilogramos de Peso Vivo (PV) del animal y la digestibilidad <i>in vivo</i> de la MO e <i>in vitro</i> de la MO de los pastos Tobiata y Mulato II.....	5
3. Digestibilidad aparente <i>in vivo</i> de la MS, la FND, la FAD y la PC.....	5

INTRODUCCIÓN

El ensilaje permite preservar alimento para su uso posterior, con pérdidas mínimas de calidad nutricional (Wattiaux 2005). En el ensilado, hay exclusión de oxígeno y acidificación por la acción de bacterias anaeróbicas autóctonas o de un inoculante. Hay exclusión de los microorganismos aeróbicos estrictos incluyendo levaduras y otros hongos, y si la acidificación es rápida y extensa de bacterias anaeróbicas estrictas que causan un deterioro del ensilado (Woolford 2000).

Si no se produce suficiente ácido o el contenido de materia seca es bajo, crecen bacterias menos tolerantes al ácido. Estas bacterias se conocen como clostridio, fermentan el ácido láctico y los azúcares a ácido butírico y desdoblan las proteínas a amidas, aminas y amoníaco dejando un complejo de sustancias mal olientes (Woolford 2000). Los clostridio tienden a crecer más rápido a temperaturas de 35°C (temperatura superior a la de las otras bacterias en el ensilaje); por lo tanto, este tipo de fermentación también ocurre cuando la respiración y la fermentación enterobacterial son extensas y la temperatura del ensilaje se eleva en las fases tempranas del proceso de fermentación (Wattiaux 2005).

El inoculante, Sil-All[®], fabricado por Alltech, contiene bacterias homofermentativas acidolácticas (*Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus salivarius*), acondicionadas para crecer en el ambiente del ensilado, y enzimas (amilasa, hemicelulasa, celulasa, pentonasa) para generar azúcares a partir de los carbohidratos de la planta no accesibles a las bacterias acidolácticas, como la celulosa y el almidón (Woolford 2000).

Su efecto sobre el valor nutricional de los ensilajes de pastos tropicales es poco conocido, por lo que se decidió evaluarlo con ensilajes de los pastos guinea (*Panicum maximum*) var. Tobiata y *Brachiaria* híbrida var. Mulato II que son de uso frecuente en el trópico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en octubre y noviembre del 2006 en la sección de rumiantes menores de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, km 33 carretera a Danlí. Con una altura de 800 msnm, una precipitación de 1100 mm en seis meses y una temperatura promedio anual de 24° C.

Se utilizó pasto Tobiata y Mulato II de 35 días de crecimiento. El pasto Tobiata fue picado antes del ensilaje, no así el Mulato II. Ambos pastos fueron presecados por 3 horas. Se elaboraron ocho silos, cada uno con una dimensión de 0.6 ancho × 0.6 altura × 4 metros. En cada uno se ensilaron 850 kg de pasto a una densidad de 600 kg/m³. Se adicionó melaza a razón de 30 kg/t a todos los silos, y se inocularon dos silos de cada pasto con Sil-All[®] a razón de 250 g / 25 t, equivalentes a 8.64 g para cada silo.

Se obtuvieron así cuatro tratamientos:

- Ensilaje de Tobiata con Sil-All[®] y melaza
- Ensilaje de Tobiata con melaza
- Ensilaje de Mulato II con Sil-All[®] y melaza
- Ensilaje de Mulato II con melaza

A los 28 días de hecho el silo se inició el ensayo, el cual se realizó en dos etapas de dos semanas cada una. En la primera se alimentaron los animales con silo de pasto Mulato II, el cual fue picado antes de ser ofrecido, y en la segunda se alimentaron con silo de pasto Tobiata. Se colocaron diez borregos (cinco por tratamiento) de las razas Black Belly y Katahdin con pesos de 24 a 45 kg en jaulas individuales de 1.20 m × 0.80 m. La primera semana en las dos etapas consistió en el acostumbramiento a la jaula y el alimento. En la segunda semana se les colocó un arnés de recolección de heces, y se pesó a diario el alimento ofrecido, el alimento rechazado y las heces. Entre las dos etapas los animales tuvieron un periodo de descanso de una semana con el rebaño.

Se sacó una muestra diaria de 100 g del alimento ofrecido, del alimento rechazado y de las heces a cada animal. Estas se depositaron en bolsas plásticas y se congelaron el mismo día y al final de la semana se descongelaron, homogeneizaron y enviaron al laboratorio para su análisis. Las muestras de lo ofrecido y las heces se secaron en un horno a 60°C por 48 horas para determinar la MS aparente, luego se determinó la Materia Seca (MS) real de lo ofrecido por medio de Espectroscopía de Rojo Cercano (NIR). Las heces se secaron en un horno a 105°C por 24 horas; la Materia Orgánica (MO) de lo ofrecido y heces se determinó incinerando las muestras a 550°C por 6 horas; la Fibra Neutra Detergente (FND) y Fibra Ácido Detergente (FAD) de los pastos y heces se determinaron por el

método de Van Soest y Wine (1967); la Proteína Cruda (PC) de lo ofrecido se determinó por medio de NIR y de las heces por el método de Kjeldahl (AOAC 2005); la Energía Bruta (EB) de lo ofrecido por medio de NIR. Además en cada tratamiento se determinó la digestibilidad *in vitro* de la MO por el método Mencke *et al.* (1968).

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA). Se realizó una separación de medias con una prueba T y una probabilidad de ≤ 0.05 , usando el programa estadístico Statistical Product and Service Solutions (SPSS 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de la MS fue similar entre tratamientos en ambos pastos lo que coincide con lo encontrado por Almeida y Cárdenas (2006) y por García (2006). El ensilaje de pasto Mulato II tuvo mayor contenido de MS que el de Tobiata (Cuadro 1). Almeida y Cárdenas (2006) encontraron 22% de MS en ensilaje de Mulato II presecado una hora; en ensilaje de Tobiata presecado por tres horas García (2006) encontró 34% de MS, similar a los valores encontrados en este ensayo.

El contenido de la MO, la PC y la EB del ensilaje de pasto Tobiata y Mulato II fueron similares; el Sil-All[®] no tuvo ningún efecto en su composición (Cuadro 1). En el caso del Mulato II el contenido de PC en zonas bajas tropicales está entre 9 y 15% (CIAT 2005). En el Zamorano en pasto fresco Martínez (2001) encontró 13% de PC en Tobiata y Castillo (2006) 14% en Mulato II, superior al de este estudio. En el caso de Tobiata el contenido de la FND y de la FAD tendió a ser menor con Sil-All[®], con niveles similares a los obtenidos en Zamorano por Aguilar (2005) en pasto fresco de 55 y 36.9% respectivamente.

El Sil-All[®] no afectó la composición del ensilaje de pasto Mulato II (Cuadro 1). En el caso de la FND y de la FAD Castillo (2006) en pasto fresco determinó en Zamorano valores de 50 y 29% con 21 días de crecimiento, inferiores a los valores en este ensayo. Según Méndez (2005) el contenido de la FND aumenta con la edad de corte y el tiempo de presecado. Según García (2006) Sil-All[®] no afecta ($P>0.05$) el contenido de la FND, la FAD y la PC.

Cuadro 1. Composición de los ensilajes de los pastos Tobiata y Mulato II. Fibra Neutra Detergente (FND), Fibra Ácida Detergente (FAD), Materia Orgánica (MO), Extracto Etéreo (EE), Proteína Cruda (PC), Energía Bruta (EB).

Pasto	Tratamiento	%					cal/kg EB
		MS	MO	FND	FAD	PC	
Tobiata	Con Sil-All [®]	34.93	87.14	56.22	34.73	11.21	4162
	Sin Sil-All [®]	34.33	88.25	61.39	38.81	10.43	4134
Mulato II	Con Sil-All [®]	37.86	86.48	57.35	32.79	10.21	4208
	Sin Sil-All [®]	36.25	87.38	58.82	33.69	09.96	4202

El consumo de la MS del ensilaje de pasto Tobiata fue menor ($P=0.00$) con 31.29 ± 4.50 g por kg de peso vivo, que del ensilaje de pasto Mulato II con 37.30 ± 6.06 g por kg de peso vivo. El Sil-All[®] no afectó ($P>0.05$) el consumo de la MS en ninguno de los pastos (Cuadro 2).

La digestibilidad aparente *in vivo* de la MS del ensilaje de pasto Tobiata con Sil-All[®] fue mayor ($P < 0.05$) que sin Sil-All[®]. En el ensilaje de pasto Mulato II la adición de Sil-All[®] no tuvo efecto ($P > 0.05$). La digestibilidad aparente *in vivo* de la MS del testigo del ensilaje de pasto Mulato II concuerda con lo encontrado por Suárez (2007) en pasto fresco Mulato II de 61.45%. La digestibilidad aparente *in vivo* de la MS del ensilaje de pasto Tobiata fue mayor ($P < 0.05$) en 12.57% que la del ensilaje del testigo de pasto Mulato II. Igualmente, la digestibilidad *in vitro* de la MO fue mayor en el ensilaje de pasto Tobiata que en el ensilaje de pasto Mulato II (Cuadro 2).

En un muestra de ambos pastos cortada a 15 cm del suelo, se encontró que la relación hoja:tallo en Tobiata fresco fue de 65:35 y en base seca de 20:7 y en Mulato II de 57:43 y 14:9, respectivamente. La mayor cantidad de hoja del pasto Tobiata pudo influenciar en su mayor digestibilidad.

La digestibilidad *in vitro* de la MO no fue afectada por los tratamientos (Cuadro 2), esto concuerda con lo encontrado en Zamorano por Almeida y Cárdenas (2006) que obtuvieron una digestibilidad *in vitro* en ensilaje de pasto Mulato II de 57.8% con Sil-All[®] y de 56.2% sin Sil-All[®], pero no con lo encontrado por García (2006) quien obtuvo 57.5 y 52.3% respectivamente en ensilaje de pasto guinea (var. Tanzania).

Cuadro 2. Consumo de MS del ensilaje en gramos por kilogramos de Peso Vivo (PV) del animal y la digestibilidad *in vivo* de la MO e *in vitro* de la MO de los pastos Tobiata y Mulato II.

Pasto	Tratamiento	Consumo (g MS / kg PV)	Digestibilidad %	
			<i>In vivo</i> (MO)	<i>In vitro</i> (MO)
Tobiata	Con Sil-All [®]	32.14 ± 4.7 ^a	70.87 ± 7.45 ^a	61.30
	Sin Sil-All [®]	30.33 ± 4.0 ^a	66.47 ± 6.81 ^b	60.95
Mulato II	Con Sil-All [®]	38.29 ± 6.1 ^b	63.30 ± 8.20 ^{bc}	56.20
	Sin Sil-All [®]	36.36 ± 6.0 ^b	59.80 ± 8.41 ^c	57.04

^{abc} Valores en la misma columna con letras distintas difieren entre sí ($P < 0.05$)

Sil All tuvo efecto ($P < 0.05$) en el ensilaje de pasto Tobiata aumentando la digestibilidad aparente *in vivo* de la MS y la de PC. En el caso de Mulato II, aumentó la digestibilidad de la FND. Al comparar los testigos de los ensilajes de cada pasto, Tobiata fue superior ($P < 0.05$) en digestibilidad de la MS, la FND, la FAD y la PC (Cuadro 3).

Cuadro 3. Digestibilidad aparente *in vivo* de la MS, la FND, la FAD y la PC.

Pasto	Tratamiento	%			
		MS	FND	FAD	PC
Tobiata	Con Sil-All [®]	68.61 ± 8.01 ^a	67.44 ± 8.18 ^a	66.76 ± 08.42 ^a	73.81 ± 6.56 ^a
	Sin Sil-All [®]	63.67 ± 7.37 ^b	65.58 ± 6.90 ^a	65.36 ± 07.91 ^a	67.43 ± 6.25 ^b
Mulato II	Con Sil-All [®]	60.62 ± 8.79 ^{bc}	63.23 ± 8.40 ^{ab}	55.25 ± 10.45 ^b	64.18 ± 7.91 ^{bc}
	Sin Sil-All [®]	56.56 ± 9.06 ^c	59.47 ± 9.02 ^b	52.44 ± 10.42 ^b	62.08 ± 7.91 ^c

^{abc} Valores en la misma columna con letras distintas difieren entre sí ($P < 0.05$)

CONCLUSIONES

- La composición de los ensilajes fue similar.
- El consumo de MS entre tratamientos fue similar.
- En los testigos, el ensilaje de pasto Tobiata tuvo mayor digestibilidad que el de Mulato II.
- En el ensilaje de Tobiata Sil-All[®] mejoró la digestibilidad aparente *in vivo* de la MS, la MO y la PC, pero no la de la FND y la FAD.
- En el ensilaje de Mulato II Sil-All[®] mejoró la digestibilidad *in vivo* de la FND, pero no tuvo ningún efecto en la de la MS, la MO, la FAD y la PC.
- La digestibilidad *in vitro* fue similar entre tratamientos.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de digestibilidad *in vivo* de pasto fresco por componentes a diferentes edades de corte en Tobiata y Mulato II.
- Determinar el efecto de ensilajes tratados con Sil-All[®] sobre la productividad de leche y carne.

LITERATURA CITADA

Aguilar, M. 2005. Evaluación de la producción y el valor nutricional de los pastos *Brachiaria* híbrido cv. Mulato I y *Panicum maximum* cv. Tobiata en tres zonas climáticas de Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 13 p.

Almeida, M. y Cárdenas, D. 2006. Efecto del uso de Microorganismos Eficientes sobre la calidad del ensilaje de pasto Mulato II. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 16 p.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist. William Horwitz, ed. 18th. Ed. Maryland, USA.

Castillo, M. 2006. Producción y composición de los cultivares Mulato I y Mulato II de *Brachiaria* híbrido inoculados con micorriza y *Trichoderma harzianum*. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 14 p.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 2005. Cultivar Mulato II. (En línea). Consultado 2 de agosto del 2007. Disponible en:
http://www.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf/mulato_ii_espanol.pdf

García, F. 2006. Efecto del presecado y de la adición de Sil-All[®] sobre la calidad de ensilaje de pasto Tanzania (*Panicum maximum*) en Zamorano, Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 10 p.

Martínez, A. 2001. Comparación de los cultivares Tobiata y Tanzania del pasto Guinea (*Panicum maximum*) en Zamorano, Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 11 p.

Méndez, R. 2005. Valor nutricional del ensilaje de *Brachiaria* sp. híbrido Mulato (pasto Mulato) a tres edades de corte y tres secados por edad. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 15 p.

Menke, K.H.; Rabb, L.; Salewski, H.; Skingass, D.; Fritz y W. Schneider. 1968. "The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of the ruminant feedings stuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal Agricultural Science (Cambridge). 93: 217-222 p.

Suárez, J. 2007. Digestibilidad aparente del Pasto Mulato II (*Brachiaria* híbrido) en Cabras y Ovejas. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 18 p.

SPSS. 2006. SPSS 15.0 for windows version. SPSS Inc. E.U.A.

Van Soest, P; Wine, R. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. LV. Determination of plant cell wall constituents. Journal Association Off Agricultural Chemist 46: 829-835 p.

Wattiaux, M. 2005. Introducción al proceso de ensilaje (en línea). Consultado el 6 de septiembre del 2006. Disponible en: babcock.cals.wisc.edu/downloads/du/du_502.es.pdf

Woolford, M. 2000. La ciencia y tecnología del proceso de ensilaje. Alltech Biotechnology Center. Kentucky, USA. 60 p.