

**Efecto en pH y proteína cruda de cuatro dosis
de bacterias homofermentativas de ácido
láctico con tres niveles de picado en ensilaje
de caña de azúcar**

Aris Bionel Cano Espinoza

Elvis Javier Ferreira Bultrón

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2012

ZAMORANO
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Efecto en pH y proteína cruda de cuatro dosis de bacterias homofermentativas de ácido láctico con tres niveles de picado en ensilaje de caña de azúcar

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

Aris Bionel Cano Espinoza

Elvis Javier Ferreira Bultrón

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2012

Efecto en pH y proteína cruda de cuatro dosis de bacterias homofermentativas de ácido láctico con tres niveles de picado en ensilaje de caña de azúcar

Presentado por:

Aris Bionel Cano Espinoza
Elvis Javier Ferreira Bultrón

Aprobado:

Isidro A. Matamoros, Ph.D.
Asesor principal

Celia O. Trejo, Ph.D.
Asesora

Abel Gernat, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia y Producción
Agropecuaria

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

RESUMEN

Cano Espinoza, A.B. y Ferreira Bultrón, E.J. 2012. Efecto en pH y proteína cruda de cuatro dosis de bacterias homofermentativas de ácido láctico con tres niveles de picado en ensilaje de caña de azúcar Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras, 12 p.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto en pH y proteína cruda de cuatro dosis de bacterias homofermentativas de ácido láctico con tres niveles de picado en ensilaje de caña de azúcar, para la preservación de forrajes. El estudio se realizó de agosto a noviembre del 2011 en la unidad de ganado lechero de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Los tamaños de picados de caña (Pic) 3.5, 8.5 y 11 mm fueron colocados en dos tamaños de microsilos, colocando 2.02 kg en los microsilos pequeños y 3.71 kg en los silos grandes, las dosis utilizadas para la inoculación de las bacterias (Bac), Biomin[®] BioStabil Plus, en los microsilos fueron 0, 2, 4 y 6 g/t en una relación de dilución de 1:1 g/L aplicando 0, 4, 8 y 12 mL en los silos pequeños y 0, 7, 15 y 22 mL en los silos grandes, luego fueron compactados y sellados. Al destapar los microsilos se evaluaron las características organolépticas olor, color y textura para determinar la calidad del ensilaje. Se realizaron 12 tratamientos haciendo una relación entre las cuatro dosis de bacterias utilizadas y los tres niveles de picado de caña, cada tratamiento contenía 6 repeticiones y en total fueron 72 unidades experimentales. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con arreglo factorial 3×4 , las variables fueron analizadas mediante el Modelo Lineal General (GLM), se utilizó la prueba de Duncan para determinar la separación de medias con un nivel de significancia de 0.05 y una prueba de correlación para determinar relación de inóculo con porcentaje de proteína cruda. No hubo diferencias significativas entre el tamaño de picado y el pH del ensilaje ($P > 0.05$). No se encontró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la cantidad de bacterias inoculadas y el pH del ensilaje, sin embargo, la media para los niveles de pH (3.47, 3.43, 3.45 y 3.46 respectivamente) se mantuvieron en el rango adecuado ($pH \leq 4.5$) en los dos casos. Al evaluar la combinación tamaño de picado y dosis de bacteria se encontraron diferencias significativas en la variación del pH en los tratamientos Bac 4-Pic 11 y Bac 0 - Pic 8.5. La adición de bacterias homofermentativas de ácido láctico disminuye el pH del silo sin embargo, la dosis de bacteria agregada no tiene influencia en los procesos de fermentación, evidenciado por los niveles de pH. No existe aumento en el porcentaje de proteína cruda al utilizar Biomin[®] BioStabil Plus.

Palabras clave: Inoculantes biológicos, pH de ensilajes, *Saccharum officinarum*.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4 CONCLUSIONES.....	9
5 RECOMENDACIONES.....	10
6 LITERATURA CITADA.....	11

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Relación entre dosis de bacteria y niveles de picado de caña....	4
2. Características organolépticas para la evaluación de calidad de los ensilajes.....	5
3. Media de pH de la interacción nivel de picado y dosis de Biomin [®] BioStabil Plus..	7
4. Efecto en el pH del ensilaje con Biomin [®] BioStabil Plus en cada nivel de picado...	7
5. Calidad del ensilaje según las características organolépticas de los tratamientos....	8
6. Correlación entre pH, proteína cruda y dosis de Biomin [®] BioStabil Plus.....	8

1. INTRODUCCIÓN

En el trópico, debido a la marcada diferencia que existe entre la época de abundancia de alimento y la de escasez, los agricultores se ven sometidos a implementar tecnologías para la conservación de los mismos y así garantizar alimento todo el año. Una técnica comúnmente utilizada es el ensilaje, el cual consiste en preservar forrajes en un ambiente ácido. Este ambiente es propiciado por la formación de ácidos orgánicos e inorgánicos (principalmente ácido láctico) que se producen al momento de la fermentación anaeróbica de los azúcares contenidos en el material vegetal (Mühlbach 2001).

El proceso de ensilaje consta de cuatro fases. La fase aeróbica dura pocas horas y en esta fase se consume el oxígeno atmosférico contenido en la masa vegetal, debido a la respiración del material y a la acción de algunas enzimas (si el pH está dentro del rango ideal 6.0-6.5). La fase de fermentación se lleva a cabo de días a semanas, se torna anaeróbico el silo, lo que aumenta la acción de las bacterias ácido lácticas y se reduce el pH a valores de 3.8 y 5.0. La fase estable, en esta fase ocurren pocos cambios, siempre y cuando se mantenga anaeróbico el silo; la estabilidad en pH evita que se desarrollen microorganismos como enterobacterias y algunas levaduras. La fase de deterioro aeróbico se lleva a cabo cuando el silo es abierto para fines de alimentación, hay un ascenso del pH y entrada de oxígeno lo que hace que se descompongan algunos ácidos orgánicos que mantenían el silo y promueve la formación de colonias de microorganismos descomponedores de materia orgánica (Oude *et al.* 2001).

Los ensilajes pueden ser realizados de diferentes forrajes sean estos: sorgo, maíz, trigo, cebada o caña de azúcar. Sin embargo, la calidad del ensilaje depende de la calidad del forraje. Según Chaves (s.f.), la caña de azúcar presenta el mayor potencial dentro de las gramíneas tropicales que han sido utilizadas como forraje ya que tiene alta cantidad de energía por unidad de área por único corte al año, por mantener dichas reservas energéticas aún en temporada seca, por su elevada capacidad de producción de materia verde y seca y por su gran aceptación y digestibilidad tanto en monogástricos como en rumiantes. Sin embargo, ante estas ventajas, la caña de azúcar posee cierta limitante: su bajo contenido de proteína cruda (2-3%), lo que obliga a suplementar el requerimiento proteico de cualquier organismo mediante otras fuentes de proteína.

La caña de azúcar, al poseer niveles bajos de proteínas, es ensilada con otras especies forrajeras para mejorar su calidad. Mezclarlo con especies de alto contenido proteico es una buena alternativa para suprimir esta limitante. Según Mendieta *et al.* 2009, combinar caña de azúcar con *Moringa oleifera* incrementa el contenido de proteína cruda del ensilaje, además disminuye el pH lo que provoca que se incremente el contenido de ácido láctico y disminuye la pérdida de materia seca del silo.

Según León y Lopez (2009), otra manera de mejorar la calidad del silo de caña de azúcar es mediante el uso de aditivos sean estos biológicos o inorgánicos. Estos autores pudieron incrementar el contenido de proteína cruda del ensilaje de caña de azúcar incorporando al mismo 0.09% de urea y 0.01% de sulfato de amonio, logrando obtener un forraje de 12% de proteína cruda a partir de 4.1%. Knicky y Lingvall (2004) lograron incrementar la calidad de sus ensilajes al aplicar mezclas de benzoato de sodio, nitrato de sodio, hexamina, propionato de sodio, bisulfito de sodio y ácido propiónico en forrajes de baja calidad. La particularidad de la caña de azúcar es que debido a su concentración de carbohidratos solubles presenta una reducción rápida de pH, lo cual mejora la calidad del silo (Álvarez y Preston 1976).

El principal problema del ensilaje de caña de azúcar es que por su gran contenido de carbohidratos, en vez de una fermentación láctica ocurre una fermentación alcohólica, lo que promueve el crecimiento de levaduras que reducen el consumo ya que el alcohol no es un compuesto muy palatable para ganado (Álvarez y Preston 1976). Para solventar este problema es necesario agregar aditivos biológicos, estos aditivos biológicos pueden ser bacterias homofermentadoras de ácido láctico y como su nombre lo indica este grupo de bacterias hace que en el silo solo ocurra este tipo de fermentación y no una perjudicial. Estas bacterias generalmente son de los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus* (Oude *et al.* 2001).

El uso de estos aditivos se ha ido popularizando, así Weingberg *et al.* (1999), utilizaron *Lactobacillus buchneri* y *Lactobacillus plantarum* para tratar de extender la fase aeróbica del silo inoculando estas bacterias. Se inocularon aisladas y en combinación, sin embargo, en ambos casos se determinó que sí se extiende la calidad del silo aún cuando este ha sido abierto. Estas bacterias se utilizaron ya que eran las más comerciales y había experiencias sobre tal capacidad de mejora del silo.

Ávila *et al.* (2009) encontraron diferencias significativas entre el uso de inoculantes en ensilado. Demostraron que hay mayor contenido de carbohidratos solubles en ensilajes inoculados que los que no tenían inóculo artificial. Esto demuestra que al inocular los silos con bacterias homofermentadoras se reduce la pérdida de materia seca que normalmente se da en el proceso de ensilaje.

Además de mantener el contenido de carbohidratos solubles, otro indicador de un buen ensilaje es el pH. El cual se ve mejorado por la adición de bacterias e incluso podría tener rangos adecuados según el tamaño de partícula del ensilaje. El picado del forraje tiene tres efectos importantes en la fermentación: el material es inoculado con bacterias, se libera la savia de las plantas y se reduce la cantidad de oxígeno al compactar. El contenido de bacterias lácticas en los forrajes en crecimiento es mínima, cuando es dañado o picado aumenta la cantidad de estas bacterias lo cual es una fuente de inóculo natural para el ensilaje. Es difícil determinar cuantitativamente, si hay significancia en picar los forrajes, sin embargo, materiales que son picados muestran mayor contenido de ácido láctico y consecuentemente un menor pH que materiales que se ensilan sin picar (Rook y Thomas 1981).

Para evaluar la calidad de ensilajes se ejecuta una evaluación objetiva basada en color, olor y textura. Son preferibles los colores verde amarillentos o castaño amarillentos, los cuales están asociados a fermentación láctica y no poseen olores fuertes ni desagradables. El color verde oscuro indica fermentación butírica y tiene olores fuertes a amonio. El color café oscuro o negro indica fermentación acética y tiene olor a vinagre. La textura se clasifica de acuerdo a la consistencia y apariencia del ensilaje (Flores y Bryant 1989).

La importancia de hacer este inóculo de bacterias homofermentadoras de ácido láctico en ensilaje de caña radica en disminuir la fermentación alcohólica y en tratar de mantener la alta cantidad de carbohidratos como fuente de energía. Basado en la información sobre bacterias homofermentadoras de ácido láctico se decidió determinar el efecto de la dosis de estas bacterias sobre el pH del ensilaje, además de la interacción de esta variable con tres niveles de picado y su relación con el porcentaje de proteína cruda en el silo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó de agosto a noviembre del 2011, en la unidad de ganado lechero de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, a 30 km de Tegucigalpa, Honduras. Se encuentra a una altura de 800 msnm, con una precipitación promedio anual de 1,100 mm y una temperatura promedio anual de 24 °C.

Para este proyecto se utilizó caña de azúcar proveniente del valle de San Francisco, municipio de San Antonio de Oriente, departamento de Francisco Morazán. La variedad de caña utilizada para este proyecto fue la MEX 69290. El tipo de ensilaje que se utilizó fue microsilos hechos con tubos de poli cloruro de vinilo (PVC) en dos diferentes tamaños, 5.4 cm de radio × 35.5 cm de largo y 7.9 cm de radio × 30.5 cm de largo, en total se utilizaron 72 tubos, 36 de cada tamaño.

Para el ensilaje se utilizaron tres niveles de picado de caña 3.5, 8.5 y 11 mm, la máquina utilizada fue la picadora JF192 Z10. En los silos grandes se colocaron 3.71 kg de caña y en los silos pequeños 2.02 kg. En total por cada tamaño de microsilo se realizaron 12 microsilos por cada nivel de picado de caña.

Cada uno de los microsilos fue inoculado con bacterias ácido-lácticas homofermentativas (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus plantarum*) contenidas en el producto comercial Biomin® BioStabil Plus, las cuales permiten alcanzar una estabilidad óptima tanto anaeróbica como aeróbica de los ensilajes. Las dosis de bacterias utilizadas fueron 0, 2, 4 y 6 g/t en una relación de dilución de 1:1 g/L. De acuerdo a esta dilución las dosis utilizadas para cada tamaño de silo fueron de 0, 4, 8 y 12 mL para los silos pequeños y 0, 7, 15 y 22 mL para los silos grandes, luego se compactaron y fueron sellados. Se realizaron 12 tratamientos haciendo una relación entre las cuatro dosis de bacterias utilizadas y los tres niveles de picado de caña. Cada tratamiento contenía 6 repeticiones y en total fueron 72 unidades experimentales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Relación entre dosis de bacteria y niveles de picado de caña.

Nivel de picado (mm)	Dosis de bacterias (g)			
	0	2	4	6
3.5	Bac 0 - Pic 3.5.	Bac 2 - Pic 3.5.	Bac 4 - Pic 3.5.	Bac 6 - Pic 3.5.
8.5	Bac 0 - Pic 8.5.	Bac 2 - Pic 8.5.	Bac 4 - Pic 8.5.	Bac 6 - Pic 8.5.
11	Bac 0 - Pic 11.	Bac 2 - Pic 11.	Bac 4 - Pic 11.	Bac 6 - Pic 11.

Bac = Bacteria

Pic = Picado

Los silos fueron destapados aproximadamente cuatro meses después, donde se evaluaron las características organolépticas para determinar la calidad del ensilaje, principalmente en color, olor y textura (Cuadro 2) del ensilado clasificándolos como buenos, regulares o malos (Chaverra y Bernal 2000). Se realizaron mediciones de pH utilizando un potenciómetro sobre una solución acuosa formada por 25 g de ensilaje y 100 mL de agua destilada, tras una hora de reposo para la estabilización de la solución (Mier 2009).

Cuadro 2. Características organolépticas para la evaluación de calidad de los ensilajes.

Indicador	Buena	Regular	Mala
Color	Verde amarillento	Verde oscuro	Marrón oscuro
Olor	Agradable, con ligero olor a vinagre	Fuerte, ácido olor a vinagre	Desagradable, a mantequilla rancia
Textura	Conserva sus contornos continuos	Se separan las hoja fácilmente de los tallos tienden a ser transparentes y los vasos venosos muy amarillos.	No se observa diferencia entre tallos y hojas. Es más amorfa y jabonosa. Al tacto es húmeda y brillante.

Fuente: (Chaverra y Bernal 2000).

Se determinó el porcentaje de materia seca de cada muestra en el laboratorio de análisis de alimento de Zamorano. Se colocaron 500 g de ensilaje de cada una de las muestras en bolsas de papel. Posteriormente, fueron secadas en un horno el cual trabaja por convección a una temperatura de 70 °C por tres días.

Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con arreglo factorial 3×4 . La variable pH fue analizada mediante el Modelo Lineal General (GLM) y separación de medias utilizando la prueba de Duncan con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Se realizó una correlación para determinar si existió un incremento en proteína cruda con la utilización de Biomin[®] BioStabil Plus. Se utilizó el programa estadístico “Statistical Analysis Systems” 9.1 (SAS 2003).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tamaño de picado y nivel de pH. No hubo diferencias significativas entre el tamaño de picado y el pH del ensilaje ($P>0.05$). Sin embargo, la media de pH para cada picado se mantuvo dentro del rango ideal de ensilado (4-4.5) según Flores y Bryant (1989). Las medias de pH para los tamaños de partículas de 3.5, 8.5 y 11 mm fueron 3.43, 3.49 y 3.44 respectivamente. Éste resultado no coincide con los de Galindo y Rubio (2011), quienes evaluaron caña de azúcar con hidróxido de calcio con tamaños de partícula de 3.5, 6.5 y 11 mm y sí encontraron diferencias significativas entre el pH y el tamaño de picado. Sin embargo, estos autores no usaron inoculantes para mejorar los procesos de fermentación. Existe cierta controversia ya que autores como Rook y Thomas (1981) concluyen que es muy difícil establecer diferencias cuantitativas entre la influencia del tamaño de la partícula y el pH.

Dosis de Biomin[®] BioStabil Plus y nivel de pH. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre la cantidad de bacterias inoculadas y el pH del ensilaje. Los niveles de pH se mantuvieron dentro del rango adecuado ($pH\leq 4.5$). Las medias de pH para los niveles de bacteria de 0, 2, 4 y 6 g/t fueron de 3.47, 3.43, 3.45 y 3.46 respectivamente. Tales resultados coinciden con los de Weingberg *et al.* (1999) quienes no encontraron diferencias significativas entre la adición y no adición de bacterias como *Lactobacillus plantarum* y *L. Buchneri* y el nivel de pH. Estos autores encontraron que el pH disminuyó aun sin tomar en cuenta la adición de las bacterias. Éste último experimento fue realizado en ensilajes de trigo y sorgo. Otro experimento donde se evaluó *L.buchneri* en ensilaje de caña de azúcar, no se encontraron diferencias significativas entre el uso de esta bacteria y el cambio de pH, obteniendo valores muy similares a los obtenidos en este experimento (Ávila *et al.* 2009).

Interacción entre el tamaño de la partícula, dosis de Biomin[®] BioStabil Plus y pH. Se encontraron diferencias significativas ($P\leq 0.05$) en el cambio de pH al tomar en cuenta la combinación tamaño de picado y dosis de bacteria (Cuadro 3). El tratamiento Bac 4-Pic 11 tuvo diferencia significativa con siete de los once tratamientos respectivamente. Este tratamiento coincide con la recomendación que hace la casa comercial de las bacterias sobre la dosis de las mismas. Sin embargo, este tratamiento difiere ya que tiene pH más elevado que el de los demás tratamientos, por lo cual la significancia biológica se puede ver desde dos perspectivas. Una de ellas es que en efecto, el pH es significativamente mayor, por lo cual no tiene importancia biológica ya que no fue más bajo que el del control. Otra perspectiva es que, aunque el tratamiento no obtuvo pH inferior al control pero sí dentro del rango adecuado de ensilaje, se puede aceptar que tiene importancia biológica.

El tratamiento Bac 0 - Pic 8.5 mostró diferencias significativas con nueve de los once tratamientos. Éste y el tratamiento Bac 4 - Pic 11 tienen en común que son los tamaños más grandes de picado del experimento, lo cual puede explicar lo que argumentan Rook y Thomas (1981) que al momento de ensilar tamaños de partículas pequeños el proceso fermentativo anaeróbico es mejor debido a que la compactación desplaza mejor el oxígeno contenido entre partículas y se sella adecuadamente. Estos mismos autores sostienen que solo al picar el forraje éste se inocula con bacterias ácido lácticas que se encuentran en los líquidos que quedan adheridos a las picadoras que son medio hábil para el desarrollo de ellas.

Cuadro 3. Media de pH de la interacción nivel de picado y dosis de Biomin® BioStabil Plus

Nivel de picado (mm)	Dosis de bacteria (g/t)	pH
3.5	0	3.42 a [¥]
	2	3.42 a
	4	3.43 a
	6	3.45 ab
8.5	0	3.60 c
	2	3.48 ab
	4	3.39 a
	6	3.50 abc
11	0	3.40 a
	2	3.40 a
	4	3.57 bc
	6	3.42 a

[¥] Medias en columnas con letras diferentes, difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

El comportamiento de las bacterias en cada picado determinó que no se justifica inocular el ensilaje de caña cuando se utilizó el tamaño de partícula de 3.5 mm. Al aplicar 4 g/t de Biomin® BioStabil Plus se obtienen diferencias significativas en el descenso del pH. Sin embargo, esta misma dosis en el tamaño de partícula de 11 mm no mantuvo el mismo resultado. Esto reafirma lo que sostiene Rook y Thomas (1981) sobre el efecto de ensilar partículas de mayor tamaño (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto en el pH del ensilaje con Biomin® BioStabil Plus en cada nivel de picado.

Dosis de Biostabil (g/t)	Picado (mm)		
	3.5	8.5	11
0	3.42 a [¥]	3.60 b	3.40 b
2	3.42 a	3.48 ab	3.40 b
4	3.43 a	3.39 a	3.57 a
6	3.45 a	3.5 ab	3.42 b

[¥] Medias en columnas con letras diferentes, difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

Características organolépticas. El proceso de ensilaje se llevó a cabo de manera adecuada ya que arriba del 80% de las muestras presentaron buenas características organolépticas (Cuadro 5). Se demuestra que la variación de los tratamientos no fue debido a malas condiciones de ensilado. El 3% de las muestras fueron dañadas por ratones y el 11% de las muestras presentaron hongos. Sin embargo, esta presencia de hongos solo representó el 15% de pérdida de silo.

Cuadro 5. Calidad del ensilaje según las características organolépticas de los tratamientos

Características organolépticas	Porcentaje		
	Bueno	Regular	Malo
Color	83	10	7
Olor	80	11	9
Textura	100	0	0

Proteína cruda, dosis de bacteria y pH. No se encontró correlación significativa entre ninguno de estos factores. Los niveles de proteína cruda variaron en un rango de 4.06% y 4.20%. Los valores más altos de proteína cruda corresponden a los tratamientos donde no se aplicó bacteria sin embargo, no es una variación estadísticamente significativa. Estos resultados coinciden con los encontrados por Ávila *et al.* (2009) quienes no encontraron variación significativa al usar o no inoculantes en ensilajes de caña de azúcar.

Cuadro 6. Correlación entre pH, proteína cruda y dosis de Biomin® BioStabil Plus.

		pH	Proteína	Biostabil
pH	r^2	1	-0.31	-0.15
	P		0.33	0.65
Proteína	r^2	-0.31	1	-0.12
	P	0.33		0.71
Biostabil	r^2	-0.15	-0.12	1
	P	0.65	0.71	

r^2 = Coeficiente de correlación

P= Probabilidad estadística.

4. CONCLUSIONES

- El tamaño de partícula y la dosis de bacterias agregada en el ensilaje de caña de azúcar no tuvo influencia sobre el pH del ensilaje.
- No existe aumento en el porcentaje de proteína cruda al utilizar Biomin[®] BioStabil Plus.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios analizando la proporción de fermentación láctica, alcohólica o acética que se da en cada tratamiento
- Realizar estudios para determinar y comparar la efectividad del Biomin® BioStabil Plus utilizando otras gramíneas de bajo valor nutricional.
- En tamaños de picado menores a 5 mm no justifica la inclusión de inóculo.
- Se recomienda que para el tamaño de partícula 8.5 mm se utilice la dosis recomendada por el fabricante (4 g/t), la cual obtuvo los mejores procesos de fermentación.
- Realizar este experimento con tratamientos que incluyan tamaños de partícula más contrastantes.

6. LITERATURA CITADA

Alvarez F. J. y T.R. Preston. 1976. Estudios sobre la utilización de la caña de azúcar en dietas de caña: Efecto del nivel. *Producción Animal Tropical*. p 202-209.

Ávila C., J. Pinto, H. Figueiredo y R. Schwan. 2009. Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage, *Grass & Forage Science*. 64 (4): 384-394.

Chaverra H. y J. Bernal 2000. El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno. Tercer Mundo Editores, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, CR (IICA), Bogotá DC, Colombia. 147 p.

Chaves Solera M. 2008. Uso de la caña de azúcar como forraje. *Ventana lechera* (10): 45-51.

Flores Martínez, A. y F. Bryant. 1989. Manual de pastos y forrajes. Texas Teach University. Lima, Perú. 162 p.

Galindo Sáenz, R.R. y W.A. Rubio Álvarez, 2011. Conservación de caña de azúcar picada usando hidróxido de calcio. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 15 p.

Knický M. y P. Lingvall. 2004. Ensiling of high wilted grass-clover mixture by use of different additives to improve quality, *Acta Agriculture Scandinavica: Section A, Animal Science*. 54 (4): 197-205.

León Suarez, V.D. y V.M. López Castillo. 2009. Comparación del ensilaje de caña de azúcar y ensilaje de maíz mezclado con *Mucuna pruriens* como forraje para vaquillas de reemplazo. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 11 p.

Mendieta-Araica B., E. Spörndly, N. Reyes-Sánchez, L. Norell y R. Spörndly. 2009. Silage quality when *Moringa oleifera* is ensiled in mixtures with Elephant grass, sugar cane and molasses, *Grass & Forage Science*. 64 (4): 364-373.

Mier Quiroz, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. Tesis de Master. Sevilla, España, Universidad de Córdoba, Departamento de Producción Animal. 59 p.

Mühlbach, P. 2001. Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales (en línea). Consultado 4 de agosto de 2012. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/X8486S/x8486s0b.htm>

Oude S., F. Driehuis, J.C. Gottschal y S. Spoelstra. 2001. Los procesos de fermentación del ensilaje y manipulación (en línea). Consultado 10 de agosto de 2012. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/X8486S/x8486s04.htm>

Rook J.A.F y P.C. Thomas. 1981. Ensilaje para producción de leche. Trad. E. Cardozo. Montevideo, Uruguay. Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur. 176 p.

SAS[®] Institute. 2003. SAS Users Guide. Statistical Analysis Institute. Cary, NC.

Weinberg Z., G. Szakacs, G. Ashbell y Y. Hen. 1999. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *L. plantarum*, applied at ensiling, on the ensiling fermentation and aerobic stability of wheat and sorghum silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 23 (3): 218.