

INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ

INOCULATION OF *Lactobacillus plantarum* FOR FERMENTATION AND CONSERVATION OF CORN SILAGE

Ernesto Antonio Hurtado, Fátima Arteaga-Chávez, Boris Andrés Zambrano-Zambrano y Arturo José Vera-Mendoza

Carrera de Medicina Veterinaria. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Manabí-Ecuador

Email: ernesto.hurtado@espam.edu.ec

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo original

Recibido:
07/02/2020

Aceptado:
18/12/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista
ESPAMCIENCIA
11(2):108-114

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.237

Resumen

Con el fin de evaluar el efecto de la inoculación de *L. plantarum* en la fermentación, conservación y calidad del ensilaje de maíz (*Zea mays*), se realizó el ensilaje de 32 bolsas con forraje a diferentes dosis de inoculado de *L. plantarum* (0, 5, 10, 15 ml) y tiempo de muestreo (15, 30, 45 días), en un diseño completamente al azar. Se estudió el pH, temperatura y unidades formadoras de colonias (UFC). Además de las características bromatológicas. El tiempo de muestreo resultó ser significativo ($p < 0,01$) para el pH, siendo a los 30 días el de menor valor promedio (3,65). Se observó una temperatura mayor (27°C) a los 15 días de muestreo ($p < 0,01$). La aplicación de *L. plantarum* en los componentes bromatológicos no incidió estadísticamente a excepción de la materia seca donde T3 a los 15 días presentó mayor promedio (23,65%). Además, los promedios máximos fueron para proteína cruda (10,71%) en T2 a los 30 días; estrato etéreo (2,36%) en T1 a los 45 días; fibra cruda (37,30%) en T3 a los 45 días; ceniza (9,28%) en T2 a los 30 días y energía digestible (2,41 Mcal/Kg) en T2 a los 15 días. Se concluye que la inoculación microbiana permite acelerar el proceso de conservación del forraje.

Palabras clave: Bacterias, pH, temperatura, sensoriales, bromatológicos, unidades formadoras de colonia.

Abstract

In order to evaluate the effect of *L. plantarum* inoculation on the fermentation, conservation and quality of corn silage (*Zea mays*), 32 bags with forage were used to produce silage at different doses of *L. plantarum* inoculation (0, 5, 10, 15 ml) and sampling times (15, 30, 45 days), in a completely randomized design. The pH, temperature and colony forming units (CFU) were studied. In addition to the bromatological characteristics, the sampling time was significant ($p < 0.01$) for the pH, with the lowest average value (3.65) at 30 days. A higher temperature (27°C) was observed after 15 days of sampling ($p < 0.01$). The application of *L. plantarum* in the bromatological components did not have a statistical impact except for the dry matter where T3 at 15 days presented the highest average (23.65%). Besides, the maximum average values were for raw protein (10.71%) in T2 at 30 days; ethereal stratum (2.36%) in T1 at 45 days; raw fiber (37.30%) in T3 at 45 days; ash (9.28%) in T2 at 30 days and digestible energy (2.41 Mcal/Kg) in T2 at 15 days. It is concluded that microbial inoculation makes it possible to accelerate the forage conservation process.

Keywords: Bacteria, pH, temperature, sensory, bromatological, colony forming

INTRODUCCIÓN

En la provincia de Manabí la principal actividad económica es la agricultura, debido a que es líder por poseer mayor superficie de labor agrícola con 1,2 millones de hectáreas, las cuales representan el 15,83% a nivel nacional, es así como esta actividad es considerada el pilar fundamental para el desarrollo de la economía manabita. El sector agrícola se encuentra especializado en diversos productos, entre ellos uno de los que destaca es el maíz dulce seco, cercano al 25% total de la producción nacional (Mendoza et al., 2019).

A pesar de la extensa superficie dedicada a la explotación agropecuaria, la región se ve afectada por situaciones climáticas, que dificultan que esa condición natural se convierta en mayor productividad para la zona, principalmente en el ámbito de la alimentación animal para mantener los suministros de alimento durante todo el año, específicamente en los bovinos. Saavedra et al. (2020) mencionan que, entre las alternativas de suplementación animal, se encuentra la elaboración de ensilajes como proceso de conservación de forrajes para mitigar la escasez de alimento y aumentar el aporte energético-proteico.

La mayoría de los productores, en especial los de pequeña dimensión que cuentan con escasa disponibilidad de base territorial y nulos recursos económicos, no pueden desarrollar su actividad ganadera de forma óptima, lo que se traduce en una baja productividad en la explotación, por cuanto se hace necesario abordar esta actividad bajo un enfoque multidimensional con vistas a mejorar la calidad y disponibilidad de los subproductos agroindustriales disponibles. Así, estas materias primas pueden someterse a distintos procesos físicos, químicos, biológicos o de adición de cultivos microbianos y enzimas fibrolíticas exógenas que permitan incrementar sus valores nutritivos y digestibilidad (Cabezas et al., 2020).

Rangel et al. (2017) indican que, la transformación de subproductos de maíz mediante técnicas de ensilado no solo mejora la digestibilidad, sino que además incrementa la durabilidad de estos recursos para su utilización en épocas de escasez de alimentos, así como también la autosuficiencia de los productores de pequeña escala. Además, contribuye a la mitigación del cambio climático disminuyendo las emisiones de rumiantes, según Rivas et al. (2019).

En este sentido, Saavedra et al. (2020) mencionan que los procesos de fermentación, permiten que microorganismos eficientes usen los sustratos como fuente de alimento para su multiplicación y la realización de diferentes procesos metabólicos que se generan mediante el consumo de minerales, lípidos y nitrógeno en un medio favorable permitiendo el incremento en el valor de proteína cruda

obtenidos a partir del trabajo realizado por microorganismos principalmente bacterias ácido lácticas.

Rodríguez et al. (2019) resaltan que la producción de alimentos alternativos bajo el proceso de fermentación permite un producto inocuo, ya que el proceso accede a la eliminación de bacterias patógenas como *E. coli*, salmonella entre otras.

Las referencias citadas anteriormente permiten inferir, que la inoculación de bacterias (*Lactobacillus plantarum*) al material vegetativo del maíz ensilado, coadyuvará al proceso fermentativo (anaeróbico), acidificación del medio para contrarrestar la proliferación de microorganismos patógenos y al mismo tiempo una reducción en el tiempo para el uso en la alimentación animal.

Además, es importante resaltar los cambios que se producen en el material vegetativo inoculado tales como pH, temperatura, calidad (aspectos sensoriales) y tiempo de uso. Todo lo anterior permite mencionar que la finalidad de la presente investigación está en la búsqueda de alternativas que logren la obtención de un ensilaje de calidad y de uso en corto tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La presente investigación se realizó en la unidad de docencia, investigación y vinculación pastos y forraje de la ESPAM MFL, en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí.

Manejo del experimento

Características de la cepa de *L. Plantarum*

La cepa utilizada dentro de esta investigación fue *Lactobacillus plantarum* 24LT aislada del intestino del ternero con característica de catalasa negativa y tinción de Gram +, como consta en los registros del laboratorio de Biología Molecular de la carrera de Medicina Veterinaria, conservada a -20°C en tubos Eppendorf más glicerol al 20%; el cual contiene crioprotectores evitando que se formen cristales que destruyen la cepa y manteniendo la misma en una temperatura óptima.

Preparación de inóculo de *L. Plantarum*

A partir del crecimiento de la cepa bacteriana de *L. plantarum* en caldo MRS se procedió a la multiplicación de la cepa bacteriana mediante la inoculación de 100 ul de *L. plantarum* por cada 100 ml de caldo MRS.

Posteriormente se ubicó en incubación a 37°C durante 18 horas en condiciones de anaerobiosis.

Elaboración del ensilaje de maíz

Se procedió a la cosecha del material vegetativo fresco (planta con mazorca) de manera manual, la variedad Trueno, con edad de cosecha de 72 días, en el sitio La Piñuela a 3 km de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, el picado fue realizado por medio de la cortadora de pasto acoplada al tractor, mientras que el llenado de los microsilos consistió que por cada capa de forraje de 3 cm la aplicación en partes de la dosis correspondiente a concentraciones de 4×10^8 UFC/ml del inoculante bacteriano con la cepa *L. plantarum*, acompañada de la compactación obteniendo uniformidad dentro del silo para conseguir una condición anaerobia dentro de la masa forrajera, finalmente se realizó el sellado manual de las bolsas (10 kg de forraje de maíz).

Recolección de muestras de ensilaje de maíz

La recolección de muestras se inició mediante la apertura de los microsilos de los respectivos tratamientos, con la extracción de cuatro muestras de 1,5 kg de forraje en bolsas ziploc. Posteriormente se retiró manualmente el aire excedente, teniendo al forraje bajo condición anaerobia; de allí se trasladó al laboratorio de Biología Molecular dentro de la carrera de Medicina Veterinaria y el laboratorio Química de alimentos en la carrera de Agroindustria, adscritos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (ESPAM MFL).

Evaluación del pH en el ensilaje de maíz

La evaluación consistió en una muestra forrajera de 10 g sumergida en 20 ml de agua destilada, que fue colocada en una mesa gravitatoria con imán durante 30 minutos en vasos de precipitación; seguidamente se determinaron los valores respectivos mediante el uso del potenciómetro.

Determinación de unidades formadoras de colonia (UFC) del ensilaje de maíz

Para el pesaje de los 10 gramos de la muestra de ensilaje se utilizó una balanza gramera marca Kern, posteriormente se depositó en 90 ml de agua de peptona en un matraz de Erlenmeyer, esperando su crecimiento en un lapso de 24 horas, consecuentemente se realizaron diluciones con micropipeta de 1000 ul sucesivas hasta 10^{-9} . A partir de las diluciones 10^{-6} hasta 10^{-9} se realizó la siembra por disseminación en placas Petri (0,1 ml), las mismas que contenían agar MRS V8 (Himedia) específico para *Lactobacillus*; después se dejó en incubación entre 24 y 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las UFC con el equipo contador de colonias.

Análisis bromatológico del ensilaje de maíz

Las muestras para el análisis bromatológico fueron enviadas al laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos perteneciente al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el sitio Cutuglagua, en el cantón Mejía, provincia de Pichincha, para la determinación de: materia seca, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas, energía digerible.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un análisis paramétrico utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro niveles, siendo los siguientes: T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml) con ocho repeticiones; en distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Las variables en estudio (pH, temperatura, composición bromatológica y UFC) se analizaron a través de un análisis de varianza teniendo como factores fijos los tratamientos. Previamente se comprobaron los supuestos de homogeneidad de varianza (Prueba de Bartlett) y normalidad de los errores (Prueba de Shapiro-Wilk). Además, se realizó comparaciones de media utilizando la técnica de la mínima diferencia significativa al 5%, en las variables que resultaron significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH y temperatura del ensilaje de maíz

En el cuadro 1, se presentan los promedios y errores estándar para el pH y la temperatura del ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo. Se observa que estos resultados se encuentran entre los promedios reportados por la literatura.

pH

Las diferencias obtenidas para los tratamientos con respecto a los días de muestreo resultaron diferentes, siendo a los 15 y 30 días la mayor significancia ($p < 0,01$), mientras que para los 45 días de muestreo la confiabilidad resultó ser del 95%. Es relevante considerar que todos los tratamientos produjeron valores de pH por debajo de 4,5 para una óptima conservación del forraje resultados que según Abdul *et al.* (2017) son aceptables.

Al considerar el tiempo de muestreo de manera específica, se observó que a los 30 días el pH disminuyó en comparación con los resultados obtenidos a los 15 días, esto se debe posiblemente a la producción de ácido láctico por parte de microorganismos homofermentadores como *Lactobacillus plantarum* (Filya, 2003a y Addah *et al.*,

2016) aspecto que refleja un adecuado proceso de ensilado (Jaimes et al., 2009). Resultados similares son reportados por la literatura (Filya, 2003b; Jalč et al., 2009; Corral-Luna et al., 2011; Addah et al., 2011; Addah et al., 2016; Joo et al., 2018).

Igualmente destaca que el pH del ensilaje sin inocular (T0) no varió en los distintos tiempos de muestreo. Mientras que los tratamientos 5 ml (T1) y 15 ml (T3) que se inocularon con *L. plantarum* presentaron el pH más bajo al finalizar el proceso de ensilaje, debido posiblemente a la actividad de *L. plantarum* en la acidificación del medio, estos resultados son similares con los obtenidos por Kung y Ranjit (2001).

Este efecto del pH permite inferir que, a pesar de la variabilidad observada, esta no excede los niveles máximos y mínimos para el proceso de ensilaje, y de esta manera se obtiene un material vegetativo que reúne las condiciones nutritivas adecuadas para la alimentación animal.

Temperatura

Se observa diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) en la temperatura del ensilado en los distintos tiempos de muestreo, resalta la disminución de la temperatura a los 30 días con respecto a los 15 días. La menor temperatura se observó a los 30 días para el tratamiento 3 (15 ml *L. plantarum*), posteriormente se incrementó a los 45 días para el ensilaje que incluía el microorganismo, estos hallazgos permitió deducir el efecto significativo de esta variable en el ensilaje de maíz, lo que corrobora lo reportado por Mier (2009).

Los valores obtenidos se pueden relacionar con los reportes presentados por Kung y Ranjit (2001) y Villa et al. (2010) quienes demuestran que el crecimiento de las bacterias homofermentadoras, productoras de ácido láctico y la calidad del ensilaje, principalmente depende del grado de ensilabilidad del forraje, concentración de azúcares, capacidad buffer, humedad y temperatura.

Cuadro 1. Promedios y errores estándar del pH y temperatura del ensilaje de maíz inoculado con *L. plantarum* en distintos tiempos de muestreo.

Tratamientos	Tiempos de muestreo					
	15		30		45	
	pH	Temperatura (°C)	pH	Temperatura (°C)	pH	Temperatura (°C)
T0	3,93 ^b ± 0,01	25,38 ^c ± 0,19	3,93 ^a ± 0,02	25,80 ^a ± 0,10	3,95 ^a ± 0,01	25,78 ^a ± 0,09
T1	3,92 ^b ± 0,01	26,11 ^{bc} ± 0,19	3,71 ^{bc} ± 0,02	22,62 ^b ± 0,10	3,91 ^b ± 0,01	24,97 ^b ± 0,09
T2	4,02 ^a ± 0,01	27,21 ^a ± 0,19	3,65 ^c ± 0,02	22,42 ^{bc} ± 0,10	3,94 ^{ab} ± 0,01	25,17 ^b ± 0,09
T3	3,94 ^b ± 0,01	26,27 ^b ± 0,19	3,78 ^b ± 0,02	22,23 ^c ± 0,10	3,90 ^b ± 0,01	24,46 ^c ± 0,09

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml).

^{a, b, c} Letras distintas a nivel de columnas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

Composición bromatológica del ensilaje de maíz en distintos tiempos de muestreo

La composición bromatológica del material experimental, en los distintos tiempos de muestreo de los tratamientos con y sin inclusión de *L. plantarum* para la composición bromatológica (Cuadro 2), resultó que los valores obtenidos se encuentran en los promedios generales reportados por la literatura para maíz ensilado. Se destaca la poca variabilidad que sufrieron los componentes bromatológicos del forraje conservado dentro de los tratamientos.

Es importante mencionar que ninguno de estos componentes fue afectado estadísticamente ($p > 0,05$) por los distintos tratamientos a excepción de la materia seca.

Lo anterior permite precisar, que los datos obtenidos de materia seca (%) a los 30 días son similares a los reportados por Filya (2003a) y Ferreira et al. (2007),

resultados que, son inferiores en relación con los presentados por Freitas et al. (2006); Corral-Luna et al. (2011); Silveira y Santos, (2017) y Abdul et al. (2017) quienes obtuvieron porcentaje de 28,6; 37,8; 29,61 y 26,95 respectivamente.

Con respecto a la proteína cruda, se observa que los valores (%) fueron superiores cuando se incorporó el *L. plantarum* en comparación con el tratamiento sin inclusión, siendo la excepción a los 45 días (8,87). Mientras que las investigaciones realizadas por Freitas et al. (2006), Abdul et al. (2017) y, Silveira y Santos (2017) reportan porcentajes de PC en ensilajes de maíz inferiores al 8%.

El componente extracto etéreo (%) presentó el menor valor a los 15 días en comparación con los demás tiempos y con la dosis, los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Apráez-Guerrero et al. (2012) quienes obtuvieron valores superiores al 2%.

La variabilidad observada en los valores de fibra cruda (FC) no fue significativa; sin embargo, el mayor promedio se obtuvo a los 45 días con aplicación del inóculo en dosis de 15 ml de *L. plantarum*. Los resultados son similares a los obtenidos por Apráez-Guerrero et al. (2012) quienes evaluaron un ensilaje a base de avena y con la mezcla de avena más chilca. Además, a los reportados por Silveira y Santos (2017), en ensilaje de caña de azúcar más la adición de un inoculante.

Al analizar los valores obtenidos en el componente ceniza, se observa a los 30 días de evaluación el valor más alto (9,28%) cuando se incluyó la dosis de 10 ml (T2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Apráez-Guerrero et al. (2012) en ensilajes de avena más acacia y por Corral-Luna et al. (2011). Sin embargo, son inferiores con los reportados por Villa et al. (2010) quienes obtuvieron 7,09% en ensilajes de maíz y su evaluación microbiológica y calidad nutricional. Es importante destacar, que la ceniza en ensilajes es una característica deseable dentro de un alimento, debido al aporte de minerales que incorpora a la dieta.

Con respecto a la energía digestible (ED), se observa el mayor promedio (2,41 Mcal) a los 15 días, cuando el ensilaje de maíz fue inoculado con 10 ml de *L. plantarum*;

estos resultados permiten inferir un estado de ensilabilidad óptimo con respecto al resto de los tiempos. Los datos obtenidos son inferiores a los reportados por Hazard et al. (2001), cuando ensiló maíz en combinación con trébol (*Trifolium* sp). Mientras que los obtenidos por López (2017), cuando evaluaron ensilajes de pasto Camerún (*Pennisetum purpureum*) con inclusión de melaza, la energía digestible fue de 2,48 Mcal, resultados muy similares a los obtenidos en la presente investigación.

Un hecho relevante en las investigaciones son los hallazgos obtenidos por Roblero (2006) quien reportó valores superiores en la energía digestible en de cuatro tipos de variedades de ensilaje de maíz; forrajero, comercial, AN388, AN44, quien reportó valores de 3,20; 3,18; 3,17 y 3,17 Mcal respectivamente, siendo estas superiores al máximo obtenido de 2,41 Mcal.

Estos resultados permiten deducir que los tratamientos con inóculos bacterianos minimizan las pérdidas de calidad del forraje favoreciendo su conservación, permitiendo a pequeños ganaderos una herramienta en época crítica, por la disponibilidad de forrajes de calidad, material con niveles de proteína adecuado; lo que hace al ensilaje con características deseables.

Cuadro 2. Composición bromatológica del ensilaje de maíz con distintos niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Trat.	Tiempos de muestreo																	
	15						30						45					
	MS	PC	EE	FC	C	ED	MS	PC	EE	FC	C	ED	MS	PC	EE	FC	C	ED
T0	21,35 ^b	8,68	1,44	36,82	9,69	2,18	21,94 ^b	9,68	1,86	37,28	9,19	2,22	19,72 ^b	9,56	1,96	35,23	8,86	2,28
T1	23,07 ^{ab}	9,00	1,48	34,26	8,65	2,28	22,15 ^a	10,16	1,52	34,61	8,66	2,28	21,44 ^b	9,92	2,36	34,55	8,49	2,43
T2	22,43 ^{ab}	8,77	1,47	34,79	4,99	2,41	22,9 ^a	10,71	1,84	33,73	9,26	2,30	23,14 ^a	10,13	1,91	34,03	9,11	2,30
T3	23,65 ^a	9,23	1,41	36,26	9,06	2,22	23,12 ^a	9,87	1,82	34,67	8,82	2,29	23,28 ^a	8,87	1,60	37,30	8,17	2,23
CV(%)	5,31						7,76						11,08					

T0: sin inóculo; T1: *L. plantarum* (5 ml); T2: *L. plantarum* (10 ml); T3: *L. plantarum* (15 ml); *M.S: materia seca; P.C: proteína cruda; E.E: extracto etéreo; F.C: fibra cruda; C: ceniza; E.D: energía digerible.

Microorganismos en el ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo

El resumen descriptivo (Cuadro 3) permite precisar un incremento a medida que transcurren los tiempos de muestreo, admitiendo la estabilidad aeróbica y con esto la conservación del material vegetativo.

Cuadro 3. Estadística descriptiva del número de microorganismos totales (UFC) en niveles de inclusión de *L. plantarum* a distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días).

Estadígrafos	Tiempos de muestreo											
	15				30				45			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Media	1,25	1,60	1,60	1,60	3,47	5,36	5,36	5,36	4,28	6,36	6,36	6,36
DE	1,33	1,33	1,33	1,33	6,56	6,56	6,56	6,56	0,48	0,48	0,48	0,48
EE	3,56	3,56	3,56	3,56	1,88	1,88	1,88	1,88	2,61	2,61	2,61	2,61

Es importante resaltar que a mayor tiempo de muestreo se observa un incremento en los promedios de *L. plantarum*, que indica la actividad fermentativa. Steidlová y Kalač (2003) mencionan que estos microorganismos son homofermentadores, lo que hace que sean considerados benéficos.

Con respecto a esto último, Vázquez *et al.* (2008) resaltan, que al evaluar las bacterias ácido láctica (BAL) como inóculo en conservación de forrajes, estas son responsables de la producción de sustancias antimicrobianas, las cuales inhiben el crecimiento de organismos patógenos o esporádicos. Además, el efecto benéfico de la inoculación de *L. plantarum* en ensilados dentro de cada uno de los tratamientos favorece la disminución del pH sumado al aumento de concentraciones de ácido láctico, todo esto se debe posiblemente a las predominancias de bacterias productoras de ácido láctico, permitiendo así la estabilidad de las propiedades nutricionales del forraje.

De otra parte, es relevante indicar que las técnicas de conservación muchas veces no suelen ser suficientes, afectando su conservación; es allí donde el uso de aditivos podría contribuir a minimizar las pérdidas de calidad, siendo el empleo de inoculantes una alternativa para mantener un valor nutritivo óptimo.

CONCLUSIONES

La inclusión de *L. plantarum* en el ensilaje de maíz resultó con pH y temperatura para el proceso de fermentación, que coadyuvan la conservación del cultivo, a los 30 días de muestreo (T2), siendo una alternativa en la alimentación animal, principalmente en la época seca. Además, no influyó en la composición bromatológica, a excepción del componente materia seca.

LITERATURA CITADA

Abdul, N., Abd, M. R., Mahawi, N., Hasnudin, H., Al-Obaidi, J. R., & Abdullah, N. 2017. Determination of the Use of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium freudenreichii* Application on Fermentation Profile and Chemical Composition of Corn Silage. *BioMed Research International*, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/2038062>

Addah, W., Baah, J., & McAllister, T. A. 2016. Effects of an exogenous enzyme-containing inoculant on fermentation characteristics of barley silage and on growth performance of feedlot steers. *Canadian Journal of Animal Science*, 96(1):1-10.

Addah, W., Baah, J., Groenewegen, P., Okine, E. K., & McAllister, T. A. 2011. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and

nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. *Canadian Journal of Animal Science*, 91(1):133-146.

Apráez-Guerrero, J. E., Insuasty-Santacruz, E. G., Portilla-Melo, J. E., & Hernández-Vallejo, W. A. 2012. Composición nutritiva y aceptabilidad del ensilaje de avena forrajera (*Avena sativa*), enriquecido con arbustivas: acacia (*Acacia decurrens*), chilca (*Braccharis latifolia*) y sauco (*Sambucus nigra*) en ovinos. *vet.zootec.*, 6(1):25-35.

Cabezas, A. S., Perea, J., Montenegro, L., Espinoza, I., Avellaneda-Barbarito, J. F., y Barba, C. 2020. Cinética de degradación ruminal in situ de ensilado de rastrojo de maíz (*Zea mays*) con niveles crecientes de urea. *Archivos de zootecnia*, 69(267), 320-326.

Corral-Luna, A. C., Domínguez-Díaz, D., Rodríguez-Almeida, F., Villalobos-Villalobos, G., Ortega-Gutiérrez, J., & Muro-Reyes, A. (2011). Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences*, 6(1):181- 187.

Ferreira, D. A., Gonçalves, L. C., Molina, L. R., Castro Neto, A. G., & Tomich, T. R. 2007. Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59(2):423-433.

Filya, I. 2003a. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminant Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. *Journal of Dairy Science*, 86(11):3575-3581.

Filya, I. 2003b. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminant degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, 95(5): 1080-1086.

Freitas, A. W. de P., Pereira, J. C., Rocha, F. C., Costa, M. G., Leonel, F. de P., & Ribeiro, M. D. 2006. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(1):38-47.

Hazard, S., Morales, M., Butendieck, P. y Mardones, P. 2001. Evaluación de la mezcla de ensilaje de maíz con ensilaje de trébol rosado en diferentes proporciones en la alimentación invernal de vacas lecheras en la zona

- sur. Agricultura Técnica, 61(3): 306-318
- Jaimes, J. J., Hernández, J., & Vargas, M. 2009. Efecto de tres niveles de carbohidratos sobre la calidad del ensilado. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas.*, 8, 10-17.
- Jalč, D., Lauková, A., Simonová, M. P., Váradyová, Z., & Homolka, P. 2009. Bacterial Inoculant Effects on Corn Silage Fermentation and Nutrient Composition. *Asian-Australas J Anim Sci*, 22(7):977-983.
- Joo, Y. H., Kim, D. H., Paradhita, D. H. V., Lee, H. J., Amanullah, S. M., Kim, S. B., ... Kim, S. C. 2018. Effect of microbial inoculants on fermentation quality and aerobic stability of sweet potato vine silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(12):1897- 1902.
- Kung, L., & Ranjit, N. K. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*, 84(5):1149-1155.
- López, M. 2017. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UykMkWGm6EsJ:https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6173095.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>
- Mendoza, J., García, K., Salazar, R., y Vivanco, I. 2019. La Economía de Manabí (Ecuador) entre las sequías y las inundaciones. *Espacios*, 40, 16. <http://www.revistaespacios.com/a19v40n16/a19v40n16p10.pdf>.
- Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/seJdvn
- Rangel, J, Espinosa, JA, De Pablos-Heredero, C, Rivas, J, Perea, J, Angón, E, y García, A 2017. ¿Is the increase of scale in the tropics a pathway to smallholders? Dimension and ecological zone effect on the mixed crop-livestock farms', *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol.15, n° 2, pp 1-10.
- Rivas, J, Perea, J, De Pablos-Heredero, C, Morantes, M, Angón, E, Barba, C, García, A. 2019. Role of technological innovation in livestock breeding programmes: a case of cereal-sheep system', *Italian Journal of Animal Science*, vol. 18, n° 1, pp. 1049-1057
- Roblero, J. 2006. Evaluación comparación nutricional y energética de cuatro Genotipos de maíz en forma natural y ensilado. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5950/T15369%20ROBLERO%20L%20D3PEZ,%20JUAN%20JOSE%20%20TESIS.pdf?sequence=1>
- Rodríguez Molano, C., Fonseca-López, D., Niño Monroy, L. E., Salamanca López, A. E., Hoyos Concha, J. L., Otero Ramírez, I. D., y Torres Lagos, N. 2019. Caracterización nutricional y de producción de biomasa de *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra* y *Morus alba* en un banco forrajero. *Ciencia en Desarrollo*, 10(2), 23-32. <https://doi.org/10.19053/01217488.v10.n2.2019.9098>
- Saavedra Montañez, G., Borrás Sandoval, L. M., y Cala Guerrero, D. 2020. Ensilaje líquido de residuos de durazno (*Prunus pérsica*) como alternativa en alimentación animal. *Ciencia en Desarrollo*, 11(1), 33-42. <https://doi.org/10.19053/01217488.v11.n1.2020.8960>.
- Silveira, L. de P., & Santos, T. M. da C. 2017. Silagem de cana-de-açúcar acrescida com aditivos químicos e inoculante bacteriano. *Pubvet*, 11(5), 519-526. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v11n5.519-526>
- Steidlová, Š., & Kalač, P. 2003. The effects of using lactic acid bacteria inoculants in maize silage on the formation of biogenic amines. *Archives of Animal Nutrition*, 57(5), 359-368.
- Vázquez, J. A., Docasal, S. F., Prieto, M. A., González, M. P., & Murado, M. A. 2008. Growth and metabolic features of lactic acid bacteria in media with hydrolysed fish viscera. An approach to bio-silage of fishing by-products. *Bioresource Technology*, 99(14), 6246-6257.
- Villa, A.F., Meléndez, A.P., Carulla, J.E., Pabón, M.L., Cárdenas, E.A. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 23(1):65-77.