RENDIMIENTO DE MATERIA SECA, VALOR NUTRICIONAL, CARACTERÍSTICAS DE FERMENTACIÓN Y ESTABILIDAD AERÓBICA DE ENSILAJE DE SOYA (*Glycine max* L. Merr.) Y GIRASOL (*Helianthus annuus*)

por

Edgar Fernando Quijia Pillajo

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
en
AGRONOMÍA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2015

Aprobado por:

_____	_____
Elide Valencia, Ph.D. Presidente, Comité Graduado	Fecha
_____	_____
Paul Randel, Ph.D. Miembro, Comité Graduado	Fecha
_____	_____
Hugo Cuevas, Ph.D. Miembro, Comité graduado	Fecha
_____	_____
Aixa Rivera, M.Sc. Representante, Estudios Graduados	Fecha
_____	_____
Elvin Román Paoli, Ph.D. Director, Departamento	Fecha

ABSTRACT

During 2014 and 2015 three experiments, were conducted, the first two at the Agricultural Experimental Station (AES) in Isabela and the third at the Small Animal Farm of the Animal Science Department in Lajas.

The objective of Expt. 1 was to evaluate two forage soybeans (cv. Hinson and line 22-3) in phenological growth stages (PGS; R3 and R6); and sunflowers (var. Camaro and Torino) at R6 and R8, to assess effects on dry matter yield (DMY), nutritional value, fermentation characteristics and aerobic stability of silage. A randomized complete block design (RCBD) was used with four replications in a split plot arrangement; in which the blocking criterion was the planting record, the main plot represented the variety, and the sub-plot the growth stage. The forages were ensiled in micro-silos of 15 L (Expt. 2 and soybean in Expt. 1) and 50 L (sunflower in Expt. 1 and 3) capacity. An analysis of variance showed that for soybean, the dry-matter (DM) content differed significantly ($p < 0.05$) between PGS, R3 and R6 (19.50 vs 24.85%), but not between cv. Hinson y line 22-3. There was an interaction of variety x PGS ($p < 0.05$), line 22-3 having the highest DMY (7.2 Mg ha^{-1}) at the R6 but not at the R3 stage. Only 22-3 line was selected for further evaluation. Significant differences were found ($p < 0.05$) between the R3 and R6 PGS for DM (18 vs 24%), neutral detergent fiber (NDF; 51 vs 56%) and net energy for lactation (NEL; 1.25 vs 1.19 Mcal kg^{-1} DM), whereas crude protein (CP; 18%), acid detergent fiber (ADF; 46%), total digestible nutrients (TDN; 57%) and relative feed value (RFV; 94) were not different ($p > 0.05$) between PGS. As for fermentation characteristics, difference was found ($p < 0.05$) between PGS in pH, acetic acid content, lactic / acetic ratio and propionic acid, but there were no differences ($p > 0.05$) in lactic acid (2.14%), butyric acid (3.64%) and ammonia nitrogen as a percentage of total nitrogen (NH_3-N; 33%). Silage at R6 gave the lowest pH (4.98), acetic (2.95%) and propionic acid (0.18%) contents, and the highest lactic/acetic ratio (0.97). Aerobic stability evaluated during 7 days of exposition to air showed no difference ($p > 0.05$) between PGS in pH and temperature, but time remaining stable was longer ($p < 0.05$) in R3 (156 h). As for the sunflower crop, the analysis shows difference ($p < 0.05$) in forage DM between PGS R6 and R8 (15.4 vs 23%), but not between varieties. However, there was no difference ($p > 0.05$) in

DMY (7.1 Mg ha^{-1}) neither between varieties nor PGS. Silage fermentation characteristics of sunflower were determined in var. Torino only and differences ($p < 0.05$) were found between R6 and R8 in DM (14 vs 22%), NDF (43 vs 50%), TDN (68.5 vs 66.2%), NEL (1.60 vs 1.55 Mcal kg^{-1} DM) and RFV (136 vs 109), but not ($p > 0.05$) in CP (11%) and ADF (36%). Regarding fermentation characteristics, PGS R6 and R8, differed ($p < 0.05$) in pH (3.8 vs. 4.3), lactic acid (12.5 vs 8%) and acetic acid (2.4 vs 1.8%), but not ($p > 0.05$) in butyric acid (0.7%), propionic acid (0.09%) and ammonia nitrogen as a percentage of total nitrogen (5.75%). Aerobic stability evaluation of the Torino variety showed no effect ($p > 0.05$) of PGS (pH, temperature and stability time). For both soybean and sunflower the length of aerobic exposure time had an effect ($p < 0.05$) on silage pH and temperature. In soybean data, pH and temperature values were not different until the fifth and third days, respectively; whereas in sunflower silage these differences were apparent after the first day. These results indicate a poor fermentation of the soybean silage. The PGS R6 showed the best conditions for the preparation of soybean and sunflower silages. In order to improve the fermentation, the possible use of additives is suggested.

Expt. 2 involved evaluation of three silages each of soybean (S) and sunflower (SUN) ensiled at PGS R6 [single forage; forage with 6% molasses (M), and in mixture with sorghum (SOR)]. The forages were fermented in 15-L micro-silos and sampled after 30 days of fermentation. Fermentation and nutritional value data were subjected to analysis of variance in a completely randomized design with four replications. The soybean-sorghum mixture (SSOR) had the highest DMY (4.0 Mg ha^{-1}) ($p < 0.05$) and mean values of 32% DM, 16% CP, 54% TDN, 1.13 Mcal ENL kg^{-1} DM and 103 RFV. These values were lower ($p < 0.05$) than those obtained for soybean alone (S) and soybean with molasses (SM). The highest NDF content ($p < 0.05$) was observed in SSOR (56%), but there was no difference ($p > 0.05$) between treatments in ADF (35%). Addition of molasses and admixture with sorghum improved ($p < 0.05$) the fermentation characteristics of soybean silage in pH, organic acids, ammonium equivalent protein (AEP) and NH_3-N. From a nutritional standpoint, the addition of molasses appears to be the best option for soybean silage preparation, because it did not adversely affect CP, ADF, NDF nor energy level (TDN and NE). However, if maximum forage yield is desired the soybean-sorghum mixture may be advantageous. The SSOR gave mean values of 4.13 pH, 7.82% lactic acid, 2.88% acetic acid, 0.03% butyric acid and 8.25%

NH_3-N. The pH, lactic acid and NH_3-N values of SSOR were different ($p < 0.05$) from both S and SM, but acetic acid and butyric acid content differed only relative to S. As for aerobic stability, there were differences ($p < 0.05$) between treatments in pH, with values of 4.75, 4.35 and 4.04 for S, SM and SSOR, respectively. However, the SSOR silage had the highest ($p < 0.05$) temperature and loss of DM, as well as a shorter stability time (although not significant). Regression analysis showed a quadratic relationship ($p < 0.05$) between time of exposure to air and temperature of the silage. In this experiment the DMY was also higher ($p < 0.05$) for SUN in mixture with sorghum (SUNSOR; 5.4 Mg ha^{-1}). Sunflower silages with molasses (SUNM) and SUNSOR had higher ($p < 0.05$) DM content (18%) than SUN alone (16%); in addition, the SUNSOR silage showed the highest CP level (13%). No differences ($p > 0.05$) in ADF (36%) were found between SUNSOR and SUN, but both exceeded ($p < 0.05$) SUNM (29%). The three treatments were different ($p < 0.05$) in NDF and NEL, SUNSOR having the highest NDF content (50%) and the lowest energy level (1.21 Mcal kg^{-1} DM); while SUNM had the lowest level of NDF (39%) and the highest of NEL (1.36 Mcal kg^{-1} DM). Regarding fermentation characteristics, SUNM and SUNSOR showed the best values of pH (3.9), propionic acid (0.01%), butyric acid (0.04%) and NH_3-N (5.21%), differing ($p < 0.05$) from SUN. Lactic (11%) and acetic acids (3%) did not differ ($p > 0.05$) between silages. The aerobic stability, evaluated by temperature and pH changes, did not show effects ($p > 0.05$) of treatments. However SUNM showed a shorter stability time and greater loss of DM ($p < 0.05$) than SUN. The air exposure time affected ($p < 0.05$) aerobic stability of SUN silage, as shown by increasing pH and temperature. Adding 6% molasses to SUN silage produced a dilution effect on the NDF and ADF fractions, and an increase in energy level (TDN and NE), thus resulting in a better RFV. Both soybean and SUN mixtures with sorghum increased DMY and FDN levels, and decreased the NE value. The inclusion of molasses and mixture with SOR improved fermentation characteristics of both soybean and SUN silages (improving levels of pH, propionic acid, butyric acid and NH3-N). However, the addition of molasses also generated a greater loss of DM and a lower stability of SUN silage.

Expt. 3 focused on the animal acceptability of SUN, SUNM y SUNSOR silages. Silage intake was recorded in a cafeteria trial using sheep (21 kg mean live weight) during 2 hours of access daily over a period of 12 days to calculate the coefficient of preference (CoP). An analysis

of variance using a RCBD with 7 repetitions revealed CoP differences ($p < 0.05$) between treatments, being highest for SUNSOR (1.53) based on a consumption of 0.93 kg DM day^{-1}. Sunflower-molasses silage had a strong ethanol odor and poor acceptability, with a CoP of 0.44. Thus addition of molasses decreased intake of SUN silage, while the mixture with sorghum improved its acceptability. The SUNSOR and SUN silages deserve further research including assessment of their effect on productive performance of ruminants.

RESUMEN

Durante los años 2014 y 2015 se llevaron a cabo tres experimentos, los dos primeros en la Estación Experimental Agrícola (EEA) de Isabela y el tercero en la Granja del Departamento de Ciencia Animal en Lajas.

El objetivo del Expt. 1 fue evaluar dos soyas forrajeras (cv. Hinson y línea 22-3) en los estados fenológicos (EF) R3 y R6; y dos girasoles (var. Camaro y var. Torino) en los EF R6 y R8, sobre el rendimiento de materia seca (RMS), valor nutricional, características de fermentación y estabilidad aeróbica (EA) de sus ensilajes. Se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados (DBCA) con cuatro repeticiones y un arreglo de parcelas divididas; donde el criterio de bloqueo correspondió al historial de siembra, la parcela principal estuvo representada por la variedad o cultivar y la sub-parcela por el EF. Los forrajes se ensilaron en micro-silos de 15 L (Expt. 2 y soya en Expt. 1) y 50 L (girasol en Expt. 1 y 3) de capacidad. Según un análisis de varianza el cultivo de soya presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de materia seca (MS) entre los EF R3 y R6 (19.50 vs 24.85 %), pero no entre cv. Hinson y línea 22-3. El RMS mostró una interacción entre variedad y EF, donde la línea 22-3 presentó el mayor ($p < 0.05$) RMS (7.2 Mg ha^{-1}) en estado R6 pero no en R3. Se escogió para evaluación adicional solamente el ensilaje de la línea 22-3. Dicho análisis reveló diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los estados R3 y R6, en los niveles de MS (18 vs 24 %), fibra detergente neutro (FDN; 51 vs 56 %) y energía neta de lactancia (ENL; 1.25 vs 1.19 Mcal kg^{-1} MS), mientras que, los valores de proteína bruta (PB; 18%), fibra detergente ácido (FDA; 46%), los nutrientes digeribles totales (NDT; 57%) y el valor relativo del forraje (VRF; 94) no difirieron ($p > 0.05$) entre EF. En cuando a las característica fermentativas, hubo diferencias ($p < 0.05$) entre los EF para el pH, contenido de ácido acético (AA), relación láctico/acético (L/A) y contenido de ácido propiónico (AP), pero no existió diferencia ($p > 0.05$) en el ácido láctico (AL; 2.14%), ácido butírico (AB; 3.64%) y nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH_3-N; 33%). El estado R6 registró menor valor de pH (4.98), AA (2.95%), AP (0.18%), y una mayor L/A (0.97). La EA, observada durante en 7 días de exposición al aire, no mostró diferencia ($p > 0.05$) entre los EF para pH y temperatura del ensilaje, pero el tiempo de estabilidad fue mayor ($p < 0.05$) en R3 (156 h). En cuanto al

cultivo de girasol, el análisis reveló diferencia ($p < 0.05$) en el contenido de MS del forraje entre los EF R6 y R8 (15.4 vs 23 %), pero no entre variedades. No se encontró diferencia ($p > 0.05$) para RMS (7.1 Mg ha^{-1}) entre variedad ni entre EF. Se analizó únicamente ensilaje de la variedad Torino y se verificaron diferencias ($p < 0.05$) entre R6 y R8, para MS (14 vs 22 %), FDN (43 vs 50%), NDT (68.5 vs 66.2%), ENL (1.60 vs 1.55 Mcal kg^{-1} MS) y VRF (136 vs 109), pero no ($p > 0.05$) para PB (11%) y FDA (36%). En cuanto a las características de fermentación de Torino en R6 y R8, éstas difirieron ($p < 0.05$) en pH (3.8 vs 4.3), AL (12.5 vs 8 %) y AA (2.4 vs 1.8 %), pero no ($p > 0.05$) en contenido de AB (0.7%), AP (0.09%) y NH_3-N (5.75%). La EA del ensilaje de Torino no acusó un efecto ($p > 0.05$) del EF (pH, temperatura y tiempo de estabilidad). Tanto para soya como para girasol el largo del tiempo de exposición al aire afectó ($p < 0.05$) el pH y la temperatura de sus ensilajes. En soya el pH y temperatura no fueron diferentes hasta el quinto y tercer día, respectivamente; mientras en el de girasol estas diferencias se presentaron después del primer día. Estos resultados indican una pobre fermentación del ensilaje de soya. El EF R6 presentó mejores condiciones para la elaboración de ensilaje de soya y de girasol. Con el fin de mejorar la fermentación se sugiere evaluar la utilización de posibles aditivos.

El Expt. 2 evaluó tres ensilajes de soya (S) y de girasol (G) [forraje solo; forraje con 6% de melaza (M) y una mezcla con sorgo] en EF R6. Los microsilos de 15 L fueron muestreados pasados los 30 días de fermentación. Los datos evaluativos de los ensilajes se sometieron a un análisis de varianza utilizando un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. La mezcla soya-sorgo (SS) presentó el mayor RMS (4.0 Mg ha^{-1}) ($p < 0.05$) y promedios de 32 % MS, 16% PB, 54% NDT, 1.13 Mcal ENL kg^{-1} MS y VRF de 103. Estos valores fueron más bajos ($p < 0.05$) que los obtenidos para ensilajes de soya sola (S) y soya con melaza (SM). El mayor valor de FDN ($p < 0.05$) también correspondió a SS (56%), pero no se encontró diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos para FDA (35%). La inclusión de melaza y la mezcla con sorgo mejoraron ($p < 0.05$) las características fermentativas del ensilaje de soya referente a pH, ácidos orgánicos, NH_3-N y amonio proteína equivalente (APE). La adición de melaza al elaborar ensilaje de soya luce promisoria ya que no afectó negativamente los niveles de PB, FDA, FDN, NDT y EN, pero si se busca cosechar una alta cantidad de forraje la mezcla soya-sorgo puede ser de provecho. La SS presentó promedios de 4.13 pH, 7.82% AL, 2.88% AA, 0.03% AB y 8.25% NH_3-N; y su pH, AL y NH_3-N

difirieron ($p < 0.05$) de S y de SM, pero su AA y AB difirieron solo de S. Referente a la EA, hubo diferencias ($p < 0.05$) entre los tratamientos en el pH, presentando respectivos valores de 4.75, 4.35 y 4.04 para S, SM y SS. No obstante, SS registró la mayor ($p < 0.05$) temperatura y pérdida de MS, así como un menor tiempo de estabilidad (aunque no significativo). El análisis de regresión describió una relación cuadrática ($p < 0.05$) entre el tiempo de exposición al aire y la temperatura del ensilaje. En este segundo experimento se obtuvo el mayor RMS ($p < 0.05$) también de girasol en mezcla con sorgo (GS; 5.4 Mg ha^{-1}). El ensilaje GS y el de girasol con melaza (GM) presentaron mayor ($p < 0.05$) contenido de MS (18%) que el de girasol solo (G; 16%); además, el de GS presentó el mayor nivel de PB (13%). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) entre GS y G para FDA (36%), pero éstos superaron ($p < 0.05$) a GM (29%). Los tres tratamientos fueron distintos ($p < 0.05$) en FDN y NEL, siendo GS el mayor en FDN (50%) y el de menor nivel energético (1.21 Mcal kg^{-1} MS); mientras GM fue el menor en FDN (39%) y el mayor en NEL (1.36 Mcal kg^{-1} MS). Para las características de fermentación, GM y GS dieron los mejores valores de pH (3.9), AP (0.01%), AB (0.04%) y NH_3-N (5.21%), siendo diferentes ($p < 0.05$) de G. Para AL (11%) y AA (3%) no se hallaron diferencias ($p > 0.05$) entre los ensilajes. La EA indicada por la temperatura y el pH, no mostró efectos ($p > 0.05$) de tratamientos; sin embargo GM presentó un menor tiempo de estabilidad y mayor pérdida de MS ($p < 0.05$) que G. El tiempo de exposición al aire afectó ($p < 0.05$) la EA del ensilaje, mostrando la esperada tendencia ascendente en el pH y la temperatura. La inclusión de 6% de melaza en el ensilaje de girasol ejerció un efecto de dilución de los contenidos de FDN y FDA, e incrementó el nivel energético (NDT y EN), obteniendo así un mejor VRF. Tanto para soya como para girasol la mezcla con sorgo incrementó el RMS y el contenido de FDN, mientras disminuyó el valor de EN. La inclusión de melaza y la mezcla con sorgo, mejoraron las características de fermentación de los ensilaje de soya y de girasol, facilitando mejores niveles de pH, AP, AB y NH_3-N. Sin embargo, la adición de melaza al girasol generó mayor pérdida de MS y una menor EA del ensilaje.

El objetivo del Expt. 3 fue evaluar la aceptabilidad animal de los mismos ensilajes de girasol del experimento previo. El consumo de los ensilajes se registró en una prueba de cafetería con ovinos de 21 kg de peso vivo medio, durante 2 h diarias por 12 días, para calcular el coeficiente de preferencia (CoP). Al realizar un análisis de varianza utilizando un DBCA con

7 repeticiones, se verificaron diferencias ($p < 0.05$), siendo el ensilaje de GS el mejor con un CoP de 1.53 y un consumo de 0.93 kg MS día^{-1}. El ensilaje de GM con olor a etanol presentó una pobre aceptabilidad, registrando un CoP de 0.44. Así que la adición de melaza disminuyó el consumo del ensilaje de girasol, mientras que la mezcla con sorgo mejoró la aceptabilidad. Los ensilajes de GS y G ameritan evaluación adicional incluyendo su efecto sobre el desempeño productivo de los rumiantes.

DEDICATORIA

¡A mi esposa, hermano y padres!

AGRADECIMIENTOS

A Dios por cada una de las bendiciones dadas en el trayecto de mi vida.

A la ilustre Universidad de Puerto Rico y al Dr. Elide Valencia por apoyar mi desarrollo profesional y personal, al otorgarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

Al proyecto H 434 por financiar esta investigación.

A los Doctores Paul Randel, Hugo Cuevas, Raúl Macchiavelli, Linda Beaver, Víctor Siberio, David Sotomayor y a cada uno de los profesores que han contribuido en mi formación profesional, brindando de manera desinteresada su gran experiencia y conocimientos.

Al personal de las Estaciones Experimentales de Isabela y Lajas por su apoyo en los trabajos de campo.

A los compañeros, amigos y familiares: Abel, Johana, Lorena, Johanie, Annelisse, Gilberto, Iván, Jorge F., Jorge, Miguel, Diana, Oswaldo, Dany; y cada una de las personas con las que he tenido el agrado de compartir esta grata experiencia.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT II
RESUMEN VI
DEDICATORIA X
AGRADECIMIENTOS XI
TABLA DE CONTENIDO XII
LISTA DE TABLAS XV
LISTA DE FIGURAS XVII
LISTA DE ABREVIATURAS XVIII
1 INTRODUCCIÓN 1
2 OBJETIVOS 5
2.1 OBJETIVO GENERAL 5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 5
3 REVISIÓN DE LITERATURA 6
3.1 VALOR NUTRICIONAL Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS FORRAJES 6
3.1.1 Factores que afectan el valor nutricional de los forrajes 10
3.1.2 Valor nutricional de los forrajes templados (C3) 12
3.1.3 Valor nutricional de los forrajes tropicales (C4) 14
3.2 SISTEMAS DE CONSERVACIÓN DE FORRAJES 18
3.2.1 Ensilaje 19
3.2.1.1 Factores que afectan la calidad del ensilaje 22
3.2.1.2 Evaluación de ensilajes 25
3.2.1.2.1 Productos de fermentación 27
3.2.1.2.2 Estabilidad aeróbica 29
3.2.1.3 Efecto del marchitamiento y uso de melaza como aditivo 31
3.2.1.4 Ensilaje de maíz y sorgo 33
3.2.1.5 Ensilaje de leguminosas 35
3.2.1.6 Ensilaje de asociaciones gramínea-leguminosa 36
3.2.2 Henilaje 38
3.2.3 Heno 38
3.3 EFECTO DE LA MADUREZ SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE LOS FORRAJES 39
3.4 SOYA (*GLYCINE MAX* L. MERR.) 40
3.4.1 Estados fenológicos de la soya 41
3.4.2 Uso de soya como forraje 43

3.4.3 Ensilaje de soya 44
3.5 GIRASOL (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) 46
3.5.1 Estados fenológicos del girasol 47
3.5.2 Forraje y ensilaje de girasol 48
3.6 IMPORTANCIA DEL ENSILAJE EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES 51

4 EXPERIMENTO I. RENDIMIENTO DE MATERIA SECA, CARACTERÍSTICAS DE FERMENTACIÓN Y VALOR NUTRICIONAL DE ENSILAJES DE SOYA (*GLYCINE MAX* L. MERR.) Y GIRASOL (*HELIANTHUS ANNUUS*) COSECHADOS EN DOS ESTADOS FENOLÓGICOS 53

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS 53
4.1.1 Localización y establecimiento de los cultivos 53
4.1.1.1 Preparación del terreno 53
4.1.1.2 Muestreo de suelo y siembra 53
4.1.1.3 Prácticas culturales de los cultivos 54
4.1.2 Tratamientos 54
4.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico 55
4.1.4 Cosecha y ensilamiento 56
4.1.5 Variables a cuantificar 56
4.1.5.1 Producción de biomasa o materia fresca (MF Mg ha^{-1}) 56
4.1.5.2 Materia seca de los forrajes (MS %) 57
4.1.5.3 Rendimiento de materia seca (RMS Mg ha^{-1}) 57
4.1.5.4 Variables nutricionales y productos de fermentación de los ensilajes 57
4.1.5.5 Variables indicativas de la estabilidad aeróbica 58
4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 59
4.2.1 Ensilaje de soya (Experimento I) 59
4.2.1.1 Rendimiento de materia seca (RMS) 59
4.2.1.2 Características nutricionales 60
4.2.1.3 Productos de fermentación 61
4.2.1.4 Estabilidad aeróbica 63
4.2.2 Ensilaje de girasol (Experimento I) 66
4.2.2.1 Rendimiento de materia seca (RMS) 66
4.2.2.2 Características nutricionales 67
4.2.2.3 Productos de fermentación 68
4.2.2.4 Estabilidad aeróbica 70
4.3 CONCLUSIONES 73

5 EXPERIMENTO II. RENDIMIENTO DE MATERIA SECA Y USO DE MELAZA Y MEZCLA DE FORRAJE CON SORGO (*SORGHUM BICOLOR* L.) COMO FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN LA PRODUCCIÓN DE ENSILAJES DE SOYA *(GLYCINE MAX* L. MERR.) Y GIRASOL (*HELIANTHUS ANNUUS*) 75

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS 75
5.1.1 Localización y establecimiento de los cultivos 75
5.1.1.1 Preparación del terreno 75
5.1.1.2 Siembra 75
5.1.1.3 Prácticas culturales de los cultivos 76
5.1.2 Tratamientos 76
5.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico 77
5.1.4 Cosecha y ensilamiento 77
5.1.5 Variables a cuantificar 78
5.1.5.1 Producción de biomasa o materia fresca (MF Mg ha^{-1}) 78
5.1.5.2 Materia seca de los forrajes (MS %) 78
5.1.5.3 Rendimiento de materia seca (RMS Mg ha^{-1}) 78
5.1.5.4 Variables nutricionales y productos de fermentación de los ensilajes 78
5.1.5.5 Variables indicativas de la estabilidad aeróbica 79
5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 80
5.2.1 Ensilaje de soya (Experimento II) 80
5.2.1.1 Rendimiento de materia seca (RMS) 80
5.2.1.2 Características nutricionales 81
5.2.1.3 Productos de fermentación 83
5.2.1.4 Estabilidad aeróbica 85
5.2.2 Ensilaje de girasol (Experimento II) 90
5.2.2.1 Rendimiento de materia seca (RMS) 90
5.2.2.2 Características nutricionales 91
5.2.2.3 Productos de fermentación 93
5.2.2.4 Estabilidad aeróbica 94
5.3 CONCLUSIONES 100

6 EXPERIMENTO III. EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD DE ENSILAJES DE GIRASOL (*HELIANTHUS ANNUUS*) POR OVINOS 102

6.1 MATERIALES Y MÉTODOS 102
6.1.1 Localización y desarrollo del experimento 102
6.1.1.1 Ubicación y manejo de los animales 102
6.1.1.2 Tratamientos 103
6.1.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico 103
6.1.1.4 Variables a cuantificar 103
6.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 104
6.2.1 Consumo, coeficiente de preferencia (CoP) y porcentaje de preferencia de ensilajes de girasol 104
6.3 CONCLUSIONES 105

7 LITERATURA CITADA 106

LISTA DE TABLAS

Tablas **Página**

Tabla 1. Clasificación por categoría de calidad de un tejido vegetal según su composición química. 7

Tabla 2. Uso de pH para evaluar la calidad fermentativa del ensilaje 27

Tabla 3. Ensilajes de soya en dos estados fenológicos 54

Tabla 4. Ensilajes de girasol en dos estados fenológicos 55

Tabla 5. Producción de biomasa y porcentaje y rendimiento de materia seca de dos variedades de soya en dos estados fenológicos 59

Tabla 6. Porcentaje de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de soya (Línea 22-3) en dos estados fenológicos 61

Tabla 7. Características fermentativas de ensilajes de soya (Línea 22-3) en dos estados fenológicos 62

Tabla 8. Efecto del estado fenológico sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de soya 63

Tabla 9. Efecto del tiempo de exposición al aire sobre el pH y temperatura de ensilaje de soya cosechado en dos estados fenológicos 65

Tabla 10. Producción de biomasa y porcentaje y rendimiento de materia seca de dos variedades de girasol en dos estados fenológicos 66

Tabla 11. Porcentaje de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en dos estados fenológicos 68

Tabla 12. Características fermentativas de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en dos estados fenológicos 69

Tabla 13. Efecto del estado fenológico sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol en dos estados fenológicos 70

Tabla 14. Efecto del tiempo de exposición al aire sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol cosechado en dos estados fenológicos 72

Tabla 15. Producción de biomasa, porcentaje y rendimiento de materia seca, y proporción de mezcla con sorgo de forraje de soya (Línea 22-3) cosechada en el estado fenológico R6 80

Tabla 16. Contenidos promedio de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales y energía neta, y valor relativo del forraje de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6 sola, con adición de melaza y en mezcla con sorgo 82

Tabla 17. Características fermentativas de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6 ... 84

Tabla 18. Comportamiento del pH y la temperatura de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6 a 0, 1, 3, 5 y 7 días de exposición aeróbica 86

Tabla 19. Efecto de la inclusión de melaza y mezcla de forraje con sorgo sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de soya (Línea 22-3) en estado R6 87

Tabla 20. Producción de biomasa, porcentaje y rendimiento de materia seca, y proporción de mezcla con sorgo en girasol (Variedad Torino) cosechado en estado fenológico R6 90

Tabla 21. Contenidos de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado R6 solo, con adición de melaza y en mezcla con sorgo 91

Tabla 22. Características fermentativas de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado fenológico R6 93

Tabla 23. Comportamiento del pH de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado R6 a 0, 1, 3, 5 y 7 días de exposición aeróbica 95

Tabla 24. Efecto de la inclusión de melaza y mezcla de forraje con sorgo sobre variables indicativas de la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol (Variedad Torino) en estado R6 96

Tabla 25. Efecto principal del tiempo de exposición al aire sobre el pH y la temperatura de los tres ensilajes de girasol 98

Tabla 26. Consumo diario promedio, coeficiente de preferencia y porcentaje de preferencia de ensilajes de girasol solo, con inclusión de melaza y en mezcla forrajera con sorgo 104

LISTA DE FIGURAS

Figura **Página**

Figura 1. Distribución de parcelas y sub-parcelas en el predio 55

Figura 2. Estabilidad aeróbica de ensilajes de soya en los estados fenológicos de inicio de formación de vainas (R3) y semilla completamente desarrollada (R6)..... 64

Figura 3. Temperatura a través de 170 horas de exposición aeróbica de ensilajes de girasol en los estados fenológicos de antesis completa con flores liguladas marchitas (R6) y receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes (R8) 71

Figura 4. Diferencia de temperaturas observadas durante la exposición al aire de ensilajes de soya en estado R6 (semilla completamente desarrollada) 88

Figura 5. Regresión entre el tiempo de exposición aeróbica y la diferencia entre la temperatura observada y la ambiental de ensilajes de soya en estado R6 (semilla completamente desarrollada)..... 89

Figura 6. Diferencia de temperaturas observadas durante la exposición al aire de ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas)..... 97

Figura 7. Relación entre el tiempo de exposición aeróbica y la diferencia entre la temperatura de los ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas) y la temperatura ambiental 98

Figura 8. Relación entre el tiempo de exposición aeróbica y el pH de ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas) 99

Figura 9. Prueba de cafetería para evaluación de aceptabilidad de ensilajes de girasol ... 102

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AA	ácido acético
AB	ácido butírico
ADIN	acid detergent insoluble nitrogen (nitrógeno insoluble en detergente ácido)
AGV	ácidos grasos volátiles
AL	ácido láctico
ANDEVA	análisis de varianza
AP	ácido propiónico
APE	amonio proteína equivalente
AT	ácidos totales
BAL	bacterias ácido lácticas
BH	base húmeda
BS	base seca
CMS	consumo de materia seca
CNE	carbohidratos no estructurales
CNF	carbohidratos no fibrosos
CoP	coeficiente de preferencia
CV	consumo voluntario
DBCA	diseño de bloques completos aleatorizados
DCA	diseño completamente aleatorizado
DIVMS	digestibilidad in vitro de la materia seca
E	efecto de estado fenológico
EA	estabilidad aeróbica
EE	extracto etéreo

EEA	estación experimental agrícola
EF	estado fenológico
EM	energía metabolizable
EN	energía neta
ENL	energía neta para lactación
FDA	fibra detergente ácido
FDN	fibra detergente neutro
G	girasol
GM	girasol-melaza
GS	girasol-sorgo
H:T	proporción de hojas : tallos
L/A	relación láctico/acético
M	melaza
MC	madurez de cosecha
MF	materia fresca
MO	materia orgánica
MS	materia seca
MSD	materia seca digestible
NDT	nutrientes digeribles totales
NH_3-N	nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total
NNP	nitrógeno no proteico
PB	proteína bruta
PMS1	pérdida de materia seca durante la fermentación
PMS2	pérdida de materia seca durante la exposición aeróbica
PV	peso vivo
RMS	rendimiento de materia seca
S	soya

SM	soya-melaza
SS	soya-sorgo
UFL	unidad forraje de leche
V	efecto de variedad
V*E	interacción variedad * estado fenológico
VRF	valor relativo del forraje
WSC	water soluble carbohydrates (carbohidratos acuosolubles)

©Edgar Fernando Quijia Pillajo, 2015

1 INTRODUCCIÓN

La ganadería representa un punto clave en la economía de Latinoamérica tropical y en general para la agricultura a pesar de las limitantes que ésta presente. En el trópico latinoamericano se encuentran gran parte de los recursos con potencial productivo, lo cual representa una alternativa de importancia para la producción de alimentos y empleo en todos los estratos sociales. De acuerdo a datos de la FAO (2002), Latinoamérica y el Caribe contaban con unos 602 millones de hectáreas y 359 millones de cabezas de ganado vacuno, de las cuales 11% correspondían a vacas lecheras (Holmann et al. 2003; Holmann et al. 2004; Vélez et al. 2006).

Los pastos y forrajes constituyen la fuente de mayor importancia para la alimentación bovina en el trópico, ya que son los que mejor se adaptan a las necesidades nutricionales y fisiológicas del vacuno y en general son la fuente más económica de nutrientes. Los más utilizados pertenecen a las familias de las gramíneas y leguminosas. Sin embargo, las gramíneas tropicales presentan entre sus factores limitantes un bajo contenido de proteína y baja digestibilidad, lo cual afecta negativamente el consumo y con esto la producción animal. Además, la calidad del forraje estará afectada por el estado de madurez de la planta, el tipo de planta y por los factores ambientales (Pirela 2005; Vélez et al. 2006).

Por otro lado, en el trópico la dotación de forraje para la producción ganadera, en general, requiere de una combinación de pastoreo o corte en la época de lluvia y forraje conservado en forma de heno, henilaje o ensilaje para la época seca, debido a que la producción de forraje verde está limitada a los períodos de lluviosos, en los cuales se tiene una alta disponibilidad de pastos y forrajes de buena calidad, ocurriendo lo opuesto en la época seca (Valerio y Atiles 2013; Vélez et al. 2006; Reyes et al. 2009).

La conservación de los forrajes implica inactivar enzimas respiratorias y proteolíticas de la planta y evitar la actividad microbiana que también tendrá un consumo de los carbohidratos y proteínas del forraje. El ensilado, al igual que otros procesos de conservación, implicará una pérdida del valor nutricional en comparación con el forraje original, por lo cual es

necesario tener una elaboración adecuada con el fin de minimizar estas pérdidas (Vélez et al. 2006) y lograr, a través de la producción del ensilaje, maximizar la cantidad de nutrientes conservados en el forraje (Chr. Hansen 2009).

La tecnología de ensilaje puede aplicarse a la mayoría de pastos producidos en el trópico, preferiblemente en especies de alto rendimiento de biomasa y buena calidad nutricional, incluyendo palatabilidad. Otro aspecto deseable es que sean pastos perennes como *Pennisetum purpureum* (Taiwán, King grass, Napier, Merkerón, Elefante, Maralfalfa, Camerún), *Panicum maximum* (Tanzania, Mombasa, Colonial, Asia, Guinea), pasto Guatemala (*Tripsacum laxum*), pasto Alemán e inclusive algunas *Bachiarias*. No obstante, especies anuales como el maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum spp*.) y el millo, son de los forrajes más utilizados para la producción de ensilajes por su alto rendimiento y características de fácil fermentación (Rodríguez 1983; Reyes et al. 2009)

En muchos países, inclusive en los de zona templada, el maíz es la especie más utilizada para la elaboración de ensilajes (Reyes et al. 2009). En el norte de los Estados Unidos de América, el ensilaje de maíz constituye una fuente importante de forraje para las vacas lecheras (Contreras-Govea et al. 2009) y también se adapta para ser usado en raciones de bajo costo para ganado de engorde (Roth y Heinrichs 2001). Esto es debido a que tiene un valor nutricional superior (buena digestibilidad, altamente energético, buena palatabilidad) al de las otras gramíneas que se utilizan para ensilar y es de alto rendimiento, generalmente entre 35 - 50 ton/manzana (Contreras-Govea et al. 2009; Reyes et al. 2009; Roth y Heinrichs 2001). Los rendimientos más altos se obtienen con maíz de tipo forrajero, sembrados a alta densidad y con fertilización. La madurez de cosecha adecuada para ensilar es cuando las mazorcas están en estado entre "lechoso y masoso". En este estado la planta presenta un alto porcentaje de materia seca, ha alcanzado su máxima producción de biomasa y tiene un buen valor nutritivo (Reyes et al. 2009).

La principal limitante del ensilaje de maíz y de otras gramíneas tropicales radica en un bajo contenido de proteína bruta (Contreras-Govea et al. 2009; Reyes et al. 2009; Abdelhadi 2005; Vélez et al. 2006), ante lo cual también es factible ensilar leguminosas herbáceas o leñosas solas o en combinación con gramíneas. La incorporación de leguminosas en el material ensilado permitirá incrementar el contenido proteico del ensilaje. Sin embargo,

ensilar leguminosas solas puede afectar el proceso de fermentación dado que el contenido de humedad es generalmente mayor y el de carbohidratos de fácil fermentación es menor (Reyes et al. 2009).

Para obtener una buena fermentación y evitar pudrición al ensilar pastos o fabáceas, es aconsejable un pre-marchitamiento del follaje hasta un 70% de humedad y añadir una fuente de carbohidratos solubles, como la melaza, a razón de 40-60 kg por tonelada de material verde solo o entre 25 y 50 kg por tonelada de mezcla de forraje gramínea-leguminosa (León 1999; Reyes et al. 2009). Ensilar el forraje de soya en mezcla con gramíneas aumenta el consumo y disminuye el costo por kilogramo de forraje ensilado. También es necesario buscar alternativas locales de fuentes de carbohidratos solubles (Tobía et al. 2006).

La conservación de leguminosas para la nutrición de rumiantes, se justifica por las características sobresalientes de estos forrajes como fuente de proteína (Lascano y Plazas 2003; Zavala et al. 2011). La soya (*Glycine max* L. Merr.) es una leguminosa de gran potencial e importancia que constituye la principal fuente de proteína vegetal y componente óptimo en la alimentación animal balanceada (Tobía et al. 2006).

La soya fue introducida inicialmente como forraje en los Estados Unidos a principios del siglo XIX. Sin embargo, su uso forrajero es virtualmente desconocido en el trópico americano. Investigaciones realizadas con el fin de reducir costos de producción animal en el trópico, especialmente de leche, mediante el uso de soya forrajera de excelente calidad nutricional han transcendido fronteras logrado excelentes resultados. En el trópico la producción bovina se ve imposibilitada de contar con un forraje tan reconocido como la alfalfa (*Medicago sativa*), debido a la pobre adaptación que ésta tiene en los sistemas productivos locales. Por lo cual la soya representa una alternativa, ya que su producción y calidad nutricional son similares a las de alfalfa, e inclusive muestra una ventaja energética comparativa al presentar un mayor contenido de lípidos (Tobía et al. 2006).

Además, con la necesidad de satisfacer los requerimientos de forraje y nutrientes para la época seca, en particular de proteína, se han realizado estudios económicos para establecer alternativas viables, estos muestran el potencial de aprovechamiento del girasol (*Helianthus*

annuus) en el sector agropecuario, orientándose a la obtención de forraje para la alimentación de ganado lechero (Penichet et al. 2008).

La gran adaptabilidad del girasol a diferentes condiciones de suelo (en clima templado, tropical y subtropical) y déficit de agua, tolerancia a una amplia gama de temperaturas y bajas exigencias tecnológicas, imparten a este cultivo una alta ventaja económica y agronómica. Puede ser cultivado en zonas donde los cultivos tradicionales, como el maíz, presentan limitaciones en su producción y resulta también ventajoso en asociaciones con el sorgo. El girasol se presenta como una alternativa para la época seca debido a la elevada producción de biomasa verde por hectárea y al alto porcentaje de proteína bruta de sus hojas, tallos y flores. Además, se presta para ser conservado en forma de ensilaje (Romero y Mattera 2008; Clemente 2009; Ribeiro et al. 2007; Penichet et al. 2008).

El ensilaje de girasol suele presentar un alto contenido proteico y un alto valor energético debido a su elevada concentración de aceite. Sin embargo, la fracción fibrosa incluye una mayor proporción de lignina, afectando su digestibilidad en comparación con los ensilajes de maíz y de sorgo. Esto puede limitar su uso en animales con altos requerimientos nutricionales (Ribeiro et al. 2007). Tanto la soya como el girasol representan alternativas en la producción de ensilaje para suplir el déficit de forraje en las épocas de escasez, siendo necesaria la evaluación del desempeño de estas dos especies en el campo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar el rendimiento de materia seca en cultivos de soya (*Glycine max* L. Merr.) y girasol (*Helianthus annuus*) y las características de fermentación y valor nutricional de sus ensilajes.

2.2 Objetivos Específicos

Evaluar el rendimiento de materia seca (RMS) de dos variedades de soya y dos de girasol, ambos en dos estados fenológicos; y en los ensilajes resultantes determinar la concentración de proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), los productos de fermentación y la estabilidad aeróbica, en dos estados fenológicos en busca de una edad óptima de cosecha para el ensilamiento.

Evaluar el RMS, los productos de fermentación, la estabilidad aeróbica y el valor nutricional del ensilaje preseleccionado de una variedad de soya y una de girasol a una edad fenológica óptima, y en sus respectivas mezclas con melaza y con sorgo (*Sorghum bicolor* L.) como fuentes de carbohidratos solubles.

Evaluar la aceptabilidad animal de los tres ensilajes de girasol (solo y mezclado con melaza y con sorgo) al ofertarlos a ovejos, con acceso también a pastoreo, mediante una prueba de cafetería y la determinación del coeficiente de preferencia de los ensilajes.

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Valor nutricional y composición química de los forrajes

El valor nutritivo de una especie forraje se define como la capacidad que tiene de satisfacer los requerimientos de los animales para su mantenimiento, crecimiento, reproducción y producción. Este valor varía ampliamente como resultado de las interacciones de factores intrínsecos de las plantas (tipo de vegetación, estado de madurez) y de los animales (especie, estado fisiológico, edad), factores ambientales y del manejo del forraje. El valor nutricional de un alimento depende de su composición química (concentración de nutrientes y ausencia o presencia de factores antinutricionales), digestibilidad y disponibilidad de los nutrientes para ser absorbidos y utilizados por el animal, y aceptabilidad animal (consumo voluntario) (Caravaca 2006; Pirela 2005; Vélez y Berger 2011).

El análisis químico rutinario de los alimentos permite conocer la concentración de nutrientes orgánicos e inorgánicos, aunque no su disponibilidad o eficiencia de utilización, ni la presencia de compuestos antinutricionales (Pirela 2005). En la formulación de raciones es fundamental el conocimiento de la composición de los alimentos para suplir los requerimientos nutricionales de forma eficiente (Grijalva, 2010).

El análisis químico tradicional de los alimentos es conocido como análisis "proximal" Weende, que fue desarrollo en Alemania en 1865 por Henneberg y Stohmann (Vélez et al. 2006). Se denomina "proximal" porque determina fracciones orgánicas que responden a determinados métodos analíticos y no sustancias químicamente definibles. Las fracciones que se determinan son: materia seca (MS), mediante secado a 105 ºC o por destilación con tolueno en el caso de ensilajes; proteína bruta (PB), mediante la determinación de N por digestión Kjeldahl y el cálculo (%Nx6.25); extracto etéreo (EE) por solubilidad en éter; fibra bruta (FB), mediante digestión sucesiva en solución diluida de ácido y luego de álcali; ceniza mediante calcinación a temperatura extrema; y extracto libre de nitrógeno (ELN), calculado como la diferencia entre 100 y los porcentajes sumados de las otras fracciones en cuestión (Vélez et al. 2006; Olvera et al. 1993).

Un esquema de análisis más relevante de la composición fibrosa del forraje, desarrollado por Van Soest y colaboradores, parte del concepto de contenido celular y pared celular en la materia vegetal. El contenido celular incluye proteínas, lípidos, minerales, ácidos orgánicos y carbohidratos no estructurales, mientras que la pared celular está formada mayormente por carbohidratos estructurales y lignina, siendo digeribles en grado variable pero sólo por fermentación biológica. La pared celular se cuantifica como la fracción analítica fibra detergente neutro (FDN). Esta constituye la totalidad de la fibra (celulosa, hemicelulosa y lignina) y se obtiene como el residuo después de hervir una muestra por una hora en lauril sulfato de sodio y EDTA con pH neutro. Este método analítico presenta limitaciones en cuanto a su precisión cuando los valores de proteína son muy altos y los de fibra, muy bajos. La FDN está correlacionada más o menos estrechamente con la capacidad de consumo de un forraje y su tiempo de retención ruminal. La fibra detergente ácido (FDA), se compone mayormente de lignocelulosa y se obtiene como el residuo de una muestra luego de la digestión por una hora en una solución de cetil trimetil-bromuro de amonio y ácido sulfúrico de concentración uno normal. Tiende a mostrar una relación inversa con la digestibilidad de los forrajes. La lignina, se obtiene como el residuo de la digestión de la FDA en ácido sulfúrico al 75% (Olvera et al. 1993; Vélez y Berger 2011).

Tabla 1. Clasificación por categoría de calidad de un tejido vegetal según su composición química.

	Calidad		
Componente %	Excelente	Promedio	Baja
PB	> 18	12 – 18	< 12
FDA	< 32	32 – 40	> 40
FDN	< 40	40 – 52	> 52
NDT	> 60	55 – 60	< 55

PB= proteína bruta; FDA= fibra detergente ácido; FDN= fibra detergente neutro; NDT= nutrientes digeribles totales (Vélez y Berger 2011).

La digestibilidad es otro determinante del valor nutritivo de un alimento de gran importancia. Se define como la proporción de MS digerida y absorbida por el animal del total existente en el alimento consumido. En un forraje una digestibilidad del 65% es indicativa de un alto valor nutritivo, ya que permite un consumo adecuado de energía en la mayoría de

los animales (Pirela 2005). De los diferentes métodos usados para medir o estimar la digestibilidad de un alimento, las pruebas con animales (*in vivo*) son las más fiables y que mejor permiten predecir la respuesta productiva de los animales. Sin embargo, las pruebas *in vivo* son costosas, laboriosas y exigen mucho tiempo y grandes cantidades de alimento (Vélez et al. 2006; Maroto et al. 2011; Ajmal Khan et al. 2003; Tilley y Terry 1963; Galyean 2010). En la investigación *in vivo* con animales estabulados se ofrece una cantidad conocida de alimento y se recoge y pesa el sobrante sin consumir, también se recoge y pesa las heces fecales Se considera que tres animales por tratamiento es el mínimo requerido para la evaluación estadística. Dependiendo del tipo de alimento se necesita entre 7 a 14 días de adaptación a la alimentación, seguido por un período de 5 a 7 días, en el cual se realizan las mediciones comparativas (Galyean 2010).

La predicción de la digestibilidad por medio de regresión basada en la composición química de un alimento representa una alternativa. Se ha desarrollo ecuaciones de regresión múltiple, relacionando varios componentes químicos con la digestibilidad *in vivo*. Sin embargo, los valores estimados serán más o menos precisos en dependencia del grado de similitud entre los forrajes usados para desarrollar las ecuaciones y los forrajes cuya digestibilidad se pretende predecir (Galyean 2010; Ajmal Khan et al. 2003). Actualmente la predicción del valor nutricional de forrajes tropicales está basada en datos de evaluaciones de forrajes de clima templado, razón por la cual se sobrestiman aquellos sistemáticamente (Van Soest 2014).

La técnica denominada *in situ* es otra alternativa para estimar la digestibilidad y también es útil para estudiar la cinética de digestión ruminal a través de múltiples tiempos de incubación y modelos de computación (Ajmal Khan et al. 2003). En este método, muestras del alimento bajo estudio, en bolsas de nilón, se introducen en el rumen de un animal con cánula ruminal donde se incuban. Para garantizar la exposición de la muestra a la acción microbiana se atan las bolsas a un cable con peso para evitar que floten en la superficie del contenido ruminal. Al tiempo indicado las bolsas son retiradas y lavadas hasta que el agua del lavado salga clara, se secan (50°C por 24 horas, seguido por 1 hora a 100°C) y se pesa el residuo. Una bolsa vacía incubada sirve de control. Un período de incubación de 72 horas puede proporcionar valores de digestibilidad similares a las obtenidas por el método de Tilley

y Terry. El tamaño de poro del nilón debe ser adecuado para evitar el paso de partículas de alimento a través de la bolsa, pero suficientemente grande para permitir la entrada microbiana. Un tamaño de poro de 50 micras o menos es recomendable. La relación muestra:tamaño de bolsa es muy importante, siendo recomendable una proporción de ~ 10 mg/cm2 de superficie de la bolsa (Galyean 2010).

También, se ha desarrollado métodos de laboratorio (*in vitro*) para estimar la digestibilidad, que consisten en simular las condiciones y procesos que ocurren dentro del rumen (anaeróbico, pH cercano a neutro, temperatura corporal). Se incuban pequeñas muestras de forraje con licor ruminal o con preparaciones de enzimas fibrolíticas, y posteriormente se aplica tratamiento con pepsina o solución detergente neutro para remover la proteína digestible. Esta técnica, inventada por Tilley y Terry (1963), con sus modificaciones, es probablemente la más utilizada en el mundo. Se determina también el valor de un control (blanco) mediante la incubación de una muestra sin alimento. El blanco representa los materiales indigeribles procedentes del inóculo de líquido ruminal que no deben contarse como parte del alimento (Galyean, 2010). El porcentaje de materia seca digerible (MSD) se calcula de la ecuación:

$$\text{MSD in vitro (\%)} = 100 \times \frac{\text{Peso inicial muestra seca} - (\text{Peso final muestra seca} - \text{blanco})}{\text{Peso inicial muestra seca}}$$

Así también, en la determinación del valor nutricional de un forraje, el consumo voluntario (CV) es de gran importancia. Éste se define como la cantidad de MS que el animal ingiere cuando el alimento es ofrecido sin restricciones (*ad libitum*) (Pirela 2005; Vélez y Berger 2011). Aun un forraje con excelente composición química y buena digestibilidad resulta de bajo valor nutricional si los animales no lo consumen bien (Pirela 2005). El CV está afectado por factores del animal (requerimientos nutritivos, capacidad de tracto digestivo); factores del alimento (composición y digestibilidad) y factores del ambiente, principalmente la temperatura y humedad. Por otro lado, de la composición, la fracción fibrosa es clave para estimar la digestibilidad [% MSD= 88.9-(0.779x%FDA)] y el CV de la MS de un forraje (CMS% de peso vivo=120/FDN%). Al combinar estos dos indicadores, MSD y CMS, se ha desarrollado el concepto de Valor Relativo de los forrajes para establecer su calidad comparativa [VRF= (MSDxCMS)/1.29] (Vélez y Berger 2011).

3.1.1 Factores que afectan el valor nutricional de los forrajes

El valor nutricional de un forraje puede ser afectado por factores propios de la planta (especie, morfología, edad), factores ambientales (temperatura, radiación solar, precipitación, suelo) y por el manejo agronómico (Pirela 2005).

De acuerdo al tipo de planta, los forrajes presentan diferencias interespecíficas en su composición química y digestibilidad. Sin embargo, la diferencia más grande surge al comparar gramíneas y leguminosas, ya que a un mismo estado fisiológico el contenido de proteína y minerales, y la digestibilidad de la fibra tiende a ser mayor en las leguminosas (Vélez y Berger 2011; Pirela 2005). Por otra parte las gramíneas de clima templado (C3) presentan mejor digestibilidad (mayor contenido de carbohidratos solubles y menos fibra) y niveles más altos de PB y minerales que las de clima tropical (C4), pero su producción de MS por unidad de área es menor (Vélez y Berger 2011). La mayor tasa de lignificación de los forrajes tropicales afecta negativamente su digestibilidad. Al comparar leguminosas de clima templado y tropical los valores de digestibilidad son más o menos similares (Van Soest 2014), e independientemente de su procedencia son de tipo C3 (Vélez et al. 2006).

Otra característica importante de un forraje es su proporción de hojas y tallos, ya que las primeras tienen mayor concentración de proteína y menor de fibra que los tallos, lo cual afecta su valor nutritivo. También los factores morfológicos, como la altura y el hábito de crecimiento (rastrero o macollo) tienen un efecto debido al comportamiento ingestivo de los animales, observándose una mayor proporción de consumo en especies de porte alto (Pirela 2005). Forrajes como alfalfa (*Medicago sativa*), cocoite (*Gliricidia sepium*), huizache (*Acacia farnesiana*), y guásimo (*Guazuma ulmifolia*) presentan diferentes contenidos de MS, PB, FDN y FDA, entre las hojas solas y el conjunto de hojas y tallos. Se ha determinado que en promedio el contenido de PB se reduce en un 27.5 %, los contenidos de FDN y FDA aumentan en 20.5 y 29.6 % respectivamente, y la digestibilidad disminuye en 31.2 % en la combinación de hojas y tallos relativo a las hojas solas (Cobos-Peralta et al. 2003).

El estado de madurez de la planta es quizá el factor más determinante en la calidad del forraje. Al madurar, la planta remueve el contenido celular de tejidos senescentes hacia las células jóvenes, órganos de almacenamiento (corona y raíces) o fruto (semilla); además

los componentes estructurales (lignina, celulosa y hemicelulosa) aumentan a mayor velocidad que los carbohidratos solubles, y el contenido de pectina y proteína se reducen. Estos cambios afectan negativamente la digestibilidad del forraje, la cual puede estar entre un 75-80 % en sus partes en crecimiento y menos de 40% en el tejido maduro. El consumo animal, así como la digestibilidad y el contenido de PB, se ve afectado de forma negativa a mayor edad del forraje. La madurez de los forrajes también produce cambios morfológicos (relación hoja:tallo) que afectan el valor nutricional del forraje (Vélez y Berger 2011; Pirela 2005). La menor foliosidad (proporción de hojas) de los forrajes, sobre todo de las gramíneas, suele afectar significativamente su calidad nutritiva, debido a que las láminas de las hojas constituyen la fracción con mayor proporción del tejido altamente degradable (mesófilo). La disminución en calidad con la madurez de los tejidos es mínima en las láminas de leguminosas templadas (Agnusdei 2007; Romero 2008).

Las características fisiológicas y morfológicas de las pasturas quedan afectadas por las condiciones climáticas, principalmente por la temperatura, radiación solar y precipitación, lo cual afecta el rendimiento y calidad del forraje. La tasa de fotosíntesis y respiración cambian con la temperatura y no todas las especies forrajeras tienen un mismo óptimo de temperatura para cumplir estas funciones. Los forrajes C3 pueden fijar CO_2 lentamente a temperaturas cercanas a 0 °C y llegan a su máxima tasa de fotosíntesis entre 20-25 °C, en cambio los C4 muestran la máxima fotosíntesis entre 30-40 °C y baja actividad de la fosfoenolpiruvato carboxilasa en temperaturas bajas. En ambos tipos de plantas, temperaturas inferiores a la óptima reducen la cantidad de MS producida, pero ésta es de mayor digestibilidad; por lo contrario las temperaturas por encima de la óptima promueven un aumento en el contenido de la pared celular, especialmente de lignina, lo cual reduce la digestibilidad. A medida que aumentan las temperaturas por la noche, el proceso de respiración nocturna consume más azúcares y almidones sintetizados durante el día. En latitudes altas y en la época de noches cortas la respiración disminuye dejando intacta mayor cantidad de MS y de mejor calidad (Vélez y Berger 2011; Vélez et al. 2006; Pirela 2005).

Otro aspecto a considerar es la presencia de sustancias antinutricionales, ya que estas reducen la productividad de los animales por diversos modos, incluyendo efectos sobre la digestibilidad, el consumo del forraje y el índice de conversión alimenticia, e incluso

ocasionan intoxicaciones mortales en algunos casos. Ejemplos de sustancias de esta índole incluyen glucósidos cianogénicos en el sorgo, mimosina en leucaena y minosa, e indospicina en indigofera. Diversas herbáceas y arbóreas contienen tiaminasas, taninos, cumarinas (Melilotus) y alcaloides (Erythrina) (Romero 2008).

3.1.2 Valor nutricional de los forrajes templados (C3)

Las zonas templadas se encuentran entre los 30° y 60° de latitud y generalmente reciben precipitaciones anuales de entre 500 y 2000 mm. Los forrajes adaptados a estas condiciones son, en su mayoría, plantas de tipo C3, las cuales producen un metabolito de tres carbonos (ácido fosfoglicérico) como primer compuesto estable de la fotosíntesis. Estas especies soportan condiciones de heladas y en latitudes tropicales, se adaptan bien a alturas por encima de 1500 a 2000 msnm (Vélez et al. 2006; Romero 2008).

Relativo a las gramíneas tropicales, de manera general, las gramíneas templadas son más macolladoras y de acuerdo a su morfología presentan menor producción de forraje con un menor contenido de agua; fisiológicamente se caracterizan por una tasa de fotosíntesis moderada y una fotorespiración de 25-30%, una saturación de luz de aproximadamente 35000 lux, una fijación de CO_2 de 10-30 mg/dm^2-h y menor eficiencia en el uso del agua y respuesta a la fertilización nitrogenada (Romero 2008).

Entre las especies forrajes más comunes en latitudes templadas, en zonas altas con suelos fértiles, están la alfalfa (*Medicago sativa* L.), pura o en mezcla con gramíneas como cebadilla, festuca (*Festura arundinacea*) y raigrás perenne (*Lolium perenne*); y el trébol blanco (*Trifolium repens* L.). Para zonas inundables se utilizan las especies Festuca, Agropiro (*Thynopirum ponticum*), Falaris (*Phalaris arundinacea*) y trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) en mezcla con gramíneas, trébol blanco y Achicoria (*Chichorium intybus*). Además, como especies de complemento se utilizan para el verano algunas anuales como sorgo forrajero, moha, mijo, sorgo granífero y maíz, y en invierno, avena (*Avena sativa* L.), raigrás anual (*Lolium multiflorum*), trigo (*Triticum aestivum*), cebada (*Hordeum vulgare*), centeno (*Secale cereale*) y triticale (×*Triticosecale*) (Romero 2008; Vélez y Berger 2011).

En el clima templado-frío la eficiencia de conversión teórica de la energía radiante en materia vegetativa es de 3%, esto se traduce en una producción anual de forraje entre 35-38 toneladas de MS ha^{-1}. Sin embargo, en la realidad no se alcanzan estos rendimientos teóricos debido a múltiples factores que afectan la producción forrajera. En la ganadería de clima templado, la época crítica para los abastos de forraje es otoño-invierno cuando las tasas de crecimiento diario de las forrajeras varía desde cero hasta aproximadamente 10 kg de MS ha^{-1}, esto contrasta con las tasas de primavera y verano que superan los 70 kg de MS ha^{-1} (Romero 2008). Para especies de gramíneas, como festuca y raigrás perenne, las producciones anuales y diarias son típicamente de 11-12 tn y 20-80 kg MS ha^{-1}. En América tropical, leguminosas como la alfalfa, rinden hasta 100 kg diarios de MS ha^{-1} (Vélez et al. 2006; Recavarren et al. 2013). En clima templado cultivares de alfalfa como WL-516, WL-318 y Kanza, muestran tasas de crecimiento diario de 38.3, 24.5 y 18.8 kg MS ha^{-1}, respectivamente (Romero 2008). Trébol blanco ha rendido de 7472, 5740, 1693 y 1520 kg de MS ha^{-1} por año para períodos de rebrote de 30, 60, 90 y 120 días (Castelán et al. 2002).

Entre las gramíneas de clima templado, el raigrás sobresale como la de mejor calidad, por su excelente palatabilidad y digestibilidad (7-24% PB y 65-85% digestibilidad), superando a otras como el pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) y festuca (12-16% PB y 55- 70% de digestibilidad) a una misma edad (Romero 2008; Vélez et al. 2006; Corpoica 2013). El pasto festuca es muy palatable y mantiene su valor nutricional hasta los 45 días de madurez. Tanto del raigrás perenne como del anual el consumo diario de MS puede rebasar el 3% del peso vivo y puede permitir producciones superiores a 20 litros de leche por vacas lecheras sin suplementación (Vélez et al. 2006). Raigrás perenne producido en zonas altas de latitudes tropicales muestra valores nutricionales similares a los obtenidos en clima templado. En Costa Rica, se encontró en raigrás 25.21% PB, 46.26% FDN, 25.57% FDA, 3.29% lignina, 15.40% carbohidratos no fibrosos (CNF) y 77.95% digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), y estimados del valor energético de 61.95% NDT y 2.92, 2.45, 1.53 y 0.92 Mcal kg^{-1} de MS de ED, EM, ENl y ENg, respectivamente (Villalobos y Sánchez 2010). Una evaluación de gramíneas templadas (raigrás, avena y trigo) dio valores promedio porcentuales de 18, 50, 23 y 1.8 en PB, FDN, FDA y lignina, respectivamente (Marichal et al. 2007).

Entre las leguminosas, el trébol blanco mantiene mejor su digestibilidad y presenta un mayor contenido de PB en comparación con el trébol rojo o la alfalfa (Romero 2008).El trébol rojo muestró valores promedio de 17.8-19.9% PB, 1.40-1.24 Mcal ENL kg^{-1} y 2.22-2.12 Mcal EM kg^{-1} (Drobná y Jančovič 2006). Otros determinaciones hechas de *Trifolium pratense,* incluyen valores promedio de 19.7% PB, 40.0% FDN, 29.6% FDA, 7.3% lignina y 4.36 Mcal EB kg^{-1} de MS, además, de 77.1% de degradabilidad ruminal de la FDN (Koukolová et al. 2010). La alfalfa presentan una excelente digestibilidad de entre 68 y 86%, un alto contenido de PB (15-25%) y una excelente palatabilidad (Vélez et al. 2006). La materia seca de alfalfa ha mostrado digestibilidades de 72.55, 75.38 y 77.55% determinadas por la técnica de Tilley y Terry, la metodología de ANKON y el método *in situ*, respectivamente (Martínez et al. 2006). Vázquez et al. (2010), hallaron en alfalfa valores promedio de 23.6% PB, 28.9% FDA y 33.9% FDN, y la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) indica valores de 13.4 a 20.8% PB, 36.7 a 62.0% FDN, 27.2 a 44.6% FDA y 6.32 a 8.96% lignina; además de 1.8 a 2.33 Mcal EM kg^{-1} MS y 1.08 a 1.45 Mcal EN kg^{-1} MS (Calsamiglia et al. 2004a).

3.1.3 Valor nutricional de los forrajes tropicales (C4)

Aunque diferencias en la latitud y altura generan en el trópico una amplia variedad de condiciones climáticas, la alta radiación solar (300 a 600 cal/cm^2-día) y evapotranspiración han dado lugar a especies de plantas con un metabolismo denominado C4. En las especies C4 los primeros metabolitos estables producidos en el proceso de fotosíntesis, son los ácidos málico y aspártico, ambos de cuatro carbonos. Las gramíneas C4 presentan una saturación de luz >70000 lux y fijaciones de CO_2 entre 50-70 mg/dm^2-h, alcanzando así una alta tasa de fotosíntesis y de crecimiento vegetativo, mayor eficiencia en el uso del agua y una alta respuesta a la fertilización nitrogenada (Vélez et al. 2006; Romero 2008).

Las características anatómicas, bioquímicas y fisiológicas de las gramíneas tropicales tienen un impacto sobre su valor nutricional. El mesófilo es un tejido de fácil degradación por las bacterias ruminales, pero en las gramíneas C4 en promedio se presenta una relación mesófilo:haces vasculares menor (1.8 a 3.7:1) que la de las leguminosas y gramíneas de clima templado (8:1), lo cual disminuye la digestibilidad de aquellas como consecuencia de una

mayor pared celular. Por otra parte, aunque los contenidos de celulosa son similares en plantas C3 y C4, el contenido de hemicelulosa y lignina es mayor en las gramíneas tropicales, lo cual implica también una menor digestibilidad. Al comparar leguminosas templadas y tropicales, ambas mantienen niveles de digestibilidad relativamente altos. La mayoría de leguminosa tropicales crecen y nodulan fácilmente en suelos ácidos y de baja fertilidad, no causan meteorismo en los rumiantes y tienen bajos niveles de estrógenos (Romero 2008).

En cuanto a la PB, las gramíneas C4 se caracterizan por tener niveles más bajos que las gramíneas C3 y leguminosas. Entre especies también existen diferencias significativas en la solubilidad de la proteína, la cual es menor en forrajes que presentan taninos. La alta temperatura es otro factor que afecta negativamente la calidad de los forrajes en el trópico, en particular a las gramíneas, por acelerar la tasa de maduración del forraje resultando en una mayor lignificación de la pared celular y por ende en una disminución de la digestibilidad (Vélez et al. 2006; Romero 2008).

Resultados de múltiples experimentos con vacas lecheras han mostrado producciones de leche entre 10 y 14 Kg diarios con animales pastoreando en gramíneas tropicales mejoradas, sin suplementación con concentrados. Utilizando pastoreo rotacional en potreros puros de *Lablab purpureus* y *Leucaena leucocephala* se ha obtenido producciones de leche mayores a 10 kg/día. Sin embargo, al utilizar otras leguminosas (rastreras) los niveles de producción han sido más bajos que los obtenidos con solo gramíneas, esto debido quizá, a los hábitos de consumo de los bovinos, que dificultan el consumo de suficiente forraje para satisfacer sus requerimientos de nutrientes. Una alternativa más viable para el uso de las leguminosas en el trópico consiste en su aprovechamiento en bancos de proteína (30 % del área total de pastoreo). Estudios bajo este enfoque han mostrado incrementos de 21% en la producción de leche en vacas a pastoreo en padreas de *D. decumbens* y con acceso a un banco de proteína de *L. leucocephala*. Otra alternativa es el uso de las leguminosas tropicales en asociación con gramíneas; con esta práctica y manteniendo una proporción adecuada de leguminosas (al menos 20-30 % de la biomasa disponible) se ha obtenido producciones de leche de 9-13 kg diarios (Romero 2008).

Las gramíneas C4 que se han identificado como promisorias para el clima tropical incluyen las especies perennes *Andropogon gayanus*, el género de las *Urochloas* (*brizantha*,

decumbens, dictyoneura, humidicola, ruziziensis), *Pennisetum ciliare, Chloris gayana,* los *Cynodones* (*dactylon y nlemfuensis*), *Digitaria eriantha*, *Megathyrsus maximus, Pennisetum purpureum, Setaria sphacelata, Tripsacum laxum, Saccharum officinarum,* y las especies anuales maíz (*Zea mays*) y sorgo (*Sorghum bicolor*). Estas últimas se utilizan mayormente para corte y acarreo o para la elaboración de ensilajes. Entre las leguminosas de clima tropical destacan *Arachis pintoi, Centrosema pubescens, Cajanus cajan, Clitoria ternatea, Lablab purpureus, Stylosantes guianensis, Vigna unguiculata, Gliricidia sepium, Leucaena leucocephala, Neonotonia wightii* y *Canavalia ensiformis,* entre otras (Vélez y Berger 2011; Romero 2008).

Las gramíneas tropicales presentan comúnmente producciones diarias de 80-120 kg MS/ha pudiendo llegar a 300 kg (*Pennisetum purpureum*) con un adecuado manejo (Vélez et al. 2006). Especies como *Chloris gayana* y *Megathyrsus maximus* presentan rendimientos diarios de hasta 137 y 200 kg de MS/ha, respectivamente. En el caso de las leguminosas tropicales, especies como *Arachis pintoi, Centrosema pubescens* y *Gliricidia sepium* han rendido 50, 14 y 6-55 kg MS/ha diariamente (Vélez y Berger 2011). *Panicum maximum* (Guinea), *Cynodon dactylon* (Bermuda), *Digitaria decumbens* (Pangola), y *Panicum maximum* var Tanzania al inicio de la floración mostraron valores de 8.09, 7.60, 7.60, y 4.64% PB, y 72.7, 76.0, 65.6, 74.6% FDN, respectivamente, siendo los valores promedio de 6.98% PB y 72.2% FDN (Juárez et al. 2009).

Estrada (2004), estudió *Brachiaria hibrido* (Mulato), *Panicum máximum* y *Digitaria eriantha* producidos a 20, 800 y 1200 msnm y observó valores para PB de 8.8, 9.2 y 15.1% y para FDN de 57.7, 53.7 y 51.1%, aumentando el contenido de PB y decreciendo el de FDN a mayor altura. Se ha establecido el nivel crítico de PB para pastos C4 en 7%. Por debajo de este nivel el consumo animal se ve limitado ya que no se garantiza un balance positivo de nitrógeno (Pirela 2005). Otros informes fijan el contenido de PB de *Megathyrsus maximus, Pennisetum purpureum, Chloris gayana, Cynodones nlemfuensis, Urochloa brizantha* en 5-16, 5-18, 4-13, 5-16 y 5-12%, respectivamente. Todas estas especies presentan una buena palatabilidad a los 28 - 35 días de rebrote (Vélez y Berger 2011).

Valores publicados sobre la digestibilidad de gramíneas incluyen 50-64% para *Megathyrsus maximus,* 50-68% para *Pennisetum purpureum*, 40-60% para *Chloris gayana* y

50-62% para *Cynodone nlemfuensis*. *Urochloa brizantha* presentó una digestibilidad de 50-60% para períodos de rebrote menores a 35 días, pero luego de los 42 días ésta puede ser menor a 42% (Vélez y Berger 2011). Evaluaciones realizadas en vacas Jersey y Holstein con *Panicum máximum* cv. Tobiatá mostraron consumos diarios de MS de 1.7 y 1.8% del peso vivo, respectivamente. Estos consumos son menores a los teóricos propuestos por NRC por márgenes de 18.3 y 11.4%, respectivamente (Ruiz y Rodríguez 2004). En tres variedades de *Pennisetun purpureum* (Merker enano y morado y King grass) para cortes de 45 días, se observó un rendimiento promedio de 9569 kg MS/ha, una relación hoja:tallo de 1.12 y un contenido de PB de 12.8% en hojas y 7% en tallos (Wagner y Colón 2014). Otras evaluaciones realizadas en *Pennisetun purpureum* a tres edades de cosecha encontraron valores promedio de 8.89% PB; 75.38% FDN; 49.37% FDA y 13% lignina (Chacón y Vargas 2010).

Vélez y Berger (2011), estiman el valor de ENL de las gramíneas C4 entre 0.90-1.10 Mcal/kg MS. Según Juárez et al. (2009), gramíneas tropicales, como guinea, bermuda, pangola y Tanzania, presentan valores promedio de 1.76 y 1.33 Mcal/kg MS para ED y EM, respectivamente.

Leguminosas tropicales, como *Leucaena* (digestibilidad de 50-71%), *Centrosema* (digestibilidad de 35-55% y 16.7% PB) y *Gliricidia*, presentan buena palatabilidad, pero *Lablab purpureus* (digestibilidad de 50-60 % y PB 11-14%) es de baja palatabilidad. El maní forrajero (*Arachis pintoi*) varía en digestibilidad de la MS de mediana a alta (58-72%) y en concentración de proteína de 12-20%. Otra especie ni gramínea ni leguminosa utilizada como forraje en el trópico, *Morus alba*, presenta 70% de digestibilidad y 15% de proteína (Vélez et al. 2006). Con potencial como alimento del ganado en zonas semiáridas se ha señalado a la especie *Suaeda pruinosa* por presentar buenos valores de PB (23%), FDN (24.25%), FDA (10.28%), lignina (9.15) y DIVMS (80%) (Barroso et al. 2005).

Debido en gran parte al menor valor nutricional de los forrajes y a las condiciones de estrés calórico, los niveles de producción animal en el trópico son inferiores a los obtenidos en clima templado. El animal a pastoreo en praderas con gramíneas tropicales consume cantidades subóptimas de energía y proteína digerible. Sin embargo, existen ejemplos de gramíneas C4 y leguminosas tropicales con las cuales se ha alcanzado niveles aceptables de

producción (carne y leche) por unidad de área con una alimentación basada en el pastoreo (Vélez y Berger 2011; Romero 2008). La caña de azúcar (Saccharum officinarum) se destaca, por su alta producción de biomasa y se ha obtenido producciones en vacas Holstein, de 17 kg de leche/día con una dieta de caña *ad líbitum* y una suplementación diaria igual a 1% del PV de una mezcla de urea y sulfato de amonio (9:1) (Zepeda et al. 2008).

3.2 Sistemas de conservación de forrajes

La conservación de forraje es de vital importancia para una alimentación adecuada durante las épocas de escasez. En el trópico la escasez de forraje ocurre mayormente en la época de sequía, sin embrago, en ciertas localidades ésta puede presentarse en la época de mayor precipitación, por efecto de las inundaciones. Bajo condiciones de mala distribución de la lluvia y la no disponibilidad de sistemas de riego, una estrategia de alimentación es la utilización de forrajes conservados, aprovechando los excedentes de forraje de la época de mayor producción. Las opciones en la conservación de forrajes incluyen heno, ensilaje y henilaje (Vélez y Berger 2011; Dumont 2006; Holguín e Ibrahim 2004).

La conservación de los forrajes implica una cosecha mecánica, por lo que los animales pierden la oportunidad de selección (forraje de mayor calidad y palatabilidad). Además, todo proceso de conservación envuelve pérdidas por medios físicos, químicos y microbiológicos del tonelaje y valor nutricional del forraje. Es indispensable una adecuada preparación para reducir al mínimo las pérdidas que se dan por efecto de los procesos de respiración y fermentación. Además, un mal proceso de conservación implicará el crecimiento de hongos y bacterias en el forraje con posible producción de toxinas dañinas a la salud animal (Vélez y Berger 2011; Vélez et al. 2006).

Una alternativa adicional de conservación de forraje es el uso de caña de azúcar (silo en pie), por su alta producción de biomasa, persistencia y capacidad de permanecer verde durante períodos largos de sequía. Para este uso se recomiendan las mismas variedades dedicadas a la producción de azúcar (Vélez y Berger 2011).

3.2.1 Ensilaje

El ensilaje es una técnica de conservación de diversos tipos de forrajes verdes u otros alimentos, potencialmente con una mínima pérdida de nutrientes. Depende de la estabilización del forraje por procesos de fermentación anaeróbica con acumulación de ácidos orgánicos, principalmente AL, provenientes de la conversión de los azúcares solubles fermentados por las bacterias ácido lácticas (BAL). El AL se disocia liberando iones de hidrógeno, bajando el pH del ensilaje, lo cual evita la proliferación de microorganismos que causan la descomposición. La obtención de un adecuado proceso de fermentación, que garantice la estabilidad y calidad del ensilaje, requiere ensilar forrajes con una humedad adecuada, suficientes carbohidratos solubles en el forraje, un rápido llenado del silo compactando bien el forraje (establecimiento de condiciones anaeróbicas), con mínima demora y la presencia del tipo de bacterias acidificantes necesarias. (Vélez y Berger 2011; Chr. Hansen 2009; Dumont 2006; Holguín y Ibrahim 2004; Mhere et al. 2002; Bareeba 1992).

La elaboración del ensilaje requiere cuidado al seleccionar el sitio para la confección del silo, cosechar y picar el forraje, llenar el silo y compactar el forraje, y al sellar el silo (Dumont 2006; Valerio y Atiles 2013). Las etapas sucesivas que pasan durante la fermentación del ensilaje pueden describirse como (Chr. Hansen 2009; Amaral 2015; Reyes et al. 2009):

Fase aeróbica. Se trata esencialmente de un proceso de respiración celular vegetal que empieza al memento de la cosecha y continúa, durante el picado y colocado del forraje en el silo, hasta que el oxígeno o los carbohidratos solubles en agua se han consumido. Bajo condiciones adecuadas de humedad, tamaño de partícula y compactación, esta fase dura sólo unas pocas horas, tiempo insuficiente para el crecimiento de hongos y levaduras que causan pérdidas de proteína, MS y energía. El aumento de temperatura es la característica más notable durante esta fase, pudiendo alcanzar de 9-12 °C por encima de la temperatura ambiente.

Fase anaeróbica o fermentación láctica. Esta fase se inicia cuando el oxígeno atrapado en la masa de forraje se ha agotado. Se presenta inicialmente una hetero-

fermentación que generalmente dura entre 24 (maíz) y 72 horas (alfalfa). Durante estas primeras horas, bacterias (hetero-fementadoras) que toleran el calor (producido durante la fase aeróbica) y pH de 5-7, convierten los carbohidratos solubles en AA, un poco de AL, alcoholes y dióxido de carbono. A pesar de que el AA es menos eficiente que el láctico, una disminución del pH se inicia y cuando cae por debajo de 5, las bacterias homo-fermentativas predominan, favoreciendo la producción de AL que produce una disminución rápida del pH y la inhibición de las bacterias ácido-acéticas. La disminución del pH y de la temperatura continúa hasta alcanzar una estabilización del material ensilado, inhibiendo todo otro tipo de crecimiento bacteriano, lo cual permite su conservación en el silo. Un adecuado proceso de fermentación resulta en suficiente producción de AL para que este constituya más de 65% del total de ácidos orgánicos. El AL reduce la pérdida de nutrientes y sirve de fuente de energía para los rumiantes consumidores de ensilaje. El pH final del ensilaje depende sobre todo del tipo de forraje y su contenido de humedad. Leguminosas como alfalfa presentan una menor proporción de carbohidratos solubles (4-6%) y una mayor capacidad tampón (480 miliequivalentes de NaOH/Kg MS), alcanzando un pH final de aproximadamente 4.5; mientras que ensilajes de maíz, a diferencia de los de otras gramíneas y leguminosas, alcanzan un pH de alrededor de 4, por su menor capacidad tampón (200 miliequivalentes de NaOH/Kg MS) y mayor contenido de azúcares solubles (6-8%) (Alaniz 2008). Un ensilaje elaborado con un contenido adecuado de humedad y un inóculo de bacterias ácido-lácticas de alta calidad asegura una fermentación rápida y uniforme, completando este proceso en un periodo de 3 a 10 semanas desde la cosecha.

Fase de estabilización. Se presenta esta fase una vez que el ensilaje ha alcanzado su pH final y el crecimiento activo de las bacterias acido-lácticas se ha detenido. La temperatura final de un ensilaje bien fermentado varía entre 24 y 30 °C. La fase estable se mantiene durante el tiempo de almacenamiento del forraje con poca actividad biológica y una mínima pérdida de nutrientes, siempre y cuando haya un adecuado sellado que no permita el ingreso de oxígeno.

Fase de alimentación con deterioro aeróbico. Una vez se abre el silo entra aire y la exposición aeróbica continuará durante el uso del ensilaje en la alimentación animal hasta cuando se acaba. El reingreso de oxígeno en el forraje fermentado empieza a generar

deterioro aeróbico (pérdida de MS y nutrientes) debido a la actividad de levaduras y hongos que estuvieron en estado de dormancia durante la fase estable. Un adecuado manejo del vaciado del silo, dejando expuesta una mínima superficie del ensilaje y eliminación rápida del ensilaje en los comederos, ayuda a reducir las pérdidas de MS y mejora la aceptabilidad del ensilaje por los animales.

Durante la producción y uso del ensilaje se generan varios tipos de pérdidas: las ocurridas el en campo por reacciones bioquímicas (respiración de la planta), escurrimiento y manipulación mecánica del forraje; las ocurridas por respiración al degradarse los nutrientes por enzimas de la planta o de los microorganismos; y las resultantes de la fermentación, las cuales dependen de lo adecuado del inóculo de bacterias ácido-lácticas. Bacterias indeseables (clostridias) pueden crecer en ensilados de leguminosas con contenidos de MS menor al 30%, generando pérdidas sustanciales de MS y energía, debido a que convierten los azúcares, ácidos orgánicos y proteínas en AB, CO_2, gas hidrógeno y amoníaco. Se presentan pérdidas también por deterioro aeróbico cuando se abre el silo (Chr. Hansen 2009; Reyes et al. 2009).

Se usan diferentes clases de aditivos para mejorar la fermentación y minimizar las pérdidas de nutrientes. Las clases de aditivos más comunes son inoculantes bacterianos, enzimas, ácidos, fuentes de carbohidratos solubles, nitrógeno no proteico (NNP) y absorbentes. Los aditivos biológicos, como las bacterias (lactobacilos y pediococos) y enzimas (amilasas, celulasas y pectinasas), promueven una rápida producción de AL para la estabilización del ensilaje. Las fuentes de carbohidratos solubles, como la melaza, proveen suficiente sustrato a las BAL para lograr una fermentación acelerada. La adición de ácidos, como el propiónico y el fórmico, acidifican rápidamente el forraje, restringiendo la actividad bioquímica vegetal y microbiana. El uso de fuentes de NNP, como urea y amoniaco anhídrido, incrementa el contenido de PB del forraje y aporta propiedades antimicrobianas. Por otra parte, la inclusión de granos de cereales y pulpa de remolacha o subproductos de estos, incrementan el contenido de MS y disminuyen el volumen de efluentes, fomentando de esta manera la debida fermentación, además, de aportar carbohidratos digeribles al animal que los consume (Chr. Hansen 2009; Dumont 2006).

3.2.1.1 Factores que afectan la calidad del ensilaje

El valor nutricional de un ensilaje refleja el valor del forraje fresco usado en su elaboración. De hecho la conservación de forraje en forma de ensilaje tiene como objetivo conservar la composición nutricional del forraje fresco. Sin embargo, un ensilaje mal elaborado se convierte en un alimento de bajo valor nutricional y poco palatable, pudiendo incluso ser rechazado por los animales (Reyes et al. 2009). Un factor clave que afecta la calidad del ensilaje obtenido es la composición con respecto al contenido de MS y de azúcares solubles. Otros factores incluyen la madurez del forraje, el tamaño de partícula y capacidad tampón, las condiciones climáticas y el manejo durante la elaboración del silo (Chr. Hansen 2009; Dumont 2006).

El contenido de MS del forraje y conversamente su humedad, deben caer entre límites definidos. Contenidos muy bajos de humedad dificultan la compactación del material ensilado, generando espacios de aire al interior de la masa de forraje, lo que favorece el crecimiento de microorganismos que generarán temperaturas excesivas y pérdidas de MS. Las temperaturas mayores a 45 °C causan ligamiento de las proteínas a los carbohidratos, con lo cual quedan no disponibles para la digestión y absorción por parte de los animales. Por lo contrario, cuando los niveles de humedad son muy elevados se producen escurrimientos cuyo contenido de MS puede alcanzar un 6%, generando pérdidas de carbohidratos y proteínas hidrosolubles. Se recomienda un contenido de MS entre 32 y 35%, sin embargo, éste varía dependiendo de la especie forrajera y el tipo de ensilamiento a utilizar. Un adecuado nivel de humedad favorece el desarrollo de las BAL y la fermentación deseada (Chr. Hansen 2009). Estas bacterias toleran mejor los niveles bajos de humedad en comparación con Clostridium; por lo contrario, a niveles mayores de 70% de humedad el crecimiento de Clostridium no se inhibe aun a un pH de 4. Además, en ensilajes elaborados con forrajes con altos niveles de humedad el valor nutricional y consumo animal disminuyen (Alaniz 2008). Para evitar fermentaciones secundarias que afecten la calidad del ensilaje se recomienda cosechar las gramíneas no graníferas cuando el contenido de MS está entre 20-55%, en el caso de cereales menores entre 40-50%, y tratándose de maíz y sorgo, con 25 a 35% (Chaverra y Bernal 2000). Alfalfa ensilada con 75% de humedad generó un ensilaje con un pH de 5.5 y ausencia de AL, pero con 7% AB, y 50% de NH_3-N, mientras que con alfalfa

cosechada a 68% de humedad se obtuvo ensilaje con pH de 4.2, 3% AL, ausencia de AB, y 3.5% de NH_3-N (Seglar 2003).

Los principales azúcares presentes en los forrajes son fructosa, glucosa, sacarosa y fructosanos. Estos son usados por los microorganismos como fuentes de energía en el proceso de fermentación. Un bajo nivel de carbohidratos solubles limita la fermentación, ya que el pH no se reduce a un nivel que permita la estabilización del ensilaje. Se requiere niveles entre 6-12% para una fermentación adecuada. Las leguminosas de manera general contienen bajos niveles de carbohidratos solubles lo que dificulta su ensilado. Pero, forrajes graníferos como el maíz contienen una abundancia de carbohidratos solubles que aseguran un proceso completo de fermentación láctica (Alaniz 2008).

La madurez del forraje afecta tanto el RMS como el valor nutricional del ensilaje. Con una mayor madurez, el contenido de proteína y de carbohidratos de fácil fermentación y la digestibilidad disminuyen rápidamente, mientras que el RMS puede incrementar (Reyes et al. 2009). Para ensilar maíz se recomienda una cosecha con 32-36% MS (2/3 grano), lo cual facilita la compactación en el silo. Este nivel de MS, coincide con un nivel de sustrato adecuado (carbohidratos solubles) para las BAL. La etapa de madurez recomendada para ensilar alfalfa es al inicio de la floración (55-60% humedad); después de esta fase los niveles de PB bajan y los de FDN y FDA incrementan, afectando de forma negativa el VRF (Chr. Hansen 2009). Forrajes menos maduros y con mayor contenido de humedad presentan una alta capacidad tampón, que hace que la fermentación requiere de niveles altos de carbohidratos solubles para la acidificación y estabilización (Alaniz 2008).

El grado de resistencia a los cambios de pH (capacidad tampón o amortiguadora) de los forrajes afecta su facilidad de ensilamiento. Los forrajes con alta capacidad amortiguadora (leguminosas) son altamente resistentes a la reducción del pH, siendo necesaria una alta producción de AL para alcanzar los niveles deseados de pH. Esto es una característica indeseable en el forraje destinado al ensilamiento. En el forraje los ácidos orgánicos málico, succínico, malónico y glicérico son los más responsables de la capacidad tampón. La proteína vegetal también aporta a la capacidad amortiguadora. De manera general, se requiere de un 10-12% de carbohidratos solubles para lograr un buen ensilado en las leguminosas, mientras que en las gramíneas un 6-8% puede ser adecuado. Ciertos materiales como la pulpa de

remolacha presentan una baja capacidad tampón y sólo necesitan 4-6% de carbohidratos solubles para su ensilamiento (Alaniz 2008).

Además, las condiciones climáticas afectan el proceso de ensilamiento durante la cosecha y manejo posterior del forraje. Esto es más evidente en forrajes como alfalfa, si ésta contiene de 70-80% de humedad a la cosecha, será necesario un marchitamiento del forraje en el campo antes del ensilado. El secado parcial ayuda a evitar problemas de efluentes y fermentación por Clostridium. El tiempo requerido para el grado de parcial secado dependerá del clima, tomando de 4 a 6 horas bajo condiciones adecuadas, pero si la temperatura es baja y la humedad alta este tiempo se prolongará causando pérdidas de MS y nutrientes (Chr. Hansen 2009).

Por otra parte, un tamaño adecuado de partícula (picado fino) es importante para asegurar una adecuada compactación, con una eliminación eficiente del aire y un acomodo de una mayor cantidad de forraje en el silo. De forma general, forrajes con mayor contenido de MS requieren longitudes de partícula más cortas. Por otro lado, un picado demasiado fino afecta la efectividad ruminal de la fibra, y esto a su vez puede reducir el contenido de grasa en la leche, y causar mayor incidencia de desplazamiento de abomaso y acidosis en vacas lecheras. Para alfalfa ensilada se recomienda que el 15-20% de las partículas sean mayores a 3.8 cm de largo (Chr. Hansen 2009). Forrajes muy secos y de avanzada madurez deben ser picados a longitudes de partícula de 3-4 cm. Esta característica también afecta el consumo voluntario. Ensilajes con partículas de 1.2 cm de largo son consumidos en mayor cantidad comparados con los de partícula de 7.5 cm. Esto se explica por un mayor tiempo de retención en el rumen de las partículas más largas (Dumont 2006).

Idealmente para conseguir un buen ensilaje, el proceso de elaboración debería durar como máximo tres horas, minimizando así la exposición del forraje al aire y favoreciendo la presencia de BAL y una fermentación más homogénea. El grado de compactación debe ser adecuado y finalmente, es necesario un sellado lo más hermético posible que evite el ingreso de aire, que produce fermentaciones dañinas (Dumont 2006). Una inadecuada compactación y sellado, del ensilaje, favorecerán la pudrición y presencia de mohos en el forraje almacenado (Kaiser y Piltz 2004).

3.2.1.2 Evaluación de ensilajes

La evaluación de los procesos de ensilamiento y de la calidad del producto es parte esencial en un sistema de conservación de forrajes bien organizado. En primer lugar, los ensilajes pueden evaluarse de forma cualitativa a través del color, aroma y textura. La evaluación cuantitativa es más sofisticada y abarca indicadores como el pH, los ácidos producidos, los componentes nutricionales, la aceptabilidad aniaml y la digestibilidad de la MS (Chaverra y Bernal 2000; Kaiser y Piltz 2004).

Criterios como el color y el aroma permiten realizar una evaluación preliminar de la calidad del ensilaje en el campo. Aunque de forma empírica, los resultados basados en estos criterios proveen información útil en conjunto con los resultados de laboratorio (Chaverra y Bernal 2000). Pruebas de aceptación animal no ofrecen información adicional a la obtenida con el color y olor si el ensilaje muestra una evidente pobre fermentación. Además, tales pruebas no son recomendables bajo estas condiciones, ya que el ensilaje puede contener levaduras, bacterias y mohos que afecten negativamente al animal (Kaiser y Piltz 2004).

La calidad de un ensilaje involucra todos los aspectos que afectan su valor nutritivo, lo cual determina el potencial para promover la producción animal por tonelada de ensilaje. En este sentido pruebas de alimentación aportan información útil para su uso en la formulación de dietas, para asegurar que los ensilajes contengan la energía metabolizable (EM) y proteína en las proporciones requeridas para la producción animal. Si los ensilajes sufren pérdidas significativas de nutrientes durante la cosecha, marchitamiento y almacenaje, puede ocurrir una considerable reducción de la digestibilidad y contenido de EM y PB. Esto afectará el desempeño de los animales en producción si no se realiza una reformulación correspondiente de la dieta. Para uso en la alimentación de vacas lecheras el factor de mayor importancia es el aporte de EM que hace el ensilaje. Un incremento en su digestibilidad puede traducirse en una mayor producción de leche. Diferentes estudios han señalado incrementos entre 0.24-0.37 y 0.23-0.39 kg de leche/día por cada unidad porcentual de incremento en digestibilidad de la MS. Además, incrementos en la digestibilidad del ensilaje permiten una reducción en el uso de concentrados. Se ha estimado una reducción de 0.67 kg de concentrado por día por cada unidad incremental en la digestibilidad del ensilaje, así también se estima

que por cada aumento de 0.5 MJ (0.12 Mcal) de EM/kg MS del ensilaje se puede esperar 2.1 kg/día menos uso de concentrado (Kaiser y Piltz 2004).

El contenido de MS sirve para indicar lo adecuado del proceso de marchitamiento; esto es importante dado que los forrajes ensilados no deben tener menos de 30% de MS. Por lo contrario contenidos de MS mayores de 50-55% conllevan otras dificultades incluyendo el riesgo de sobrecalentamiento que puede reducir la disponibilidad de la proteína y causar pérdidas de energía. Para evaluar los daños por calor, se usa la medición del nitrógeno insoluble en detergente ácido (ADIN). En ensilajes adecuadamente fermentados el contenido de ADIN es de alrededor de 0.10-0.25% de la MS. Otro modo de expresar el ADIN es como % del nitrógeno total, significando < 12% poco o ningún daño, 12-15% daño moderado y > 15% daño alto (Kaiser y Piltz 2004; Seglar 2003).

El hecho que el ensilaje es un producto fermentado lo diferencia de otros alimentos para rumiantes, ya que la fermentación puede afectar negativamente la composición bromatológica, la palatabilidad y consumo voluntario, y la utilización del N por los animales. El nivel potencial de producción animal esperado con un ensilaje de alta EM, PB y digestibilidad, puede verse afectado si existe una pobre fermentación. Por lo tanto, es necesario evaluar la calidad fermentativa del ensilaje a través de indicadores como los productos formados y el pH (Kaiser y Piltz 2004).

El pH como un indicador de la fermentación, puede ser afectado por el contenido de MS y de carbohidratos solubles, y el tipo de fermentación (láctica, acética). De forma general, cuanto más bajo es el pH, mejor es la fermentación y más estable es el ensilaje. Para ensilajes con pH entre 3.8 y 4.2 la fermentación láctica es dominante, mientras que con un pH mayor a 4.4 hay fermentaciones secundarias (Chaverra y Bernal 2000). Sin embargo, el uso del pH como una guía evaluativa del ensilaje debería considerar el contenido de MS (Tabla 2). Para ensilajes bien conservados, un pH entre 3.5 y 4.2 puede ser óptimo cuando el contenido de MS es bajo (<35%). En ensilajes con MS superior a 35%, el pH por sí solo no es adecuado para ser usado como guía de la calidad de fermentación; siendo necesario en este caso evaluar el nivel de los ácidos involucrados en los procesos de fermentación (Kaiser y Piltz 2004; Seglar 2003).

Tabla 2. Uso de pH para evaluar la calidad fermentativa del ensilaje

MS del ensilaje	Alta probabilidad de mala fermentación a pH mayores	
%	Gramíneas	Leguminosas *
15	4.10	4.20
20	4.20	4.30
25	4.35	4.50
30	4.50	4.70
35	4.65	4.80

*Pastos tropicales con bajo nivel de azúcar pueden incluirse en esta categoría (Kaiser y Piltz 2004).

3.2.1.2.1 Productos de fermentación

Cuando el forraje es almacenado en condiciones anaeróbicas ocurre una fermentación en la que las bacterias convierten los carbohidratos solubles en ácidos orgánicos y otros compuestos. Los principales carbohidratos no estructurales en las partes vegetativas del forraje son glucosa, fructosa (10-30 g/kg MS), sacarosa (20-80 g/kg MS) y fructosano (Piltz y Kaiser 2004; Chaverra y Bernal 2000). La naturaleza de la fermentación que sufre el forraje en el silo se puede definir a través de la determinación de los productos formados, principalmente, ácidos grasos volátiles (AGV; acético, propiónico y butírico), AL, nitrógeno amoniacal y nitrógeno soluble como porcentaje del N total, azúcares residuales y alcoholes (Martínez et al. 1999).

Idealmente, en la fermentación los azúcares del forraje se convierten, principalmente, en AL en suficientes cantidades para reducir rápidamente el pH. El AL es el más fuerte de los ácidos del ensilaje y reduce más eficientemente el pH que los otros ácidos. Por lo tanto, el AL formado es fundamental para alcanzar las condiciones de acidez que permitan una estabilización del ensilaje e impidan actividad microbiana no deseada, que pudiese causar un deterioro del forraje. En un ensilaje ideal la concentración de AL es tres veces mayor que la de los AGV y ocurren mínimas pérdidas de MS. El AL presenta un olor suave y no se volatiliza al entrar en contacto con el aire (Martínez et al. 1999; Piltz y Kaiser 2004; Seglar 2003).

Los AGV, son producto de vías metabólicas distintas a las de la fermentación láctica y su efecto más importante es en la estabilidad aeróbica del ensilaje. Los AGV se evaporan rápidamente al entrar en contacto con el aire y esto hace que le den al ensilaje su olor característico. El AA proporciona al ensilaje el olor y sabor característicos de vinagre; el AP tiene un fuerte olor y sabor dulce pero, generalmente se presenta en el ensilaje a bajos niveles; y el AB produce un olor y sabor rancio, característico de huevos podridos y debe estar presente en cantidades casi nulas. Fermentaciones secundarias realizadas por bacterias coliformes trasforman el AL en AA. La presencia de AB y amoniaco es síntoma de degradación de la proteína como resultado de la actividad de *Clostridium* y otras especies adventicias cuyo crecimiento característico es en forma de roseta. Contaminación del forraje con estiércol y tierra puede ser la vía de entrada de estos microbios en el proceso de ensilado. Niveles mayores a 3% de AA sugieren un proceso heterofermentativo ineficiente. Niveles altos de AB producidos por fermentaciones secundarias se asocian a formas de N no palatables como aminas y amidas que pueden conducir a una significativa reducción en el consumo de MS. De entre los AGV, la ausencia de AB es lo que mejor define la calidad fermentativa del ensilaje (Martínez et al. 1999; Seglar 2003).

Las proporciones de N soluble y N amoniacal en el N total dan medida de la degradación de la proteína durante el proceso de fermentación. La degradación de la proteína del forraje, puede deberse a actividad enzimática proteolítica del cultivo o a fermentaciones secundarias por *Clostridium.* Un alto nivel de N amoniacal es adverso al consumo animal y a la eficiencia de utilización de la PB, debido a su rápida degradación en el rumen. El uso de amoníaco anhídrico y urea como aditivos en el ensilaje puede generar niveles altos de amoníaco. Los valores de NH_3-N generalmente son menores al 10 % en ensilajes de maíz con alta humedad del grano y menores a 15% en ensilajes de alfalfa y gramíneas. Los valores observados en ensilajes con una pobre fermentación pueden ser tan altos como 50% (Martínez et al. 1999; Kaiser y Piltz 2004; Seglar 2003).

La presencia de productos como el etanol, generan un olor a alcohol e indica la actividad de levaduras. Estas convierten los azúcares en alcohol y pueden también metabolizar el AL, lo cual eleva el pH generando ensilajes inestables. Durante la primera fase del proceso de fermentación las bacterias anaeróbicas heterofermentativas también

pueden producir etanol. En ensilajes de maíz con alta humedad es más frecuente la presencia de etanol pero, los valores son generalmente menores de 0.5% (Seglar 2003). Por otra parte, la ausencia de azúcares residuales es indicador de una correcta fermentación láctica (Martínez et al. 1999).

Se puede considerar que un ensilaje presenta una adecuada fermentación cuando reúne las siguientes características (Martínez et al. 1999; Kaiser y Piltz 2004; Seglar 2003; Chaverra y Bernal 2000):

- Contenido de AL superior al 3% de la MS.
- Contenido de AGV totales < 4% de la MS, incluyendo AA < 2-2.5 %, AP < 1% y AB < 0.1%.
- Nitrógeno amoniacal como porcentaje del N total < 5-10%.
- Nitrógeno soluble como porcentaje del N total < 50%.

3.2.1.2.2 Estabilidad aeróbica

Durante el almacenamiento si hay continuas entradas de aire al interior del ensilaje, principalmente por perforaciones del plástico de sellado, se facilita el crecimiento (aeróbico) de levaduras, hongos e incluso bacterias que ocasionan la pudrición del ensilaje. Una vez abierto el silo entra en juego otro criterio de estabilidad. El comportamiento del ensilaje al entrar en contacto con el aire se denomina estabilidad aeróbica (EA) y está determinada por una serie de factores, entre ellos el manejo del ensilaje durante su uso en la alimentación de los animales (p.ej. lo correcto del avance en el frente de la masa del ensilaje y las condiciones ambientales). El deterioro aeróbico genera calor, CO_2 y agua debido a la actividad de los microorganismos sobre los azúcares y ácidos orgánicos. El calentamiento del ensilaje implica pérdidas significativas de MS, disminución de la digestibilidad de la PB, reducción del consumo animal, formación de compuestos indeseables y un aumento en el pH que sirve como indicador de la inestabilidad alcanzada (Martínez y De la Roza 1999).

La estabilidad aeróbica se puede definir como el tiempo que el ensilaje, expuesto al aire, demora hasta alcanzar 2°C por encima de la temperatura ambiente (Kung et al. 2000; Andrade y Mohamad 2010). Dicho lapso varía desde unas pocas horas hasta varios días,

dependiendo, entre otros factores, de los microorganismos que permanecían en dormancia durante el almacenamiento anaeróbico (Chr. Hansen 2009).

Los ensilajes inestables elevan rápidamente su temperatura al ser expuestos al aire, generando pérdidas de MS de hasta 6% tras un día de exposición. Ensilajes con recuentos de levaduras mayores a 1 millón/g muestran alta deterioración. Bajo condiciones normales un ensilaje con 100000 gérmenes/g inicialmente puede alcanzar un recuento de 1 millón, en 4-5 horas, ya que las levaduras duplican su recuento en aproximadamente 2 horas (Andrade y Mohamad 2010). En ensilaje de maíz con alta calidad fermentativa (bajo pH y ausencia de AB) se ha observado fuertes cambios en los productos de fermentación y calidad microbiológica durante la exposición aeróbica. El AL y AA se degradaron resultando en un incremento del pH desde 3.9 al día 0 hasta 5.8 al día 8. El conteo de levaduras aumentó drásticamente en los primeros 4 días, causando un vivo calentamiento del ensilaje (29°C sobre la temperatura ambiente). Al probar la aceptación animal de los ensilajes se observó una significativa reducción del consumo de MS después de los 4 días de exposición aeróbica y una reducción promedio de 53% a los 8 días respecto al ensilaje fresco (Gerlach 2013).

Ensilajes que aun contienen altos niveles de carbohidratos fermentables, después del proceso de ensilamiento tienden a ser menos estables. Por otra parte, al comparar ensilajes con fermentación ácido láctica dominante contra ensilajes de altos niveles de AGV, los primeros tienden a ser más susceptibles al deterioro aeróbico. La densidad de la masa de ensilaje (porosidad) y el contenido de MS afectan la EA. Baja densidad debido a una inadecuada compactación permite un mayor ingreso de aire. Además, ensilajes marchitados tienden a ser menos estables debido al alto nivel de carbohidratos solubles residuales (Piltz y Kaiser 2004).

El proceso de deterioro aeróbico del ensilaje expuesto al aire resulta, inicialmente, de reacciones químicas de oxidación, seguido por la activación de las levaduras que se encontraban inhibidas durante la fase estable del ensilaje. Las levaduras degradan el AL y aumentan la temperatura, lo cual incrementa más la población de estos microorganismos en el ensilaje y el valor de pH. Bajo estas condiciones hay una proliferación de hongos y bacterias que finalmente generan un deterioro masivo, pérdida de nutrientes y de la palatabilidad, y formación de compuestos antinutricionales (micotoxinas) (Andrade y

Mohamad 2010). De acuerdo a Martínez y De la Roza (1999), la inestabilidad aeróbica se favorece por el ensilamiento de forrajes de alta madurez con bajo contenido de carbohidratos solubles, poca compactación del forraje y mal sellado del silo, mala distribución de los nutrientes en el silo y poca protección del ensilaje en el silo ya abierto.

3.2.1.3 Efecto del marchitamiento y uso de melaza como aditivo

Para lograr un nivel adecuado de productos de fermentación que permita alcanzar las metas de minimizar las pérdidas de nutrientes y obtener un ensilaje de alta calidad, puede ser necesario realizar un marchitamiento del forraje antes de ensilar o el uso de aditivos que generen una fermentación más eficiente (Chaverra y Bernal 2000). El marchitamiento o acondicionamiento consiste en una deshidratación parcial y uniforme del forraje antes de llenar el silo con compactación. Este proceso es necesario al ensilar, tanto gramíneas como leguminosas, con altos contenidos de humedad (tiernos o expuestos a lluvia) para lograr una fermentación exitosa. A través del marchitamiento se busca alcanzar un promedio de 70-75% de humedad en el caso de ensilaje y 50-55% en el henilaje (Chaverra y Bernal 2000). En evaluaciones realizadas con gramíneas y mezcla de gramíneas con trébol, se observaron pérdidas de MS mayores durante el almacenamiento de ensilajes no marchitados. Estas pérdidas de MS están asociadas a la alta generación de efluentes y períodos largos de fermentación. En cambio, las pérdidas en campo fueron mayores con los ensilajes marchitados. Períodos largos de marchitamiento, en especial bajo malas condiciones climáticas, pueden generar altas pérdidas no mecánicas de MS (Wilkins 1988). Por lo tanto, el marchitamiento debe ser rápido (3-5 hr después de la cosecha). Esto minimiza las pérdidas de digestibilidad y contenido de carbohidratos solubles, por efecto de la respiración y ataque microbiano. Si se excede el marchitamiento correcto (humedad <65%) es conveniente reponer parte del agua o de preferencia una solución de melaza (Reyes et al. 2009). Idealmente el proceso de marchitamiento no debería tomar más de 48 horas. Las pérdidas por respiración son típicamente de 2-8% de la MS pero pueden llegar hasta un 16% bajo malas condiciones de secado. Períodos de marchitamiento de más del doble del tiempo recomendado y con presencia de lluvia han resultado en pérdidas de MS de hasta 25% (Mickan y Piltz 2004). Para acelerar el proceso de deshidratación del forraje y maximizar sus

beneficios, éste debe colocarse en capas delgadas, evitando formar hileras gruesas que ocasionen un secado poco uniforme (Dumont 2006).

El proceso de marchitamiento de forrajes con bajo contenido de carbohidratos solubles y alta capacidad amortiguadora beneficia el proceso de ensilado, ya que genera una disminución de los ácidos orgánicos y una reducción en la capacidad tampón del forraje. Esto facilita la acidificación. Aunque, altos contenidos de MS generan niveles de pH más elevados, bajo estas condiciones la EA del ensilaje aumenta (Alaniz 2008). El marchitamiento a campo puede incrementar el contenido de carbohidratos solubles en agua (WSC) permitiendo alcanzar el valor crítico de 3% (en base fresca). Para una buena fermentación ensiladora, cultivos con 15% de MS necesitan, en base seca, aproximadamente 20% de WSC, mientras que con 25% de MS sólo es necesario exceder el 12% (Wilkins 1988). Marchitamientos de 12-24 horas en el campo, han mejorado la fermentación del ensilaje y el consumo y producción de leche al comparar con ensilajes no marchitados (Dumont 2006). Al comparar ensilajes sin marchitar con alto contenido de NH_3-N y AA contra ensilajes del mismo forraje pero marchitados, se ha notado un gran incremento en consumo con el marchitamiento (Mickan y Piltz 2004).

Los aditivos son usados sobre todo con forrajes que presentan problemas de ensilado (bajo contenido de MS y WSC) para mejorar la calidad de fermentación, reducir pérdidas y mejorar el valor nutritivo del ensilaje. Los aditivos que estimulan la fermentación láctica mejoran la preservación del ensilaje mediante su aportación de azúcares fermentables para uso de las BAL. La adición de una fuente de azúcares puede mejorar la fermentación del ensilaje cuando el contenido de WSC es menor a 2.5% en el forraje fresco de diversos tipos. Dichas adiciones incrementan la producción de AL y disminuyen el contenido de NH_3-N y valor del pH. De esta manera se reduce el riesgo de fermentaciones no deseadas y altas pérdidas de MS durante el almacenamiento (Kaiser 2004). Inclusiones de melaza y urea en ensilaje de caña de azúcar logró un incremento en el contenido de MS (Lara 1977). La cantidad de los aditivos ricos en WSC que conviene agregarse depende del contenido de azúcares en el forraje ensilado. Al ensilar la mayoría de gramíneas se agrega de 25 a 50 kg de melaza por tonelada de forraje fresco. Para gramíneas poco maduras cantidades menores son adecuadas. En el caso de leguminosas se ha fijado el nivel mínimo en 50 kg/tn de forraje

fresco, pudiendo llegar en algunos casos hasta 100 kg/tn (Reyes et al. 2009). La cantidad de melaza requerida puede ser estimada considerando la concentración de WSC de la melaza y del forraje. Con 20 kg de melaza por tonelada de forraje fresco se logra un incremento del contenido de WSC en el forraje fresco de aproximadamente una unidad porcentual (Wilkins 1988).

La adición de fuentes de azúcares a forrajes que ya tienen adecuado nivel de CSW puede resultar en ensilajes menos estables, de más corta vida útil en el comedero (Chr. Hansen 2009). Inclusiones de melaza en ensilaje de caña de azúcar han tenido efectos negativos sobre la producción de AL (Lara 1977). En la práctica conviene mejor incrementar la MS a valores superiores de 30% que recurrir al uso de aditivos para conseguir una fermentación deseable (Flores 2004).

3.2.1.4 Ensilaje de maíz y sorgo

El maíz (Zea mays) y los sorgos (Sorghum spp.) son especies anuales ampliamente utilizadas en la elaboración de ensilajes debido a su alto RMS, valor nutricional y a características que los hacen fácilmente fermentables (alto contenido de carbohidratos no estructurales, baja capacidad tampón y contenidos de MS normalmente superiores al 30%) (Romero 2004). En muchos países, incluyendo los de zona templada, el ensilaje de maíz es el de mayor importancia debido a un valor nutricional superior al de otras gramíneas, con rendimientos de 35-50 ton/manzana para períodos de 4 a 6 meses, dependiendo de las variedades y altitud a la que se produce. El momento adecuado para la cosecha de maíz o sorgo para ensilaje se presenta cuando los granos están en estado pastoso, ya que en este momento las plantas han alcanzado la máxima producción de biomasa, contienen un adecuado % MS y un alto valor nutricional. En cambio, a nivel de Centro América los productores de leche están más familiarizados con sorgo forrajero o de grano (*Sorghum bicolor*), ya sea para corte o ensilaje. El sorgo se caracteriza por ser un cultivo resistente a la sequía del cual se pueden obtener múltiples cortes, alcanzado rendimientos anuales de 45-60 ton/manzana (Reyes et al. 2009).

El cultivo de maíz proporciona una fuente consistente de forraje, para la alimentación de rumiantes, de alta digestibilidad y excelente palatabilidad. Además, el ensilaje de maíz

produce más energía digerible por unidad de área que cualquier otro cultivo, sirviendo como una fuente de alta energía en la producción de ganado lechero y se adapta para raciones de bajo costo para ganado de carne. De acuerdo a las densidades de siembra se pueden obtener producciones de 58.5-60.0 ton/ha (65% humedad), digestibilidad entre 64.6-67.7%, FDN de 46.2-50.1% y producción de leche/ha estimada de 30696-39265 kg. Al estado de madurez de grano en ¾ de línea de leche (63%humedad) la digestibilidad puede ser 79.6%, el FDN de 47.3%, y la PB de 8.9%. Luego de pasar por el proceso de fermentación el ensilaje presenta valores típicos de 33% de MS, 8.8 % de PB, 28.9% de FDA y 49.0 % de FDN, 68% de NDT y 35.1% de carbohidratos no estructurales (CNE). En forma general, los valores de pH en el ensilaje de maíz varían de 3.5-4, los niveles de AL entre 4-6%, el AA < 2%, el AP de 0-1% y el AB en menos de 0.1%. Además, los niveles de NH_3-N son menores al 5% (Roth y Heinrichs 2001).

Se distingue entre sorgos para grano (S. bicolor) y para forraje (S. sudanense). En países como España representa un 0.5% de la superficie forrajera y es una alternativa al maíz. El sorgo se aprovecha en un 60% mediante su ensilaje y el 40% como forraje verde. De forma general, en comparación con el maíz, el sorgo promueve una menor productividad pecuaria, por ser menos energético y de valor proteico similarmente bajo, pero con mayor contenido de calcio (0.59%) y fósforo (0.61%). El sorgo contiene substancias antinutricionales como taninos y durrina (glucósido cianogénico), pero existen variedades con bajo contenido en taninos y cuando la planta ya ha formado el grano y se aprovecha en forma de ensilaje, hay poco riesgo de niveles de durrina de importancia. Aunque con una capacidad tampón más alta que el maíz, el sorgo presenta una buena aptitud para ensilar, alcanzando de manera rápida valores de pH de 3.86-3.95 y proporciones de nitrógeno amoniacal y nitrógeno soluble en el N total inferiores a 10% y 50%, respectivamente. El ensilado de sorgo presenta un valor energético de 75-80% del que tiene un buen ensilado de maíz y su mayor contenido de fibra explica que su digestibilidad relativa sea más baja (80-85%). Típicamente presenta valores nutricionales de 20-35% de MS, 9.34-11.26 % de PB, 3.30-3.53 % de EE, 55.43-60.28 y 33.06-36.84% de FDN y FDA, y 2.19-2.21 Mcal EM/kg MS (Calsamiglia et al. 2004b).

3.2.1.5 Ensilaje de leguminosas

La incorporación de leguminosas ensiladas se presenta como una alternativa para mejorar el contenido de proteína de las raciones. Sin embargo, ensilar leguminosas solas presenta mayor dificultad que ensilar gramíneas o cultivos como el maíz o sorgo. Esto debido a que las leguminosas generalmente contienen más humedad, menor cantidad de CNE (10-12 % en primavera vs. 4-6 % en otoño), baja relación azúcares solubles/proteína, y una alta capacidad tampón que afecta la actividad el proceso fermentativo (Reyes et al. 2009; Romero 2004; Clemente 2008).

El contenido de carbohidratos fermentables afecta de forma inversa la relación NH_3-N de los ensilajes. Por lo tanto, las leguminosas forrajeras y las gramíneas poco maduras, al contener bajos niveles de azúcares y altos de proteína, producen al ensilarse, una cantidad insuficiente de AL para evitar el desarrollo de fermentaciones secundarias que transforman el AL y degradan proteínas y aminoácidos aumentando el nivel de NH_3-N. En las gramíneas, el nivel de azúcares aumenta con el avance de la madurez, pero esto no se observa con las leguminosas. El muchos países la henificación es lo más común en la conservación de leguminosa como la alfalfa, pero cuando las condiciones ambientales son desfavorables (lluvia) una mejor opción es el ensilaje. Además, bajo un manejo adecuado las pérdidas nutricionales son menores en el ensilaje que en el heno. Al comparar la calidad de alfalfa conservada como ensilaje y heno los respectivos valores típicos son 2.14 y 1.97 Mcal EM/kg MS, y 59.5 y 54,8% DIVMS. Las prácticas más comunes para mejorar las características fermentativas de las leguminosas incluyen el marchitado, el agregado de ácido fórmico o propiónico y la inclusión de fuentes de azúcares, inoculantes, y enzimas (cultivos de bacterias lácticas + enzimas) (Romero 2004). Evaluaciones de un aditivo (lactosuero: 93.5 % MS, 72 % lactosa, 13.5 % PB y 8 % cenizas) a una dosis de 20 kg/ton de materia fresca contra un testigo revelaron que el tratamiento resultó en un contenido de MS adecuado para la confección de ensilajes de leguminosas, con diferencias significativas. Los valores nutricionales (FDA, digestibilidad de MS y EM), pH, NH_3-N y ADIN fueron significativamente mejores con el lactosuero. La utilización de aditivos no debe reemplazar a las normas de manejo, tales como contenido de MS al momento de la confección o grado de compactación del ensilaje. Con contenidos adecuados de MS (35-40 %) y una buena

compactación (>240 Kg MS/m3), y sólo un inoculante enzimático-bacteriano se puede lograr ensilajes de leguminosas de calidad aceptable en épocas desfavorables. La inclusión de azúcares solubles como sustrato para las BAL, mejora el proceso fermentativo permitiendo obtener ensilajes de leguminosas de muy buena calidad (Clemente 2008).

Experiencias en Costa Rica y Nicaragua han mostrado buenos resultados al ensilar hojas y tallos tiernos de *Cratylia argentea,* siempre que no tenga más de 70 % de humedad y se adicione 5% de melaza. Un ensilaje de este tipo contiene de 20-25% PB y puede usarse como suplemento. La suplementación con ensilaje de *Cratylia* en sustitución de un suplemento comercial, dentro de una dieta basada en rastrojo de arroz, caña de azúcar y pastoreo, produjo un incremento en la producción de leche bovina de 4.27 a 5.51 kg/día; y si se sustituye la paja de arroz y duplica el suministro de ensilaje de *Cratylia* la producción incrementa a 6.30 kg/día (Reyes et al. 2009).

3.2.1.6 Ensilaje de asociaciones gramínea-leguminosa

El ensilaje de asociaciones de gramínea-leguminosa representa una alternativa para mejorar el valor nutricional y la calidad fermentativa sobre lo obtenido con los forrajes ensilados de forma individual. Al ensilar las leguminosas en mezclas con gramíneas de corte se reduce el riesgo de pérdidas debidas al alto contenido proteico y bajo nivel de azúcares de las leguminosas. Además, esta mezcla enriquece el contenido proteico de los ensilajes de gramíneas. La leguminosa representa típicamente entre un 25-30% de la mezcla y el restante (70-75%) está constituido por la gramínea. Para asegurar una fermentación exitosa a esta mezcla se le puede adicionar de un 2-5% de melaza. Para ensilar una mezcla de gramínea con leguminosa arbustiva, el follaje de la leguminosa ha de tener de 3 a 4 meses de edad (rebrote), pues a esa madurez combina una producción aceptable con alta calidad del forraje (Reyes et al. 2009).

El ensilaje de maíz aporta un importa volumen y calidad en las dietas de rumiantes, sin embargo presenta como limitante un bajo contenido proteico. Esto afecta principalmente la nutrición de animales en crecimiento y vacas lecheras de alta producción. La producción combinada de maíz y soya para la producción de ensilaje puede mantener el alto volumen a la vez que resuelve la limitante del contenido de PB del ensilaje de maíz solo. Este presenta

un contenido de PB de 7-8% mientras el del ensilaje maíz+soya es de 11-12%. Considerando que el RMS de la soya es de aproximadamente un 50% respecto al maíz, con una siembra de áreas iguales por cultivo se obtendría una mezcla aproximada de 75% de maíz y 25% de soya. De esta forma se evitaría sobrepasar el límite de 35% de soya en estado R6 dentro de una dieta que aportaría un exceso de aceite. El límite de 35% se basa en que la soya en R6 contiene un 10% de aceite y a razón de 35% soya en el ensilaje de mezcla, la leguminosa aportaría un máximo de 3.5 % de aceite. Por encima de este límite los rumiantes pueden empezar a tener problemas de digestión ruminal de la fibra. Son comunes los RMS de 14495 y 7636 kg/ha para maíz y soya en monocultivo, respectivamente. La producción combinada de los cultivos presenta un mayor porcentaje de MS y un RMS de 12945 kg/ha (Abdelhadi 2005).

En evaluaciones de ensilaje de maíz en mezcla con *Mucuna pruriens*, *Lablab purpureus* y *Phaseolus coccineus*, se ha observado un incremento promedio de 12.6 unidades porcentuales en PB, pero también la concentración de FDN aumento en 8.8 unidades. Entre los indicadores de fermentación, el pH subió por 0.06 unidades y la concentración de AL por 6.2 unidades porcentuales en la mezcla comparada con el monocultivo. El valor nutritivo de la mezcla maíz-leguminosa es adecuado para formar parte de raciones en vacas lecheras (Contreras-Govea et al. 2009).

El ensilaje de maíz cultivado en asocio con *Vigna radiata* presenta valores altos de humedad que pueden generar pérdidas significativas del valor nutricional por la producción de efluentes. Sin embargo, si se emplea como forraje fresco presenta un contenido nutricional similar o superior al de los principales forrajes utilizados en la producción de rumiantes. Esta asociación con la inclusión de 2% de melaza y sin inóculo bacterial muestra valores bajos de FDN y FDA lo cual se refleja en valores altos de DIVMS, y también altos porcentajes de PB; además, valores (Mcal/kg MS) de 2.8 ED, 2.3 EM, 1.4 ENm, 0.8 ENg, 1.4 ENl y 63.9% NDT. El aporte energético es similar al de muchos forrajes de clima templado. La fermentación presenta valores bajos de NH3-N y pH inferior a 4.2 (Castillo et al. 2009). La inclusión de otras leguminosas (lablab o crotalaria) en el ensilaje de maíz aumentó la PB, la FDA, el pH y el NH3-N relativo a ensilaje de maíz en monocultivo. Los resultados confirman la tendencia de las leguminosas anuales asociadas con maíz a aportar proteína, aumentar el RMS y no afectar significativamente las características fermentativas. Además, se ha

observado que dichas asociaciones son útiles para reducir la incidencia de malezas (Zavala et al. 2011).

3.2.2 Henilaje

El henilaje es un producto intermedio entre el heno y el ensilaje, el cual se obtiene al enfardar forraje premarchitado que contiene alrededor de 50% de MS (Vélez y Berger 2011). Con esto se evitan pérdidas por escurrimiento y se reduce la degradación de la proteína. El forraje es empacado a una densidad de 180-200 kg/m^3 y luego envuelto en 4 a 6 capas de plástico elástico de 20-30µ de grosor resistente a los rayos UV. Las pérdidas de MS durante el marchitamiento pueden ser de 0.1-0.3% con períodos < 24 h y de hasta 13% de 24-72 h. Con períodos mayores a 72 horas hay riesgo de crecimiento de hongos. Este método de conservación permite trabajar con leguminosas o gramíneas que tienden a perder mucha hoja en el proceso de henificación durante el secado y embalado. Su elaboración consiste en segar y acondicionar el forraje, voltearlo cada 2 a 3 horas, embalarlo cuando el contenido de MS es superior a 49%, recolectar y apilar los fardos (Vélez et al. 2006).

3.2.3 Heno

La henificación consiste en la conservación del forraje por medio de un secado rápido que reduce las pérdidas de nutrientes por respiración y la proliferación de bacterias y hongos presentes en el material húmedo. El forraje en el momento de la cosecha debe tener una edad similar como si se usara en pastoreo. La cosecha a edades avanzadas para obtener mayor RMS resulta en henos de pobre calidad. Para la henificación se prefiere gramíneas que contengan abundantes hojas y tallos finos como *Digitaria eriantha* para facilitar su secado. En leguminosas y gramíneas con tallos gruesos, las hojas secan más rápido que los tallos por lo que al momento de la recolección aquellas se quiebran generando pérdidas (Vélez et al. 2006). El desecado debe reducir el contenido de humedad del forraje desde un 75-80% inicial a niveles menores a 20%, preferiblemente entre 15-17% (Castro 2001).

Para la elaboración del heno se debe buscar una época que asegure de 2-3 días consecutivos soleados. El forraje cortado en la mañana debe ser esparcido uniformemente, volteado al medio día y amontonado por la tarde para no dejar la superficie expuesta al rocío.

Con un buen sol el forraje puede ser recogido en 24-36 horas y luego seguir perdiendo al menos 5 unidades porcentuales de humedad diariamente durante los primeros días de almacenamiento. La densidad del heno en fardos puede ser de 80-170 kg/m^3 y de 50-80 kg/m^3 cuando se almacena suelto. Cuando los forrajes carecen de suficiente fibra para mantener una actividad normal del rumen, la dieta propende a causar un bajo contenido de grasa en la leche y heces muy líquidas. El uso de heno suplementario permite aliviar estos inconvenientes (Vélez et al. 2006). El heno de un determinado forraje normalmente es de menor calidad que el correspondiente ensilaje por ser cosechado cuando la pradera está espigada, con peor composición nutritiva, especialmente cuando las condiciones climáticas no permite la cosecha en un estado más temprano. Por ello no se recomienda el heno como ración base en la alimentación de vacas lecheras, sino su uso más como parte de una suplementación (Dumont 2006).

3.3 Efecto de la madurez sobre el valor nutritivo de los forrajes

La reducción de la calidad del forraje a medida que la planta madura es un fenómeno común en todas las gramíneas forrajeras. Dicho cambio incluye una reducción de los carbohidratos solubles presentes en el contenido celular y un incremento de los estructurales y de la lignina en la pared celular que afecta la degradabilidad de la misma. (Romero 2008; Vélez y Berger 2011).

La reducción de la calidad nutritiva debido al proceso de maduración tisular es mayor en gramíneas tropicales que en las de zonas templadas, en los tallos que en las hojas y en las gramíneas que en las leguminosas. La digestibilidad de una hoja joven se reduce en al menos 20 unidades porcentuales al pasar al estado de senescencia, y también se reduce el consumo animal (Romero 2008; Agnusdei 2007). En mediciones realizadas en *Brachiarias* la digestibilidad *in situ* disminuyó al aumentar la edad hasta presentar el mayor concentración de MS y fibra bruta (32.45%), y menor de proteína (7.49%) en cortes a 112 días (Avellaneda et al. 2008). La DIVMS y PB de las hojas de gramíneas tropicales sufren tasas promedio de reducción semanal de 1.2 y 0.8 unidades porcentuales, respectivamente. Para leguminosas las tasas de reducción correspondientes son 1 y 0.5 unidades (Abaunza et al. 1991). Investigaciones con *Leucaena leucocephala* han revelado disminuciones de la DIVMO y PB

a los 84 y 126 días de edad, pero luego valores constantes hasta los 168 días (Sánchez y Faria 2008). El momento de corte es el factor que más incide en la calidad nutritiva final del ensilaje de esta forrajera arbustiva. También en otras leguminosas como la alfalfa se aprecia una reducción del valor nutricional al comparar ensilajes elaborados es estado de botón floral con los de 100% de floración. Los respectivos valores registrados para estos dos estados de maduración fueron de 2.36 y 2.12 Mcal EM kg MS, 65.6 y 59.1% DIVMS, 22.2 y 20.0% PB, 41.8 y 49.7% FDN y 31.3 y 38.3% FDA (Romero 2004).

A medida que la planta envejece se producen también cambios morfológicos como la disminución en la proporción de hojas:tallos (H:T) y la densidad de individuos (macollos en gramíneas y ejes o plantas de leguminosas) (Agnusdei 2007). La H:T tiende a disminuir con la madurez (Romero 2008). Evaluaciones realizadas en varias *Brachiarias* (*decumbens*, *brizantha* y mulato) muestran valores de relación H:T por peso de 1.82, 1.34, 0.70 y 0.64 a 28, 56, 84 y 112 días, respectivamente (Avellaneda et al. 2008).

En estudios realizados en *Pennisetum purpureum* cv. King grass la mejor calidad del forraje se obtuvo en la cosecha a 60 días (13.03% MS, 9.56% PB, 73.78% FDN, 46.53% FDA, 12.15% lignina y 1.34 H:T), mientras que a los 90 días de edad se vio correspondientes valores empeorados de 14.43, 8.42, 76.91, 51.83 y 13.59 %, y 1.31 (Chacón y Vargas 2009). En evaluaciones con caprinos, los porcentajes de consumo del total ofrecido y consumo de MS observados a los 60, 75 y 90 días fueron de 71.1, 65.1 y 59.2%, y 255.0, 251.3 y 246.5 g/día (Chacón y Vargas 2010).

3.4 Soya (*Glycine max* L. Merr.)

La soya es de origen asiático (China) y se dio los primeros pasos hacia su domesticación durante la Dinastía Chou (del siglo XI al VII a.C.). Sin embargo, se presume que la domesticación definitiva se dio durante la Dinastía Shang (1700-1100 a.C.). Luego su uso se expandió a otros países de Asia, Europa y finalmente al continente americano. El género *Glycine* se clasifica en la familia de las leguminosas, subfamilia Papilionoideae y tribu Phaseoleae. Hay evidencias de que *Glycine soja* es el ancestro de la actual especie *Glycine max.* La soya (*Glycine max* L. Merril) es una planta anual, herbácea, normalmente pubescente, con altura de 25-180 cm, poco o muy ramificada dependiendo de la variedad y

condiciones ambientales. El número de brotes axilares depende de la variedad y densidad de plantas. Se presentan dos tipos de crecimiento: el tipo determinado, en el cual el brote terminal forma una inflorescencia que luego da origen a un racimo de vainas; y el tipo indeterminado donde el tallo no termina en inflorescencia. Las plantas determinadas han completado el 80% de su desarrollo cuando florecen y las indeterminadas 60%. En Brasil se sembró en el 2004 aproximadamente 2.1 millones de hectáreas. Esta expansión de cultivo fue generada principalmente por subsidios gubernamentales, desarrollo de infraestructura de procesamiento y comercialización, y un mercado mundial favorable para la comercialización de semilla, aceite y harina de soya (Valencia 2006).

La soya representa la principal fuente de proteína vegetal y es un componente importante de los piensos utilizados en la alimentación animal mundialmente (Tobía et al. 2006). Este cultivo presenta altos contenidos de proteína y lípidos, así como elevadas concentraciones de lisina, la cual es limitante en la proteína de otros cultivos como maíz, trigo y arroz. Estas características permiten obtener un alimento de mejor valor nutricional al combinar la soya con un cereal (Torres-Torres y Tovar-Palacio 2009).

3.4.1 Estados fenológicos de la soya

La fenología se define como la expresión visible del desarrollo de una planta o cultivo. Una escala común de fenología permite un entendimiento global al definir momentos del ciclo de un cultivo en relación a medidas de nutrición, protección, o al estudiar efectos del ambiente sobre el crecimiento y rendimiento (Santos 2010). El desarrollo de la planta de soya está dividido en dos períodos: la etapa vegetativa y la reproductiva. La descripción de las etapas puede aplicarse a todos los genotipos en sus diferentes ambientes y puede usarse en plantas individuales o a nivel de todo un cultivo (Fehr et al. 1971). El período vegetativo comprende desde la emergencia de los cotiledones hasta antes del inicio de la floración; y el reproductivo desde el inicio de la floración hasta la madurez del grano. Dentro de cada período se identifican varias etapas tomando como referencia el crecimiento de las hojas, nudos, flores y vainas. La duración de cada etapa es variable de acuerdo al genotipo y las condiciones ambientales (Valencia 2006).

La escala desarrollado por Fehr et al. (1971) es la más usada para la descripción de los estados fenológicos del cultivo de soya y define las siguientes etapas:

Etapa vegetativa

VE: emergencia de la plántula, los cotiledones están por encima de la superficie del suelo.

VC: el hipocótilo se endereza y los cotiledones están totalmente desarrollados y en el nudo inmediatamente superior los bordes de las hojas unifoliadas no están en contacto.

V1: (1^{er} nudo) el par de hojas opuestas unifoliadas están totalmente desarrolladas y en el nudo inmediato superior se observa la primera hoja trifoliada.

V2: (2^{do} nudo) la primera hoja trifoliada está totalmente desarrollada y en el nudo inmediato superior los bordes de los foliolos de la segunda hoja trifoliada no están en contacto.

V3: (3^{er} nudo) la segunda hoja trifoliada está completamente expandida y en la tercera hoja trifoliada el borde de sus foliolos no está en contacto.

Vn: (n número de nudos) la hoja trifoliada del nudo (n) está completamente expandida y en el nudo inmediato superior el borde de los foliolos no se tocan.

Etapa reproductiva

R1: inicio de floración, se presenta una flor abierta en cualquier nudo en el tallo principal.

R2: floración completa, una flor abierta en uno de los dos nudos superiores en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas.

R3: inicio de formación de vainas, una vaina de 5 mm de largo en uno de los cuatro nudos superiores en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas.

R4: vainas completamente desarrolladas, una vaina de 2 cm de largo en uno de los cuatro nudos superiores en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas.

R5: inicio de formación de semillas, semillas de 3 mm de largo en una vaina de uno de los cuatro nudos superiores en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas.

R6: semilla completamente desarrollada, una vaina contiene semillas verdes que llenan su cavidad interior en uno de los cuatro nudos superiores en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas. A partir de R6 comienza la senescencia de la planta.

R7: inicio de madurez, una vaina normal en el tallo principal ha alcanzado su color maduro. Semilla con 60% de humedad.

R8: madurez completa, 95% de las vainas han llegado a su color de maduro. Luego de R8 se necesitan de 5-10 días secos para que los granos alcancen una humedad menor a 15%.

3.4.2 Uso de soya como forraje

En la última década del siglo XIX, colecciones de semilla de soya reunidas por botánicos en la China y Manchuria, fueron distribuidas a los jardines botánicos y estaciones agrícolas del oeste de Europa y Estado Unidos. Dada las características trepadoras de la mayor parte del material disponible, la soya fue considerada principalmente como una forrajera. En 1938 se alcanzaron siembras de 4 millones de hectáreas de las cuales gran parte se dedicó a ensilaje, heno y pastoreo. En 1941 por primera vez el cultivo de la soya para semilla superó al de forraje, principalmente por cuestiones económicas. En la actualidad el uso de soya como forraje es virtualmente desconocido en el trópico americano (Tobía et al. 2006; Valencia 2006; Wright 2013). Sin embargo, con el fin de reducir costos de producción animal, especialmente la lechera, investigaciones con miras a producir forraje de alta calidad nutricional han logrado excelentes resultados con el cultivo de soya. En el trópico el uso de la alfalfa en la producción bovina se ve limitado por la pobre adaptación que este cultivo tiene en los sistemas productivos de esta región. El forraje y ensilaje de soya representan una alternativa a la alfalfa ya que presenta similar RMS y calidad nutricional, e inclusive muestra una ventaja energética por su mayor contenido de lípidos. Actualmente, debido a los precios bajos de la soya para producción de aceite, el forraje de soya está experimentando un resurgimiento ya que se muestra económicamente viable de acuerdo a su valor relativo y adaptación en los sistemas de alimentación de rumiantes. Dada la necesidad de los productores ganaderos de un forraje de alto valor proteico, la soya se presenta como una alternativa para lograr este propósito (Tobía et al. 2006; Blount et al. 2009).

El forraje de soya puede ser pastoreado o cosechado desde la floración hasta una etapa cercana a la madurez para la producción de heno de alta calidad. La soya también puede servir de cultivo para ensilar ya sea puro o en mezcla con maíz o sorgo (Blount et al. 2009). Hay que señalar que para obtener buena calidad fermentativa y características organolépticas del ensilaje de soya, es necesario adicionar una fuente de carbohidratos solubles como melaza (Tobía et al. 2006).

La producción de biomasa de soya es relativamente estable a densidades de siembra de 150-300 mil plantas/ha. Sin embargo, para la producción de forraje se recomienda una alta densidad que reduzca la proporción y grosor de tallos cuyos niveles de energía, proteína y digestibilidad son más bajos (Tobía et al. 2006), y dificultan el acondicionamiento del forraje (Blount et al. 2009).

Se recomienda cosechar la soya para forraje en el estado fenológico R6, etapa donde hay un máximo aprovechamiento del nitrógeno (proteína) y la MS acumulada. En Costa Rica y Venezuela se han registrado producciones de 5 a 13 ton/ha, con una composición bromatológica de 26.7% MS, 20.2% PB, 6.7% de grasa bruta, 5.5% de ceniza, 42.2% FDN y 70% NDT (Tobía et al. 2006). Un predio sembrado con soya bajo manejo intensivo puede ser pastoreado dos o tres veces dependiendo del clima (Wright 2013).

Evaluaciones realizadas en Puerto Rico han revelado un efecto significativo en la producción de acuerdo al estado fenológico de cosecha, obteniendo RMS promedio de 5436 kg/ha en R2 y 6486 kg/ha en R5.4 (75% del llenado del grano). Los valores correspondientes de PB fueron de 29.6-33.6% para R2 y disminuyeron en 6 unidades porcentuales para R5.4. En R2 se registraron valores de 33.3-34.6% FDN incrementando a 38.1-44.8% en R5.4, y para FDA análogo aumento desde valores entre 21.0 y 25.6% a niveles entre 26.2 y 33.2% (Aponte 2011).

3.4.3 Ensilaje de soya

Una limitante en la producción de rumiantes es la falta de una especie forrajera para ser conservada que aporte volumen y proteína suficiente para uso en las épocas de escasez de forraje. Generalmente se usa cultivos de maíz o sorgo que aportan volumen y alta calidad

con excepción de su bajo contenido proteico (Romero y Aronna 2003). La soya forrajera puede servir a este propósito al dar producciones superiores a 5000 kg/ha y buena calidad nutricional. Cabe señalar que su conservación como ensilaje puede ser más dificultosa considerando el bajo contenido de azúcares y alto de proteína (Romero 2004). Al igual que lo señalado para soya pastoreada, se recomienda la cosecha para la elaboración de heno o ensilaje a partir de la floración completa (R2) hasta cerca de la madurez (R7) (Wright 2013), lo cual permite múltiples opiniones. El ensilaje de soya cosechado en R3 (inicio de formación de vaina) constituye un excelente suplemento proteico que puede reemplazar una parte de los concentrados proteicos tradicionales. En cambio, la cosecha en R6 constituye un recurso más versátil, ya que siendo rico en fibra, aceite y proteína se presta para utilización de forma estratégica durante todo el año (Gallardo 2015). Cortes de la soya en los estados más avanzados implican una menor humedad que puede beneficiar los procesos de henificación y fermentación; también permite obtener el mayor RMS del cultivo, pero con sacrificio de la calidad (Romero y Aronna 2003). La soya como monocultivo para ensilar tiene niveles proteicos muy interesantes dependiendo del estado de madurez (25% en R2 a 15% en R6). El rendimiento en R6 puede casi duplicar el de R2; y en R6 la planta presenta aproximadamente un 10 % de extracto etéreo principalmente aportado por la semilla, lo cual representa un aporte energético en forma de lípidos (Abdelhadi 2005).

Para la elaboración de ensilaje de soya se sugiere el uso de cultivares de ciclo largo que permiten obtener mayores volúmenes de forraje, cosechar en los estados de R3-R5, hacer una marchitamiento que favorezca la fermentación, usar inoculantes biológicos y aprovechar mezclas con gramíneas. Los ensilajes de mezcla soya-gramínea representan una alternativa para mejorar la conservación de soya, ya que la gramínea aportaría carbohidratos solubles necesarios para tener una buena fermentación y la soya mejoraría la calidad de la gramínea aportándole proteína y reduciendo el contenido de fibra. La experiencia ha señalado que 60% soya y 40% sorgo constituye una buena proporción (Romero y Aronna 2003). Ensilajes de soya pura elaborados en R4 y sin marchitamiento tienden a ser problemáticos en el proceso de fermentación reflejado por un alto valor de NH_3-N (35.4%) y poca acidez (pH 5.1) (Romero 2004).

La evaluación hecha con productores de Wisconsin durante el 2005 sugiere que la soya para ensilar debería ser cosechada en el estado R3. Es posible la cosecha hasta estados tan tardíos como R7, en que la calidad puede aún ser similar a la de la alfalfa, sin embargo, los altos contenidos de aceite simultáneos podrían causar fermentaciones erráticas y reducir la palatabilidad y el consumo. El forraje de soya en estados R3 y R4 puede tener cerca de un 80% de humedad, haciendo necesario un marchitamiento hasta llegar a un 65% para ensilar. Cuando se ensilan mezclas de forraje, por lo general, uno de los cultivos no se halla en estado óptimo de cosecha, lo cual repercute sobre la calidad y el rendimiento del ensilaje (Undersander et al 2007).

Blount et al. (2009), señalan que el mejor momento para cosechar la soya para ensilar es cerca de la madurez antes de cualquier pérdida de hojas. Para que el ensilaje de soya produzca una adecuada fermentación una fuente de carbohidratos solubles, como granos de maíz molido o melaza, debe ser agregada, presumiendo que se requiere un mínimo de 10% de la MS en forma de carbohidratos. Una mejor opción a soya sola con adición de melaza puede ser la mezcla de forraje de soya con maíz o pasto estrella acondicionado con melaza. Esto mejorará el consumo y reducirá el costo por unidad de forraje de soya ensilado. Una evaluación de ensilaje de soya con 8% de melaza encontró valores de 27.5% MS, 19.7% PB, 36.1% FDN, 0.86% Ca, 0.20% P y 70% NDT (Tobía et al. 2006).

Otros estudios realizados con soya (Glycine max L. Merr. var. 'CIGRAS-06') indican RMS promedio de 4.8 ton/ha en etapa de R6 en condiciones de alta precipitación, alta temperatura y pH ácido del suelo. La composición química de la planta completa mostró un 20.2% PB, 6.7% EE, 5.5% cenizas, 42.2% FND, 25.4% carbohidratos solubles y proporciones del peso seco compuestas por las hojas:vainas+semillas:tallos+pecíolos de 24:39:37. Además, el análisis económico arrojó estimados del costo de producción de forraje y de ensilaje tal como se ofreció de 0.02 y 0.03 US $/kg, respectivamente (Tobía y Villalobos 2004).

3.5 Girasol (*Helianthus annuus* L.)

El girasol es una especie de planta anual de hoja ancha, crecimiento erecto y normalmente sin ramificación. Las hojas de girasol presentan fototropismo, lo cual

incrementa la intercepción de luz y posiblemente la fotosíntesis (Putnam et al. 1990). El girasol es originario de América de la región central y norte de México y sur y oeste de los Estados Unidos. Probablemente su domesticación fue obra de varias tribus occidentales nativas de América posiblemente alrededor de 1000 a. C. El girasol llegó por primera vez a Europa llevado por los españoles durante la época de la conquista. En la actualidad el girasol se cultiva principalmente en países de clima templado como Argentina, EE UU, Rumania, Rusia y Francia entre otros y su uso principal es para la extracción de aceite comestible (INIA 2009; Putnam et al. 1990).

Otro uso del girasol, es como cultivo para ensilar. Bajo condiciones adecuadas de crecimiento el rendimiento del girasol (4.94-7.41 ton/ha) es generalmente más bajo comparado con el maíz (7.66-9.39 ton/ha). El contenido de humedad aún en la madurez del cultivo es alto (80-90%), siendo indicado un marchitamiento antes de ensilar el forraje. El valor nutricional del ensilaje de girasol a menudo rebasa el del maíz pero es inferior al de heno de alfalfa. La concentración de PB del ensilaje de girasol es mayor que la del ensilaje de maíz, pero su contenido disminuye después de la etapa de floración. Además, el ensilaje de girasol contiene considerablemente más lípidos que el de otros forrajes. Su valor nutricional lo hace apto para incluirlo en dietas para diversas clases de bovinos (Putnam et al. 1990).

3.5.1 Estados fenológicos del girasol

El tiempo total requerido para el ciclo de vida de una planta de girasol, así como la duración de las diferentes etapas de desarrollo, depende de la genética y del medio ambiente. Para definir una etapa de crecimiento en el campo es necesario considerar la condición promedio de un gran número de plantas. El método usado para este propósito puede aplicarse también a plantas individuales. Las plantas pueden ser de capítulo simple o ramificado, y en estas últimas la determinación se realiza sólo en la rama principal. Durante el desarrollo de la planta de girasol se definen etapas vegetativas y reproductivas de acuerdo a la siguiente escala fenológica (Schneiter y Miller 1981):

Etapa vegetativa

VE: emergencia, el hipocótilo y los cotiledones han emergido sobre la superficie del suelo y la primera hoja verdadera mide menos de 4cm de largo.

Vn (1, 2, 3, etc.): estas se determinan contando el número de hojas verdaderas de al menos 4 cm de longitud. Por ejemplo V2 o V8 implican dos u ocho hojas verdaderas.

Etapa reproductiva

R1: la yema terminal forma una cabeza floral en miniatura rodeada por brácteas inmaduras. Cuando se mira desde arriba, las brácteas inmaduras tienen forma similar a una estrella con muchas puntas.

R2: la yema inmadura se elonga 0.5 a 2.0 cm por encima de la última hoja verdadera en el tallo.

R3: la yema inmadura se alarga más de 2.0 cm por encima de la última hoja.

R4: la inflorescencia empieza a abrirse. Al mirar directamente desde encima, las flores liguladas son visibles.

R5: se produce la antesis de las flores. La etapa se puede dividir en subetapas dependiendo del porcentaje del capítulo que ha completado o está en floración. Por ejemplo R5.3 o R5.8 implican que el 30% o 80%, respectivamente del capítulo está en antesis.

R6: la floración es completa y las flores liguladas se están marchitando.

R7: la parte posterior del capítulo (receptáculo) ha empezado a tomar un color amarillo pálido.

R8: la parte de atrás del capítulo es de color amarillo, pero las brácteas permanecen verdes.

R9: Las brácteas cambian de color amarillo a marrón. En esta etapa el cultivo ha alcanzado la madurez fisiológica.

3.5.2 Forraje y ensilaje de girasol

El cultivo de girasol se presenta como una alternativa forrajera para la alimentación de ganado lechero en la época de escases de lluvia debido a propiedades que incluyen,

adaptabilidad del cultivo en los períodos secos, potencial de alta producción de forraje fresco y alto contenido de PB. Puede aportar un alto rendimiento de proteína por hectárea en la época seca. La parte más nutritiva del girasol son sus hojas y pueden tener un valor forrajero superior al de la alfalfa. El potencial extraordinario de rendimiento del girasol en períodos de poca precipitación (44.7-74.5 t/ha de forraje verde en 60-70 días) queda ilustrado al compararlo con caña de azúcar que es la especie campeón de alto rendimientos (50 a 70 t/ha al año). Análisis comparativos de caña con girasol+sorgo mostraron ventajas para este último, en términos de mayor consumo (13 vs 15 kg/día) y producción de leche (4.05 vs 4.71 L/día) (Penichet et al. 2008). Rendimientos de forraje obtenidos con diferentes densidades de siembra sugieren que las densidades más altas tienen un efecto positivo en la producción de biomasa por hectárea. A una densidad de 150 mil plantas/ha se registraron RMS de 9.5 ton/ha (Escalante et al 2008).

Al comparar el capítulo contra las partes vegetativas de plantas de girasol en los estados entre inicio de floración y madurez fisiológica se ha observado respectivamente valores de 9.2-10.8 y 6.1-3.3% PB; 29.5-30.4 y 48.4-65.5% FDN; 23.5-37.1 y 36.9-36.2% FDA, 3.9-34.6 y 0.8-0.9% EE; y 76.2-57.4 y 55.2-36.6% digestibilidad *in vitro* de MO. Para producción y concentración energética del cultivo los valores en promedio fueron de 8.4 ton MS/ha y 0.92 unidad forrajera de leche por kg de MS (UFL/kg MS = 1.73 Mcal EN_L). El aporte medio de MS del capítulo (4.24 ton/ha) y la parte vegetativa (4.17 ton/ha) fueron similares, pero el valor energético del capítulo triplicó al del resto de la planta (1.36 vs 0.46 UFL/kg MS). Estos resultados sugieren que conviene realizar la cosecha hasta la cuarta o quinta semana después de la aparición de las flores para aprovechar el incremento en productividad y la alta concentración energética en estados más avanzados. Esto contribuye también a minimizar las pérdidas por efluentes que generan los altos contenidos de humedad. Sin embargo, es necesario considerar los altos aportes de lípidos cuando se cosecha el girasol en los estados más avanzados ya que esto puede limitar su nivel de inclusión en la dieta (Pereira et al. 2014). Altos niveles dietéticos (> 4%) de grasas no protegidas (sin importar el grado de saturación) pueden afectar negativamente a los microorganismos fibrolíticos del rumen y desmejorar la digestibilidad de la fibra (Martínez et al. 2011).

La amplia adaptabilidad de girasol tanto a climas templado, tropical y subtropical, su corto ciclo de producción, su gran capacidad de utilización del agua disponible y la tolerancia a una amplia gama de temperaturas, son características que lo han promovido como un cultivo idóneo para la elaboración de ensilajes. La siembra de girasol para ensilar puede ser como un cultivo de segunda o en sitios donde el déficit hídrico torna poca viable la producción de cultivos tradicionalmente como el maíz y sorgo. De forma general, el ensilaje de girasol se caracteriza por un alto contenido proteico y un alto valor energético debido a su alta concentración de aceite. Sin embargo, la fracción fibrosa puede presentar una mayor proporción de lignina y con esto menor digestibilidad al ser comparado con los ensilajes de maíz y de sorgo, lo cual puede restringir su uso con animales de alta productividad (Ribeiro et al. 2007).

Investigaciones sobre diferentes estados fenológicos (R7, R9 y madurez de cosecha) de girasol referente a su rendimiento y calidad de fermentación han revelado un aumento significativo en el porcentaje de MS a mayor madurez, mientras el mayor RMS correspondió al estado R9. Entre los criterios indicativos de la fermentación, el pH mostró menores valores en R7 y R9, pero con elevado nitrógeno amoniacal. El menor contenido de PB ocurrió en la madurez de cosecha. Según este ensayo el momento más favorable para la cosecha en términos de producción y cualitativos fue en el estado R9 (Romero et al. 2009). Otros ensayos con cosechas en R6 y R9 revelan diferencias significativas en el porcentaje de MS (17.5 vs 38.8), pero no en el RMS (11842 vs 13483 kg/ha) y se registraron valores de 10.5 y 8.7 % PB, 48.6 y 55.1% FDN, y 32.7 y 36.5% FDA para R6 y R9, respectivamente. El NH_3-N y pH en R6 fueron de 12.4% y 4.5, mientras que en R9 se registran respectivos valores de 13.8% y 5.0. Se concluyó que el girasol puede tener altos rendimientos de forraje comparables a los de maíz y sorgo, y de calidad aceptable (Romero y Mattera 2008). Otras evaluaciones muestran que los valores de PB de girasol (en cuatro etapas fenológicas) fueron mayores que los de maíz. Los mayores valores de EE y EM del girasol se encontraron en las etapas más cercanas a la madurez fisiológica. La concentración de FDN fue menor y la de FDA mayor al comparar girasol con maíz (Andreo et al. 2011).

En un experimento para comparar el ensilaje de girasol y el de maíz en vacas lecheras se obtuvo producciones menores de leche para el girasol (20.5 vs. 22.4 kg/día). La leche

producida por vacas alimentadas con ensilaje de girasol presentó mayor contenido de grasa, pero menor de proteína y de sólidos totales. Hubo una desventaja de 4 kg/día en el consumo del ensilaje de girasol. El pH del fluido ruminal fue de 6.98 y 6.83 en vacas alimentadas con ensilaje de girasol y de maíz, respectivamente. La calidad de ensilajes producidos con variedades oleicas de girasol puede ser aceptable, pero para una máxima producción de leche dicho ensilaje podría no funcionar como único forraje (McGuffey y Schingoethe 1980). El ensilaje de girasol alcanza del 80-85% del valor del ensilaje de maíz en condiciones normales. Su consumo voluntario puede representar un problema, especialmente con variedades de alto aceite. Debido a su alta humedad es recomendable ensilarlo con otro forraje seco para bajar la humedad a menos de 70% (Lardy y Anderson 2009). Otras investigaciones en vacas alimentadas con ensilaje de girasol en sustitución del ensilaje de maíz, revelaron una reducción relativa en la producción de leche de un 8% e incremento en el contenido de grasa en la leche por 12%. En un estudio realizado en la Universidad de Wisconsin, vacas cuya dieta incluyó una sustitución de ensilaje de maíz de hasta un 66% por ensilaje de girasol, mantuvieron su producción de 27.27 kg diarios de leche sin mostrar un efecto en los rendimientos de leche y de proteína (Garcia 2006).

3.6 Importancia del ensilaje en la alimentación de rumiantes

Debido a la marcada estacionalidad a lo largo del año los sistemas pastoriles presentan períodos de abundancia de forraje y períodos de escasez. Entonces la confección de reservas forrajeras permite aprovechar los excedentes de forraje, equilibrando la oferta con la demanda alimento para los animales. De no ser así la carga animal debería ajustarse a la oferta mínima de forraje producida en la época de escasez. La conservación de forraje brindará una mayor estabilidad al sistema productivo a través de un aporte de forraje de calidad con el aprovechamiento de los excedentes, lo cual permite mantener la carga animal y un adecuado balance de la dieta (Irigoyen 2009). La escasez estacional de forraje acompañada de la baja calidad disminuye la productividad de los sistemas ganaderos. En la vaca lechera la falta de forraje ocasionará pérdidas de la condición corporal debido a la movilización de las reservas. Así, ocurre una reducción en la producción de leche, períodos de lactancia cortos y disminución de la tasa reproductiva. Entre las estrategias de alimentación, la conservación de forraje en forma de ensilaje permite la disponibilidad de

alimento de buena calidad para los períodos de escasez (Reyes et al. 2009). Aunque los ensilajes y henos se consideran típicamente como alimentos voluminosos, estos pueden jugar un gran papel como suplidores de energía y proteína, además de fibra (Gallardo 2015).

En el trópico los sistemas intensivos de ganado lechero dependen ampliamente del uso de alimentos concentrados que de manera general son de alto costo. Se necesita buscar alternativas que permitan reducir los costos de alimentación y mantener una buena rentabilidad. La producción de forrajes de alta calidad, conservados como ensilaje, se presenta como una alternativa de menor costo y que suple forraje en la época de escasez, lo cual permite reducir el uso de alimentos concentrados y mejorar la competitividad de los sistemas ganaderos (Tobía et al. 2004; Tobía et al. 2006).

Ensilajes como los de maíz y sorgo se caracterizan por su alto potencial de producción de forraje de buena calidad nutricional. Su concentración energética (2.2-2.4 Mcal EM/kg MS), representa una alternativa a los concentrados que resultan más costosos por Mcal de EM. El rendimiento por hectárea de ensilaje de maíz o sorgo proporciona el doble de energía con respecto a la producción de sus granos, por lo tanto se necesitan menos hectáreas para cubrir las épocas de déficit. Esto permite aumentar la carga animal sin disminuir las ganancias de peso en la época de escasez (De León 2014). En un ensayo con vacas lecheras se obtuvo producciones de leche de 21.6 L/día con dietas en que el ensilaje de maíz fue ofrecido a discreción con una suplementación de 3 kg de heno de alfalfa y 4.8 kg de concentrado (Cofré y Jahn 2005). En otro caso la sustitución de 13% del concentrado por ensilaje de soya en vacas Holstein de producción media de 18 kg/día no causo un efecto sobre el consumo de MS ni en la producción de leche, pero sí logró una reducción de 7% en los costos de alimentación. Por otra parte una sustitución de 27.2% del concentrado por ensilaje de soya sí redujo el consumo de MS y la producción de leche en 1.6 kg/día; además la leche no sufrió cambios en los contenidos de grasa y sólidos totales, pero sí se redujeron los porcentajes de proteína y lactosa. Se concluyó que la sustitución parcial de concentrado por ensilaje de soya es una alternativa viable para reducir los costos de producir leche en el trópico (Tobía et al. 2004). Otras investigaciones, señalan que aun en condiciones adversas de clima es posible aprovechar las cualidades nutricionales del forraje de soya en la alimentación del ganado lechero a un costo relativamente bajo (Tobía y Villalobos 2004).

4 Experimento I. Rendimiento de materia seca, características de fermentación y valor nutricional de ensilajes de soya (*Glycine max* L. Merr.) y girasol (*Helianthus annuus*) cosechados en dos estados fenológicos

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.1 Localización y establecimiento de los cultivos

Los cultivos se establecieron en el mes de marzo de 2014 en la Estación Experimental Agrícola (EEA) de Isabela, la cual está ubicada en la zona noroeste de la isla (18° 30' Latitud norte y 67° 00' Longitud oeste) a 128 msnm. La precipitación promedio anual es de 1675 mm, con una temperatura media anual de aproximadamente 25°C y fluctuaciones al año entre 19 y 29°C. Los suelos del lugar son de tipo Oxisol de la serie Coto (very-fine, kaolinitic, isohyperthermic Typic Eutrustox) (Beinroth et al. 2003).

4.1.1.1 Preparación del terreno

Se utilizó un área aproximada de 1296 m^2 (36 x 36), realizando labranza convencional con pase de arado y rastra a una profundidad aproximada de 30 cm.

4.1.1.2 Muestreo de suelo y siembra

Previo a la siembra de los cultivos se realizó un análisis de suelo, para lo cual se obtuvo una muestra compuesta de aproximadamente 500 g, realizando un muestreo aleatorio en forma de zigzag y utilizando un barreno a una profundidad de 25 cm. El análisis del suelo reveló un pH de 7.07, una conductividad de 389 μS/cm, capacidad de intercambio catiónico de 11 meq/100g, contenido de materia orgánica de 2.89 % y concentraciones de 18, 86, 121 mg/kg de fósforo disponible, potasio y magnesio, respectivamente.

Para la siembra, tanto de soya como de girasol, se utilizó una sembradora de hileras estableciendo parcelas de 12 surcos de 6 m de largo y 0.6 m entre surcos. Para soya se utilizaron el cultivar Hinson y la línea 22-3 del programa de pastos y forrajes del Dr. Elide Valencia de la Universidad de Puerto Rico, siendo el distanciamiento entre plantas de 8 cm. En el caso del girasol se utilizaron dos híbridos de tipo oleico (Torino y Camaro II) de la empresa Anzu Brothers, Inc., con un distanciamiento entre plantas de 10 cm.

4.1.1.3 Prácticas culturales de los cultivos

Se realizó un control mecánico de malezas por medio de una cultivadora y un control químico selectivo para gramíneas (pasto Johnson *Sorghum halepense*) con el herbicida Fusilade® DX (1.5 L/ha). Además, se realizó un monitoreo semanal para el control de plagas y enfermedades; y aplicación de riego por cañón.

4.1.2 Tratamientos

Se evaluaron los dos cultivos (soya y girasol) de forma individual, considerando dos variedades y dos estados fenológicos para cada uno. De esta manera se obtuvieron cuatro tratamientos (combinaciones) para cada cultivo (Tablas 3 y 4). Las unidades experimentales estuvieron representadas por sub-parcelas de 6 surcos cada una.

Tabla 3. Ensilajes de soya en dos estados fenológicos

Tratamientos	Descripción
H-R3	Cultivar Hinson en inicio de formación de vainas
H-R6	Cultivar Hinson con semilla completamente desarrollada
22-3-R3	Línea 22-3 en inicio de formación de vainas
22-3-R6	Línea 22-3 con semilla completamente desarrollada

Tabla 4. Ensilajes de girasol en dos estados fenológicos

Tratamientos	Descripción
C-R6	Variedad Camaro II en antesis completa y flores liguladas marchitas
C-R8	Variedad Camaro II con receptáculo completamente amarillo y brácteas verdes
T-R6	Variedad Torino en antesis completa y flores liguladas marchitas
T-R8	Variedad Torino con receptáculo completamente amarillo y brácteas verdes

4.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico

Rendimiento y porcentaje de materia seca

Los cultivos fueron establecidos utilizando un diseño de bloques completos aleatorizados (DBCA) con cuatro repeticiones y un arreglo de parcelas divididas; donde el criterio de bloqueo corresponde al historial de siembra, la parcela principal estuvo representada por la variedad o línea del cultivo y la sub-parcela por el estado fenológico (Figura 1). Se realizó Análisis de Varianza (ANDEVA), utilizando el Modelo Lineal General (PROC GLM) con ayuda del paquete estadístico "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.1®) (SAS 2009) y para la comparación entre las medias de los tratamientos se empleó la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (DMS), con un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

Soya								
Bloques	I		II		III		IV	
Parcela	Soya Hinson		Soya 22-3		Soya 22-3		Soya Hinson	
Subparcela	R6	R3	R6	R3	R3	R6	R3	R6
Parcela	Soya 22-3		Soya Hinson		Soya Hinson		Soya 22-3	
Subparcela	R3	R6	R6	R3	R6	R3	R6	R3
Girasol								
Bloques	I		II		III		IV	
Parcela	Torino		Torino		Camaro II		Torino	
Subparcela	R6	R8	R6	R8	R8	R6	R6	R8
Parcela	Camaro II		Camaro II		Torino		Camaro II	
Subparcela	R8	R6	R6	R8	R6	R8	R8	R6

Figura 1. Distribución de parcelas y sub-parcelas en el predio

Características fermentativas y nutricionales

Para la evaluación de estas variables se utilizó un DBCA con cuatro repeticiones y se realizó un ANDEVA, utilizando PROC GLM del paquete estadístico SAS versión 9.1® (SAS 2009). Para la comparación entre las medias de los tratamientos se empleó la prueba DMS, con un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

Estabilidad aeróbica

Se utilizó un DBCA con cuatro repeticiones y medidas repetidas en el tiempo. Los análisis involucran los mismos métodos de ANDEVA y DMS citados arriba.

4.1.4 Cosecha y ensilamiento

En el caso de la soya los estados de cosecha fueron: inicio de formación de vainas (R3) y semilla completamente desarrollada (R6), mientras la cosecha de girasol se realizó en los estados fenológicos R6 (antesis completa y flores liguladas marchitas) y R8 (receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes). Se efectuó un monitoreo semanal hasta observar los momentos indicados para la cosecha y ensilamiento de los cultivos.

Se elaboró un micro-silo con forraje correspondiente a cada uno de los tratamientos y repeticiones. Para esto el material vegetal de cada subparcela fue cortado manualmente, con machete, y picado en trozos de aproximadamente 1-3 cm de largo, con una trituradora de forraje marca Troy-Bilt modelo CS 4325. El forraje picado de soya fue conservado en micro-silos de 15 L de capacidad y el de girasol en silos de 50 L, compactando manualmente hasta llenar apretadamente el espacio interior. Los micro-silos llenos se sellaron herméticamente y se almacenaron a temperatura ambiente.

4.1.5 Variables a cuantificar

4.1.5.1 Producción de biomasa o materia fresca (MF Mg ha^{-1})

Una vez que el forraje de los tratamientos, de cada cultivo, alcanzó el estado fenológico deseado, se cosechó las dos hileras centrales (7.2 m^2) de cada subparcela y se procedió a su pesaje para estimar la producción de MF de cada tratamiento.

4.1.5.2 Materia seca de los forrajes (MS %)

Del forraje cosechado para estimar la producción de MF, se tomó una muestra de aproximadamente 500 g, la cual se secó en un horno de aire forzado a 65°C por 72 horas. El porcentaje de MS fue calculado considerando el peso inicial y final de la muestra.

4.1.5.3 Rendimiento de materia seca (RMS Mg ha^{-1})

Con los valores estimados de producción de forraje fresco y el contenido de materia seca se calculó el RMS, de los cuatro tratamientos en cada uno de los dos cultivos.

4.1.5.4 Variables nutricionales y productos de fermentación de los ensilajes

Se analizaron estas variables considerando los dos estados fenológicos citados de un solo representante de cada cultivo. Para esto se seleccionaron la línea 22-3 de soya y la variedad Torino de girasol a base de su desempeño en RMS.

Los silos previamente seleccionados de cada cultivo se abrieron a tiempos mayores a 60 días de fermentación para colectar muestras de ensilaje de aproximadamente de 500 g, que se colocaron en bolsas plásticas de cierre hermético, se congelaron y se enviaron al laboratorio comercial Dairy One Forage Lab, de Ithaca, Nueva York para análisis. El protocolo de muestreo del ensilaje y manejo de las muestras fue acorde a los términos establecidos por el laboratorio.

Como variables nutricionales, se solicitó determinación analítica o cálculo de los contenidos de MS, PB, FDN, FDA, EN, y NDT, y los productos de fermentación ácido láctico, ácido acético, razón láctico: acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido isobutírico, ácidos totales, amonio proteína equivalente (APE), nitrógeno amoniacal como porcentaje del N total (NH_3-N) y el pH.

Como variable nutricional adicional se calculó el valor relativo del forraje (VRF). Este índice supone una valoración objetiva del forraje que relaciona el potencial teórico de consumo de MS (CMS = 120/%FDN) y su digestibilidad estimada [MSD = 88.9 - (0.779 * %FDA)], donde VRF = (CMS*MSD/1.29). Este índice permite la clasificación de los

forrajes en categorías de: excelente (>151), primera (125-151), segunda (103-124), tercera (87-102), cuarta (75-86) y quinta (>75) (FEDNA 2015).

4.1.5.5 Variables indicativas de la estabilidad aeróbica

La determinación de estabilidad aeróbica fue una continuación de la evaluación de los mismos tratamientos empleados en la fase anterior de valor nutricional y productos de fermentación. Se colocó 1500 g de ensilaje, de cada repetición y tratamiento, en envases de isopor cubiertos con plástico y se expusieron a condiciones aeróbicas por un período de 7 días. Cada muestra contó con un termómetro insertado en la masa de ensilaje y se registró la temperatura cada seis horas. La EA fue definida como el número de horas que le tomó a la temperatura del ensilaje para incrementar 2°C por encima de la temperatura del ambiente (Kung et al. 2000). Se evaluó el efecto del tiempo de exposición al aire sobre la estabilidad de los ensilajes a 0, 1, 3, 5 y 7 días de exposición.

Después de dichos lapsos de exposición aeróbica también se registró el valor de pH de los ensilajes. Para ello se pesó 10 g de ensilaje en un tubo de centrífuga, se agregaron 90 ml de agua destilada, se agitó y se colocó en la centrífuga para girar a 3000 rpm durante 5 minutos. El pH de la solución resultante fue medido con un electrodo de vidrio (Hardy 1973).

4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.1 Ensilaje de soya (Experimento I)

4.2.1.1 Rendimiento de materia seca (RMS)

El RMS de forraje de soya mostró una interacción significativa ($p < 0.05$) entre la variedad del cultivo y su estado fenológico de cosecha. En el estado R6 la mayor producción de MF (29.2 Mg ha^{-1}) y RMS (7.2 Mg ha^{-1}) correspondieron a la Línea 22-3 que superó significativamente el resto de las combinaciones (Tabla 5). Este RMS cae dentro de los valores obtenidos por Tobía y Villalobos (2004), de RMS para la variedad CIGRAS 06 en estado R6 de 4.8-8.8 Mg ha^{-1} en distintas localidades de Costa Rica. En cambio Tobía et al. (2006), obtuvieron para ésta misma variedad un RMS de 13.2 Mg ha^{-1}, en suelos de alta fertilidad de Venezuela, siendo dicho valor 1.8 veces mayor al presente. En lo referente a evaluaciones locales Aponte (2011), cita un RMS promedio de 6.5 Mg ha^{-1} en el estado R5.4 (75% de llenado de grano).

Tabla 5. Producción de biomasa y porcentaje y rendimiento de materia seca de dos variedades de soya en dos estados fenológicos

Variables	Variedad Hinson		Línea 22-3		p-valor		
	Estados fenológicos						
	R3[1]	R6[2]	R3[1]	R6[2]	V[3]	E[4]	V*E[5]
Biomasa (Mg ha^{-1})	8.6^{c}	16.6^{b}	8.5^{c}	29.2^{a}	0.0337	0.0003	0.0156
MS[6] (%)	19.86^{b}	24.81^{a}	19.14^{b}	24.89^{a}	NS[8]	<0.0001	NS[8]
RMS[7] (Mg ha^{-1})	1.7^{c}	4.1^{b}	1.6^{c}	7.2^{a}	0.0401	0.0001	0.0067

[1] Inicio de formación de vainas; [2] Semilla completamente desarrollada; [3] Efecto de Variedad; [4] Efecto de Estado fenológico; [5] Interacción Variedad*Estado fenológico; [6] Materia seca; [7] Rendimiento de materia seca; [8] No significativo.
Dentro de la misma fila promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el estado R3 la variedad Hinson y la Línea 22-3 no difirieron significativamente ($p > 0.05$). El efecto principal de estado fenológico resultó significativo ($p < 0.05$), siendo los promedios de los estados R3 y R6, 8.6 y 22.9 Mg ha^{-1} de MF; y de 1.6 y 5.6 Mg ha^{-1} de RMS, respectivamente. Por lo tanto, el RMS en R6 fue 3.5 veces mayor al de R3 (Tabla 5). Esta relación fue mayor a lo señalado por Abdelhadi (2005), que fue de casi el doble al comparar los estados R2 y R6. El presente incremento en RMS también supera por mucho a lo observado por Aponte (2011), de un incremento de solo 1000 kg ha^{-1} desde R2 a R5.4. En

Wisconsin se obtuvo RMS promedio de 3.7 Mg ha^{-1} para los estados de R3 a R4 (Undersander et al. 2007), el cual es 2.1 Mg mayor al registrado para R3 en el presente estudio.

Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estados fenológicos en porcentaje de materia seca (MS) del forraje, registrando valores promedio de 19.50 y 24.86 % para R3 y R6, respectivamente. La variedad no afectó significativamente ($p > 0.05$) el porcentaje de MS (Tabla 5). Según Undersander et al. (2007), el forraje de soya en estado R3 a R4 tiene generalmente un 80% de humedad (20% MS), mientras que para el estado R6, Tobía et al. (2006) y Tobía et al. (2008), dan valores de 26.7 y 24.8 % MS, respectivamente, lo cual coincide con los resultados presentes.

4.2.1.2 Características nutricionales

Para determinar una edad adecuado de cosecha, las características nutricionales del ensilaje de soya fueron evaluadas en la Línea 22-3 considerando los estados fenológicos R3 y R6. Los análisis muestran que no hubo un efecto significativo de la edad de cosecha ($p > 0.05$) sobres las variables PB, FDA, NDT, ENg y VRF, obteniendo respectivos valores promedio de 17.94%, 45.78%, 57.13%, 0.59 Mcal kg^{-1} MS y 93.5 (Tabla 6). Los valores de PB obtenidos para R3 (17.23%) y R6 (18.65%) son similares a los hallados por Spanghero et al. (2015), para ensilaje de soya en los estados fenológicos R4 (16.4%), R5 (17.8%) y R6 (19.9%), pero en aquel estudio a diferencia del presente el aumento en PB a un mayor estado de madurez sí fue significativo. Tobía et al. (2008), encontraron 21.7% PB en ensilaje de soya en estado R6 lo que supera al resultado presente por 3.76 unidades porcentuales. Referente al contenido de FDA, Spanghero et al. (2015), no detectaron un efecto significativo del estado fenológico (R4, R5 y R6), siendo el valor promedio de 36.34%, lo que es cónsono con el 37.0% obtenido por Tobía et al. (2008) para ensilaje en estado R6. Los dos promedios citados son inferiores a lo obtenido en la presente investigación (Tabla 6).

De acuerdo al promedio de VRF obtenido (94), el presente ensilaje de soya tendría una calidad de tercera, bastante por debajo de lo esperado. La calidad del forraje de soya es capaz de asemejarse a la de alfalfa al presentar un VRF de 150 (Wiederholt y Albrecht 2003). Además, el contenido de NDT estimado (57.13%) ubicaría a este ensilaje de soya dentro de

una calidad media, presumiendo que valores mayores a 60 son altos, de 55-60 medios y menores a 55 bajos (Vélez y Berger 2011).

Tabla 6. Porcentaje de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de soya (Línea 22-3) en dos estados fenológicos

Estados fenológicos	MS[1]	PB[2]	FDA[3]	FDN[4]	NDT[5]	ENl[6]	ENm[7]	ENg[8]	VRF[9]
	%					Mcal/kg			
R3[10]	17.95[b]	17.23[a]	44.88[a]	51.33[a]	57.50[a]	1.25[a]	1.18[a]	0.61[a]	99[a]
R6[11]	24.30[a]	18.65[a]	46.68[a]	55.55[b]	56.75[a]	1.19[b]	1.12[b]	0.57[a]	88[a]

[1] Materia seca; [2] Proteína bruta; [3] Fibra detergente ácido; [4] Fibra detergente neutro; [5] Nutrientes digeribles totales; [6] Energía neta de lactancia; [7] Energía neta de mantenimiento; [8] Energía neta de ganancia; [9] Valor relativo del forraje; [10] Inicio de formación de vainas; [11] Semilla completamente desarrollada.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los porcentajes de MS y FDN, y los estimados de EN (para lactancia y para mantenimiento) sí fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) por el EF de la planta. El estado R6 mostró el mayor valor de MS (24.30%) y de FDN (55.55%), y el menor de ENl (1.19 Mcal kg^{-1} MS) y ENm (1.12 Mcal kg^{-1} MS). Los valores de MS y FDN fueron 6.35 y 4.22 unidades porcentuales menores en el estado R3 que en el R6; y los dos estimados de EN (de lactancia y de mantenimiento) fueron mayores por 0.06 Mcal kg^{-1} MS (Tabla 6). Spanghero et al. (2015), también informaron un incremento significativo en el contenido de MS desde el estado R4 hasta el R6; en FDN encontraron un incremento numérico pero no significativo a medida que aumenta la madurez del forraje. En aquel estudio el FDN promedio fue 56.4% lo que supera el resultado presente para R3 (51.33%) y levemente el de R6 (55.55%). Otras evaluaciones de ensilaje de soya en estado R6 incluyen promedios de 25.1% MS, 42.6% FDN y un nivel de ENl de 1.47 Mcal kg^{-1} MS (Tobía et al. 2008).

4.2.1.3 Productos de fermentación

El análisis de los datos de pH y ácidos orgánicos del ensilaje de soya, arrojó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los EF R3 y R6, para el pH, porcentajes de los ácidos: acético, propiónico e isobutírico, y relación láctico/acético (L/A) (Tabla 7). El estado R6 registró respectivos valores de 4.98, 2.95%, 0.18%, 0.03% y 0.97; todos estos valores, con excepción de la L/A son menores que los encontrados en el estado R3 (Tabla 7). Los valores de pH obtenidos para los dos estados de madurez son mayores a lo recomendado, lo

cual no es indicativo de una fermentación óptima. Para ensilajes de leguminosas Kaiser y Piltz (2004), señalan como valores adecuados de pH, 4.2 y 4.5 correspondientes a contenidos de MS de 15 y 25%, respectivamente. Spanghero et al. (2015), encontraron un valor promedio de 5.17 sin diferencia significativa en pH, para ensilajes en estado R4, R5 y R6, lo cual difiere de la presente investigación. Cabe señalar que en aquel caso, el forraje fue marchitado hasta obtener promedios de MS desde 44.9 a 52.9%, y que Kaiser y Piltz (2004) señalaron que con un contenido de MS superior a 35% el pH de un ensilaje por sí solo no es adecuado como guía de la calidad de la fermentación.

Tabla 7. Características fermentativas de ensilajes de soya (Línea 22-3) en dos estados fenológicos

Estados fenológicos	pH	A. láctico	A. acético	Láctico/Acético	A. propiónico	A. butírico	A. isobutírico	A. totales	APE[1]	NH_3-N[2]
		%			%					
R3[3]	5.50[b]	1.36[a]	5.28[b]	0.24[b]	0.91[b]	4.62[a]	0.85[b]	13.01[a]	7.47[a]	45.38[a]
R6[4]	4.98[a]	2.92[a]	2.95[a]	0.97[a]	0.18[a]	2.65[a]	0.03[a]	8.70[a]	3.82[a]	20.55[a]

[1] Amonio proteína equivalente; [2] Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total; [3] Inicio de formación de vainas; [4] Semilla completamente desarrollada.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La concentración de ácidos acético y propiónico (Tabla 7) en el ensilaje de estado R6 están dentro de los valores recomendados, considerando como límites adecuados < 3% para AA y < 1% AP (Dairy One 2014). En cambio la relación L/A es más baja respecto que lo esperado (2 - 3 en leguminosas) (Dairy One 2014). En el ensilaje de estado R3 tanto el nivel de AA como la relación L/A están lejos de lo recomendado y el contenido de AP se encuentra cerca del límite máximo establecido. Tobía et al. (2008), observaron en ensilaje de soya en estado R6 valores para pH de 5.81 y AA de 2.15%, siendo dicho pH también más alto de lo deseable y el nivel de AA similar al presente resultado.

El estado fenológico no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) en las concentraciones porcentuales de AL, AB, ácidos totales, el amonio proteína equivalente (APE) y el nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total (NH_3-N), presentando promedio combinados de 2.14, 3.64, 10.86, 5.65 y 32.97, respectivamente (Tabla 7). Los valores esperados en ensilajes de leguminosas son de > 3 % AL, < 0.1% AB, 5-10 % ácidos totales y 10-15 % NH_3-N (Dairy One 2014). De acuerdo a estas recomendaciones los ensilajes de soya evaluados en los estados R3 y R6, presentaron una pobre fermentación bajo las condiciones

del presente estudio. Esto puede deberse a que la leguminosa ensilada poseía una o varias de las características: alta humedad, bajo nivel de carbohidratos solubles, baja relación entre azúcares solubles y proteína, y una alta capacidad tampón, que afectó la actividad fermentativa de la microflora presente (Reyes et al. 2009; Romero 2004; Clemente 2008). Cuando el contenido húmedo del forraje es superior al 70% se favorecen las fermentaciones secundarias por Clostridium, dando como indeseable resultado altos niveles de AB y NH_3-N, debido a la degradación de la proteína (Alaniz 2008; Seglar 2003). Spanghero et al. (2015), tampoco encontraron un efecto significativo del estado de madurez sobre la concentración de AL y NH_3-N, a pesar de una tendencia decreciente a medida aumentaba la edad del forraje. Sin embargo en aquel caso la concentración de AL y el valor de NH_3-N, 3.06 % y 0.27 %, respectivamente, se situaron entre los valores considerados como adecuados. Esto podría deberse al marchitamiento que recibió el forraje, ya que este proceso permite una fermentación más eficiente (Chaverra y Bernal 2000). Al igual que en el caso presente, Tobía et al. (2008), reportaron un alto nivel de NH_3-N (21.1%) y de AB (2.61%), así como una baja concentración de AL para ensilaje de soya en estado R6.

4.2.1.4 Estabilidad aeróbica

El pH y la temperatura del forraje del ensilaje de soya de los dos EF (R3 y R6), evaluados durante 7 días de exposición al aire no presentaron una interacción significativa ($p > 0.05$) entre el EF y el tiempo de exposición a pesar de obvias diferencias en las curvas de temperatura de los dos estados (Figura 2). El efecto principal del EF sobre pH y temperatura tampoco fue significativo ($p > 0.05$), aunque el estado R6 presentó mayores promedios que R3 de 5.9 vs 5.7 y 30.44 vs 27.75°C (Tabla 8). Barbosa et al. (2011), observaron en ensilaje de soya en estado R8 un promedio mayor de pH (6.7) y menor de temperatura (24.43°C) a los obtenidos en el presente estudio, durante 7 días de exposición aeróbica.

Tabla 8. Efecto del estado fenológico sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de soya

Estados fenológicos	pH	Temperatura °C	Estabilidad Aeróbica h
R3[1]	5.70[a]	27.75[a]	156[a]
R6[2]	5.90[a]	30.44[a]	72[b]

[1] Inicio de formación de vainas; [2] Semilla completamente desarrollada.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La estabilidad aeróbica, medida como el número de horas que el ensilaje demora en incrementar su temperatura 2°C por encima de la temperatura ambiente (Kung et al. 2000), sí mostró un efecto significativo del EF ($p < 0.05$), siendo 156 horas para R3 versus 72 horas para R6 (Tabla 8); esta diferencia es también apreciable en la Figura 2. Este criterio permite comparaciones con los resultados de otras investigaciones. Barbosa et al. (2011), encontraron un tiempo de EA de aproximadamente 56 horas para el ensilaje de soya en estado R8, un valor menor del obtenido con R6 en el presente estudio. Sin embargo para otros ensilajes, como el de alfalfa, se ha observado un tiempo de estabilidad tal largo como 338 horas (Ke et al. 2015), el cual es más del doble del tiempo observado para R3 en el presente caso. Ensilajes tradicionales, como el de maíz y sorgo, suelen presentar EA de 39 y 43 horas, respectivamente (Kristensen et al. 2010; Tabacco et al. 2011). En el presente estudio la mayor EA del ensilaje en estado R3 que la de R6, puede ser atribuida a su mayor contenido de ácidos acético, propiónico y butírico (Tabla 7), debido a que ensilajes con altos niveles de estos AGV son menos propensos al deterioro aeróbico (Piltz y Kaiser 2004). Algunos productos de la fermentación final son más eficientes en inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos. Aunque el AL es altamente deseable por bajar rápidamente el pH, éste tiene poca potencia antifúngica. Irónicamente productos como el AB y amoníaco son buenos antifúngicos, pero ciertamente indeseables en el ensilaje, ya que están asociados a pérdidas de MS y degradación de la proteína, que reducen la calidad del mismo (Kung 2010).

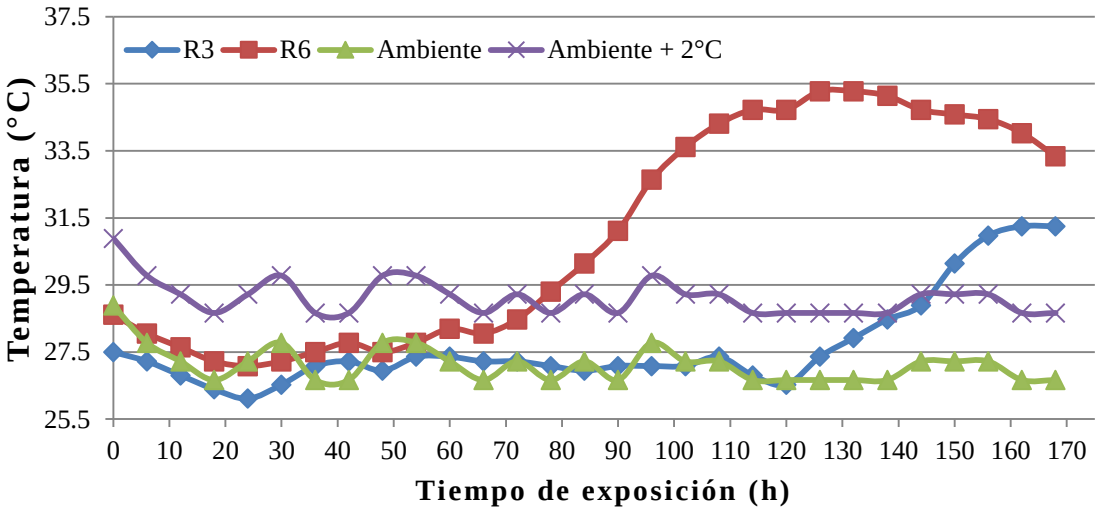

Figura 2. Estabilidad aeróbica de ensilajes de soya en los estados fenológicos de inicio de formación de vainas (R3) y semilla completamente desarrollada (R6)

El efecto del tiempo de exposición al aire sobre el pH y la temperatura del ensilaje de soya fue significativo ($p < 0.05$), mostrando tendencias ascendentes (Tabla 9). Esto concuerda con los aumentos significativos observados por González y Rodríguez (2003) en ensilaje de pasturas tropicales, por Emanuelli (2014) en ensilaje de caña de azúcar y por Mier (2009) en ensilaje de maíz forrajero. El aumento de pH no alcanzó significancia a 0, 1, 3 y 5 días de exposición, registrando un valor promedio de 5.64 durante dicho lapso. Así también, la temperatura no se alzó significativamente durante los tres primeros días de evaluación, mostrando un promedio de 27.52 °C. Los cambios observados en pH y temperatura sugieren que el período crítico, cuando empieza el deterioro del ensilaje de soya, está entre 3 y 5 días de exposición (Tabla 9).

Tabla 9. Efecto del tiempo de exposición al aire sobre el pH y temperatura de ensilaje de soya cosechado en dos estados fenológicos

Tiempo de exposición (días)	pH	Temperatura °C
0	5.39^{a}	28.08^{ab}
1	5.46^{a}	26.63^{a}
3	5.62^{a}	27.85^{ab}
5	6.09^{ab}	30.64^{bc}
7	6.45^{b}	32.28^{c}

Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

4.2.2 Ensilaje de girasol (Experimento I)

4.2.2.1 Rendimiento de materia seca (RMS)

La evaluación estadística de dos variedades de girasol (Camaro II y Torino) en dos estados fenológicos (R6 y R8) no mostró una interacción significativa ($p > 0.05$) entre variedad y EF, ni un efecto principal de la variedad ($p > 0.05$) sobre la biomasa producida, % MS y RMS (Tabla 10). Romero et al. (2009), tampoco encontraron diferencias entre los dos híbridos, Rumbosol91 y MorganMG80, ni una interacción de los híbridos por tres EF (R7, R9 y MC madurez de cosecha), para las variables % MS y RMS. Se registró un RMS promedio para los dos híbridos combinados 12.4 Mg ha^{-1}, lo que supera al promedio de las variedades usadas en el presente estudio por un margen de 5.3 Mg.

El RMS tampoco fue afectado significativamente ($p > 0.05$) por el EF, obteniendo un valor promedio de R6 y R8 combinados de 7.1 Mg ha^{-1} (Tabla 10). Pereira et al. (2014), tampoco encontraron diferencias significativas entre los estados R6 y R8 de la variedad PR63A90 de Pioneer, siendo el RMS promedio de 8.1 Mg ha^{-1}; de igual forma Romero y Mattera (2008) no verificaron diferencias significativas en el RMS, del cultivar Paraíso 33 de Nidera entre los estados R6 y R9, obteniendo un promedio de 12.6 Mg ha^{-1}, lo que supera al RMS promedio del presente estudio por 5.5 Mg. En cambio Romero et al. (2009), observaron que el RMS de 15.9 Mg ha^{-1} en el estado R9 superó ($p < 0.05$) por 17% el de R7 y por 107% el de MC. Este máximo RMS citado es 2.24 veces mayor al promedio del presente estudio.

Tabla 10. Producción de biomasa y porcentaje y rendimiento de materia seca de dos variedades de girasol en dos estados fenológicos

Variables	Variedad Camaro II		Variedad Torino		p-valor		
	Estados fenológicos						
	R6[1]	R8[2]	R6[1]	R8[2]	V[3]	E[4]	V*E[5]
Biomasa (Mg ha^{-1})	42.7[a]	29.9[b]	46.3[a]	34.7[b]	NS[8]	0.0063	NS[8]
MS[6] (%)	16.19[b]	22.97[a]	14.58[b]	22.71[a]	NS[8]	<0.0001	NS[8]
RMS[7] (Mg ha^{-1})	6.9[a]	6.8[a]	6.8[a]	7.9[a]	NS[8]	NS[8]	NS[8]

[1] Antesis completa con flores liguladas marchitas; [2] Receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes; [3] Efecto de Variedad; [4] Efecto de Estado fenológico; [5] Interacción Variedad*Estado fenológico; [6] Materia seca; [7] Rendimiento de materia seca; [8] No significativo.
Dentro de la misma fila promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El EF afectó significativamente ($p < 0.05$) la producción de biomasa y el % MS (Tabla 10). En el estado R6 el promedio de MF fue de 44.5 Mg ha^{-1}, luego disminuyó hasta el estado R8 (32.3 Mg ha^{-1}). Esta disminución reflejaría la pérdida de humedad por el forraje. El cultivar Paraíso 33 de Nidera ha mostrado el mismo efecto del EF al comparar R6 (68 Mg ha^{-1}) con R9 (34.8 Mg ha^{-1}) (Romero y Mattera 2008).

El % MS fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en el estado R8 (22.84) superando por 7.45 unidades porcentuales al R6 (Tabla 10). Pereira et al. (2014), Romero et al. (2009) y Romero y Mattera (2008), también han indicado un aumento en el contenido de MS a medida se retrasa el tiempo de cosecha. Pereira et al. (2014) obtuvieron un % MS de 18.9 en R6 y 29.5 en R8; Romero y Mattera (2008), 16.9 y 17.5 en R6 y 20.9 y 38.8 en R9; y Romero et al. (2009) 20, 27 y 89 en los estados R7, R9 y MC, respectivamente.

4.2.2.2 Características nutricionales

El ensilaje de girasol, variedad Torino, no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los estados fenológicos R6 y R8, en contenido de PB (10.77%) y FDA (36.15%) (Tabla 11). Pereira et al. (2014), obtuvieron resultados análogos con forraje de girasol e informaron contenidos promedios de 6% PB y 37.1% FDA para R6 y R8. El acuerdo entre aquel y el presente estudio fue estrecho en contenido de FDA, pero el de PB fue menor por 4.77 unidades porcentuales en el primer caso. Romero et al. (2009), observaron valores de FDA de 25.7 y 28.6% para ensilajes de girasol en R7 y R9, un valor promedio de 9.2% PB sin diferencias significativas entre estos estados. Romero y Mattera (2008), compararon los estados R6 y R9 y tampoco obtuvieron diferencias significativas en contenido de PB y FDA, siendo los valores promedio de 9.6 a 12.85% PB y 24.5 a 34.6% FDA. De manera general, el ensilaje de girasol muestra mayor contenido de PB y de FDA en comparación con ensilajes tradicionales (maíz y sorgo) (Andreo et al. 2011). Tabacco et al. (2011), informaron contenidos de PB y FDA en ensilaje de maíz de 6.72 y 21.4%, y en ensilaje de sorgo de 5.27 y 21.3%, respectivamente. Otras evaluaciones en ensilaje de maíz muestran un valor promedio de 7.21% PB (Kristensen et al. 2010).

Tabla 11. Porcentaje de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en dos estados fenológicos

Estados fenológicos	MS[1]	PB[2]	FDA[3]	FDN[4]	NDT[5]	ENl[6]	ENm[7]	ENg[8]	VRF[9]
	%					Mcal/kg			
R6[10]	13.95[b]	11.23[a]	34.00[a]	42.73[a]	68.50[a]	1.60[a]	1.57[a]	0.97[a]	136[a]
R8[11]	21.60[a]	10.30[a]	38.30[a]	50.30[b]	66.25[b]	1.55[b]	1.49[b]	0.90[b]	109[b]

[1] Materia seca; [2] Proteína bruta; [3] Fibra detergente ácido; [4] Fibra detergente neutro; [5] Nutrientes digeribles totales; [6] Energía neta de lactancia; [7] Energía neta de mantenimiento; [8] Energía neta de ganancia; [9] Valor relativo del forraje; [10] Antesis completa con flores liguladas marchitas; [11] Receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el caso presente el EF ejerció efectos significativos ($p < 0.05$) sobre las variables MS, FDN, NDT, ENl, ENm, ENg y VRF. Para el estado de antesis completa (R6) los promedios fueron de 13.95% MS, 42.73% FDN, 68.50% NDT, 136 VRF y 1.60, 1.57 y 0.97 Mcal kg^{-1} MS para ENl, ENm y ENg, respectivamente. En el estado fenológico R8 se registraron mayores ($p < 0.05$) contenidos de MS y FDN, y menores valores de NDT, EN y VRF. De acuerdo al VRF el ensilaje de girasol en EF R6 tendría una calidad de primera y en R8 una calidad de segunda (Tabla 11). A diferencia de los resultados presentes, Pereira et al. (2014), no encontraron diferencias significativas en FDN (44.55%) entre los estados R6 y R8 en forraje de girasol; pero sí un incremento significativo en la ENl al pasar de R6 a R8 (1.38 a 1.61 Mcal kg^{-1} MS). Romero et al. (2009), observaron en ensilaje de girasol un aumento en el contenido de MS (19.4, 22.3 y 63.2%) al progresar por los estados R7, R9 y madurez de cosecha (MC), y en FDN con valores correspondientes de 34.5, 40.8 y 53.7%. Romero y Mattera (2008), también verificaron aumentos significativos en FDN de ensilajes de girasol en estados R6 (48.6 - 29.4%) y R9 (55.1 - 38.2%). La calidad de un forraje disminuye a mayor estado de madurez (Vélez y Berger 2011; Pirela 2005), esto se ve reflejado en el ensilaje de girasol en estado R8, cuyo contenido de FND es alto y los valores de NDT, EN y VRF son bajos. El mayor contenido de NDT (68.50%) en R6, encontrado en la presente investigación es menor a los obtenidos por Ribeiro et al. (2002) para ensilaje de girasol (74.02%) y de maíz (72.16%), pero mayor que el de ensilaje de sorgo (63.59%).

4.2.2.3 Productos de fermentación

El EF no afectó significativamente ($p > 0.05$) las variables relación L/A; niveles de ácidos propiónico, butírico e isobutírico; APE y NH_3-N (Tabla 12); registrándose respectivos

promedios de 4.86, 0.09%, 0.69%, 0.08%, 0.61% y 5.75%. En un ensilaje bien fermentado se esperan valores de > 3 % AL, < 3% AA, 1.5 – 4 relación L/A, < 1% AP, < 0.1 AB, 5 - 10 % ácidos totales y 10 - 15 % NH_3-N (Dairy One 2014). De estos siete criterios el ensilaje de girasol evaluado en los estados R6 y R8, presentó condiciones adecuadas según el primero, cuarto y séptimo, pero inadecuados según el quinto al presentar un contenido de ácido butírico en exceso por 0.59 unidades porcentuales.

Romero y Mattera (2008), encontraron en el cultivar Paraíso 33 de Nidera establecido en el año 2006, valores de NH_3-N de 18.2% y 5.8% para los estados R6 y R9, respectivamente. Sin embargo resultados obtenidos en el año 2005, con el cultivar Aguará 2 de Advanta, no mostraron diferencias significativas para los mismos estados, siendo 13.1% el promedio. Romero et al. (2009), informan valores de NH_3-N para ensilajes en los estados R7 y R9, los cuales superan por 12.46 y 12.86 unidades porcentuales el valor más alto obtenido en la presente investigación (Tabla 12). Tomich et al. (2004), observaron valores de NH_3-N desde 5.9% hasta 14.6% para ensilajes de trece cultivares de girasol producidos al ensilar plantas con más de 90% de granos maduros; por otro lado, en aquel caso el contenido de ácido butírico (0.0 - 0.28 %) fue inferior a lo obtenido en el presente estudio.

Tabla 12. Características fermentativas de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en dos estados fenológicos

Estados fenológicos	pH	A. láctico	A. acético	Láctico/Acético	A. propiónico	A. butírico	A. isobutírico	A. totales	APE[1]	NH_3-N [2]
		%			%					
R6[3]	3.88[a]	12.49[a]	2.42[b]	5.20[a]	0.07[a]	0.63[a]	0.07[a]	15.67[b]	0.63[a]	5.66 [a]
R8[4]	4.25[b]	7.93[b]	1.77[a]	4.52[a]	0.10[a]	0.76[a]	0.09[a]	10.64[a]	0.59[a]	5.84[a]

[1] Amonio proteína equivalente; [2] Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total; [3] Antesis completa con flores liguladas marchitas; [4] Receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Las variables pH, ácido láctico, ácido acético y ácidos totales presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los EF (R6 vs R8) (Tabla 12). En el estado R6 el pH (3.88) fue más bajo y la concentración de ácido láctico (12.49%) mayor, mientras el estado R8 presentó una menor concentración de ácido acético (1.77%) y de ácidos totales (10.64%). Generalmente, los ensilajes con alto contenido de humedad, como los de leguminosas cumplen con el criterio de pH con valores de hasta 4.20 y 4.30 asociados a contenidos de MS de 15 y 20 %, respectivamente (Kaiser y Piltz 2004). De acuerdo a esto, el ensilaje en ambos

estados de madurez mostró acidez adecuada (Tabla 12). Romero y Mattera (2008), registraron promedio de pH de 4.4 y 5.2, no significativamente diferentes para ensilajes de girasol en los estados R6 y R9, respectivamente. Romero et al. (2009), también obtuvieron altos promedios de pH para ensilajes en los estados fenológicos R7 (5.06), R9 (5.58) y madurez de cosecha (8.38). Bajo las condiciones de la presente investigación los dos ensilajes de girasol (R6 y R8) presentaron satisfactorios contenidos de ácidos láctico, acético y totales (Tabla 12), lo que corrobora el adecuado proceso de fermentación. Los contenidos de ácidos láctico y acético fueron similares a los obtenidos por Tomich et al. (2004) (2.8 a 12.0 % ácido láctico y 1.5 a 2.5 % ácido acético) en ensilajes de 13 cultivares de girasol.

4.2.2.4 Estabilidad aeróbica

El análisis de las tres variables indicativas de la estabilidad aeróbica (EA) de ensilaje de girasol, en dos EF (R6 y R8), no reveló una interacción significativa ($p > 0.05$) entre el EF y el tiempo de exposición, ni un efecto significativo del estado fenológico ($p > 0.05$). Los valores promedio de pH, temperatura y tiempo hasta alcanzar 2°C por encima de la temperatura ambiental fueron de 6.01, 33.32 °C y 24.5 horas (Tabla 13). Según Toruk y Koc (2009), el ensilaje de girasol puede presentar una estabilidad mayor a 48 horas en el estado de inicio de floración y mayor a 72 horas en el estado de fin de floración. En aquel caso los dos EF presentaron una mayor estabilidad que la presente y difirieron significativamente entre sí, a pesar de que el comportamiento del pH, el contenido de MS y el de ácido láctico fueron similares a los del presente estudio (Tabla 12).

Tabla 13. Efecto del estado fenológico sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol en dos estados fenológicos

Estados fenológicos	pH	Temperatura °C	Estabilidad Aeróbica h
R6[1]	6.02[a]	32.03[a]	26[a]
R8[2]	6.00[a]	34.60[a]	23[a]

[1] Antesis completa con flores liguladas marchitas; [2] Receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La baja EA mostrada en el presente estudio puede deberse a que los ensilajes presentaron una fermentación láctica dominante; Piltz y Kaiser (2004) señalan que al comparar ensilajes con fermentación láctica dominante frente a ensilajes con alto contenido

de AGV, los primeros pueden ser más susceptibles al deterioro aeróbico. Martínez y De la Roza (1999) plantean que la inestabilidad aeróbica puede deberse también a un bajo contenido de MS, lo cual es característico en el forraje de girasol (Tabla 10). Los ensilajes evaluados por Toruk y Koc (2009), mostraron un alto valor de NH_3-N, que pudo contribuir a su mayor tiempo de estabilidad, por sus propiedades antifúngicas (Kung 2010). Koc et al. (2009), evaluaron ensilaje de girasol con 17.57 ± 0.75% de MS, cuya temperatura incrementó 6 °C por encima de la temperatura ambiental después de 4 días de exposición aeróbica.

En el presente estudio el ensilaje de girasol mostró un incremento acelerado de temperatura entre 15 a 37 horas, aproximadamente, de exposición (Figura 3), resultando en un tiempo de estabilidad aeróbica menor a la de ensilajes tradicionales como los de maíz (39 h) y sorgo (43 h) (Tabacco et al. 2011).

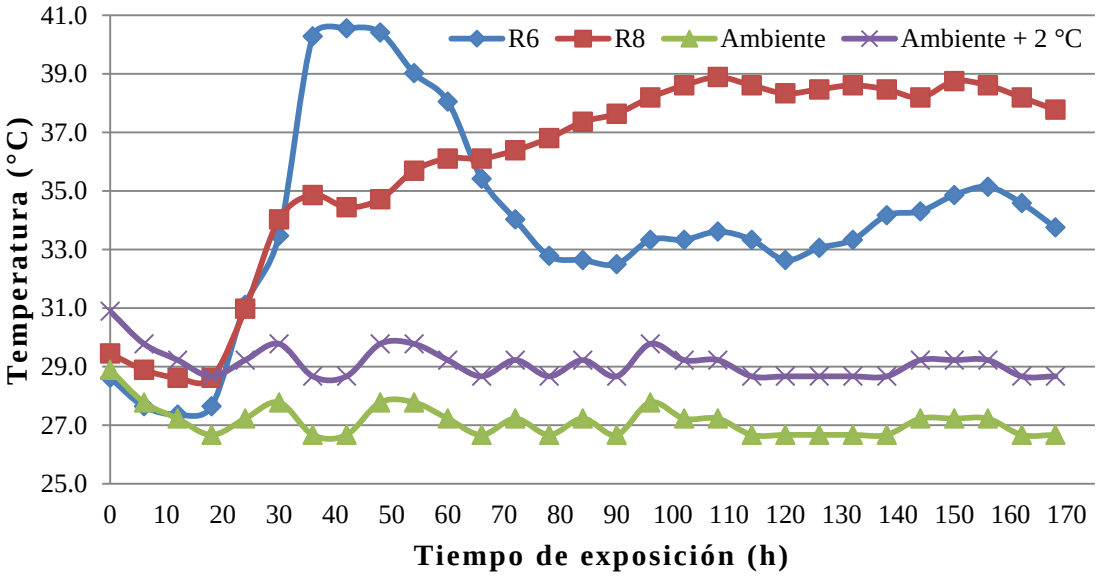

Figura 3. Temperatura a través de 170 horas de exposición aeróbica de ensilajes de girasol en los estados fenológicos de antesis completa con flores liguladas marchitas (R6) y receptáculo completamente amarillo con brácteas verdes (R8)

El largo de tiempo de exposición al aire afectó significativamente ($p < 0.05$) la EA del ensilaje de girasol, mostrándose tendencias de aumento en el pH y temperatura. Los cuales presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) después del primer día de exposición. Al día uno el promedio de pH fue 4.25 y el de temperatura 30.04 °C. Estos cambios rápidos sugieren que el punto crítico cuando empieza el deterioro del ensilaje de girasol ya pasó

después de las 24 horas de exposición aeróbica (Tabla 14). Esta tendencia ascendente del pH y la temperatura a través del tiempo, concuerda con lo obtenido en la evaluación de los ensilajes de soya y con lo que ocurre con ensilajes de maíz, caña de azúcar y forrajes tropicales según Mier (2009), Emanuelli (2014) y González y Rodríguez (2003), respectivamente.

Tabla 14. Efecto del tiempo de exposición al aire sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol cosechado en dos estados fenológicos

Tiempo de exposición (días)	pH	Temperatura °C
0	4.08[a]	29.04[a]
1	4.42[a]	31.04[a]
3	7.55[c]	35.21[b]
5	6.61[b]	35.50[b]
7	7.41[c]	35.78[b]

Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

4.3 CONCLUSIONES

- En la evaluación de la variedad Hinson y la Línea 22-3 de soya en los estados fenológicos de R3 y R6, el RMS acusó una interacción entre la variedad y el estado de madurez al momento de la cosecha. El RMS y % MS incrementaron de forma significativa con una mayor madurez vegetativa. El análisis químico de estos ensilajes de soya confirmó su potencial como fuente de proteína, aunque, su calidad nutricional general fue inferior a lo esperado, ya que presentó altos niveles de FDN y FDA. Una mayor edad del forraje al momento de la cosecha no afectó significativamente su calidad y permitió obtener un mayor % MS, beneficioso para la fermentación del ensilaje. La determinación de productos de fermentación confirmó la dificultad de la conservación de leguminosas en forma de ensilaje (lograr rápida acidificación y evitar degradación de la proteína). Si bien los parámetros de fermentación fueron significativamente mejores en el estado R6, en los dos ensilajes evaluados el pH; niveles de ácidos láctico, acético, propiónico y butírico; y NH_3-N, presentaron valores afuera o apenas dentro de los límites recomendados. El ensilaje de soya mostró una buena resistencia al deterioro aeróbico, teniendo un tiempo de estabilidad superior al de ensilajes tradicionales como los de maíz y sorgo. El ensilaje de soya en el estado fenológico R6 luce como una fuente importante de proteína, pero precisa de prácticas que mejoren el proceso de fermentación (inclusión de aditivos como melaza, premarchitamiento o mezcla con gramíneas).

- En la evaluación de ensilaje de girasol de las variedades Torino y Camaro II en los estados fenológicos R6 y R8, no se detectó un efecto significativo de la variedad ni del estado de madurez del forraje sobre el RMS, pero se registró un incremento significativo del % MS a un mayor estado de madurez. Una mayor edad de cosecha afectó de forma negativa el valor nutricional, por generar un mayor % FND y menores valores estimados NDT y energía neta, lo cual se refleja en un menor VRF. Los contenidos de FDA y PB observados para los dos estados evaluados representan una calidad aceptable del ensilaje de girasol. El contenido de PB superó al de ensilajes tradicionales (maíz y sorgo), estableciendo el girasol como una alternativa de alto

valor proteico. En cuando a las características de fermentación del ensilaje, con excepción del contenido de ácido butírico, los parámetros determinados (tanto en R6 como en R8) muestran niveles de acuerdo a lo esperado. Los niveles elevados de ácido butírico pudieran ser resultado del alto contenido de humedad, lo cual es característico del forraje de girasol. Sin embargo el estado R6 presentó mejores valores de pH y ácido láctico. La EA no mostró un efecto significativo del estado fenológico, pero en general el tiempo de estabilidad fue inferior a los de ensilajes de maíz y sorgo. Esto puede ser atribuido a la fermentación láctica dominante y al alto contenido de humedad de los ensilajes. El forraje de girasol en estado R6 representa una buena alternativa para su conservación en forma de ensilaje. Posibles medios para mejorar el contenido de MS del forraje y contribuir a una mejor fermentación y estabilidad aeróbica, incluyen el uso de aditivos como melaza, el pre marchitamiento o la mezcla de forraje de girasol con gramíneas.

5 Experimento II. Rendimiento de materia seca y uso de melaza y mezcla de forraje con sorgo (*Sorghum bicolor* L.) como fuentes de carbohidratos solubles en la producción de ensilajes de soya *(Glycine max* L. Merr.) y girasol (*Helianthus annuus*)

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1.1 Localización y establecimiento de los cultivos

Se inició el establecimiento del cultivo girasol en el mes de agosto y posteriormente el de soya en el mes de octubre de 2014, en la EEA de Isabela, en lotes adyacentes al primer experimento.

5.1.1.1 Preparación del terreno

Al igual que en el primer estudio, se realizó una labranza convencional con pase de arado y rastra a una profundidad aproximada de 30 cm. Para cada cultivo se utilizó un área aproximada de 576 m^2.

5.1.1.2 Siembra

Se utilizó la variedad Torino de girasol y la Línea 22-3 de soya. Estas fueron previamente seleccionadas durante el primer estudio de acuerdo al RMS. Además, fue necesario establecer el cultivo de sorgo para evaluar combinaciones de soya y girasol con esta gramínea. Para la siembra de los tres cultivos se utilizó una sembradora de hileras a 0.6 m entre hilera.

Del área total destinada para girasol, la mitad (288 m^2) fue sembrada como un monocultivo. En el área restante se estableció el cultivo de girasol en combinación con el

sorgo, intercalando dos surcos de girasol con dos surcos de sorgo. El distanciamiento entre plantas fue de 10 cm para el girasol y 8 cm para el sorgo.

Para obtener material para los ensilajes, tanto la soya como el sorgo fueron establecidos en monocultivos, destinando 2/3 del área total para la leguminosa y 1/3 para la gramínea. El distanciamiento entre plantas para estos dos cultivos fue de 8 cm.

5.1.1.3 Prácticas culturales de los cultivos

El manejo cultural de los monocultivos de soya y girasol incluyó un control mecánico de malezas por medio de una cultivadora y un control químico con un herbicida selectivo (Fusilade®DX 1.5 L ha^{-1}). Se realizó también un monitoreo semanal para vigilar plagas y enfermedades, y administrar la aplicación de riego por cañón.

5.1.2 Tratamientos

Se determinaron las variables de producción de forraje en la Línea 22-3 de soya y la variedad Torino de girasol, como monocultivos y en combinación con sorgo. Siendo así los cuatro tratamientos: MS (monocultivo de soya), SS (combinación de soya + sorgo), MG (monocultivo de girasol) y GS (combinación de girasol + sorgo).

La otra parte de este experimento consistió en evaluar las características nutricionales y fermentativas de ensilajes de soya y girasol en tres situaciones: cultivo solo, éste con adición de melaza y en mezcla con sorgo, sirviendo la melaza y sorgo como fuentes de carbohidratos solubles. Tanto para soya como para girasol se seleccionó el estado fenológico R6 basado en su comportamiento en el primer experimento. Los cuatro micro-silos elaborados por tratamiento corresponden a las unidades experimentales. Hubo tres tratamientos por cultivo: S (soya sola), SM (soya + 6% melaza), SS (soya + sorgo), G (girasol solo), GM (girasol + 6% melaza) y GS (girasol + sorgo).

5.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico

Rendimiento y porcentaje de materia seca

Los resultados se analizaron utilizando una prueba t para dos muestras independientes con ayuda del paquete estadístico SAS versión 9.1® (SAS 2009), con un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

Características fermentativas y nutricionales

Para la evaluación de estas variables se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cuatro repeticiones. Se realizó un ANDEVA, utilizando PROC GLM del paquete estadístico SAS versión 9.1® (SAS 2009). Para la comparación entre las medias de los tratamientos se empleó la prueba de DMS, con un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

Estabilidad aeróbica

Se usó un DCA con cuatro repeticiones y medidas repetidas en el tiempo. La comparación entre las medias de los tratamientos fue según el método citado. Además, se utilizó el método de regresión lineal con el tiempo de exposición aeróbica como variable independiente y la temperatura o el pH del ensilaje como variable dependiente, asistido por el paquete estadístico SAS versión 9.1® (SAS 2009).

5.1.4 Cosecha y ensilamiento

Se realizó un monitoreo semanal hasta observar la edad fenológica indicada (R6) para la cosecha y ensilamiento de los dos cultivos. Se cortaron los forrajes con machete y se sometieron a un proceso de marchitamiento (aproximadamente de 6 a 12 horas) para reducir su alta humedad. El material marchitado fue picado a un tamaño promedio de 1-3 cm de largo utilizando una trituradora de forraje marca Troy-Bilt modelo CS 4325. El forraje picado se ensiló en micro-silos de 15 L de capacidad, realizando una compactación manual hasta llenar el espacio interior. Los micro-silos llenos fueron sellados herméticamente y almacenados a temperatura ambiente. Además, se elaboraron tres silos de 50 L de capacidad correspondientes a cada uno de los tratamientos de girasol, los cuales se utilizaron en una prueba posterior de aceptabilidad animal.

Para los tratamientos que incluyeron melaza, se aplicó 60 g de la misma por cada kilogramo de forraje fresco (6% de melaza). En el caso de los ensilajes elaborados en mezcla con sorgo la proporción en área de los dos forrajes, soya:sorgo o girasol:sorgo, fue de 1:1.

5.1.5 Variables a cuantificar

5.1.5.1 Producción de biomasa o materia fresca (MF Mg ha^{-1})

Cuando los cultivo de soya y girasol alcanzaron el estado fenológico deseado (R6), se cosecharon cuatro muestras aleatorias de forraje por tratamiento (monocultivos y en combinación con sorgo), en un área que abarcó cuatro surcos por 2 m de largo (4.8 m^2) y se procedió a su pesaje para estimar la producción de forraje por extrapolación a 10000 m^2.

5.1.5.2 Materia seca de los forrajes (MS %)

De las muestras usadas para la estimación de producción de biomasa, se tomó una submuestra de aproximadamente 500 g por cultivo (soya, girasol y sorgo), la cual se secó en un horno de aire forzado a 65°C por 72 horas. El porcentaje de MS fue calculado considerando el peso inicial y final de la muestra.

5.1.5.3 Rendimiento de materia seca (RMS Mg ha^{-1})

Con los valores estimados de producción de forraje fresco y proporción de materia seca se calculó el RMS, para cada combinación de tratamiento y cultivo.

5.1.5.4 Variables nutricionales y productos de fermentación de los ensilajes

Se abrieron los silos luego de períodos mayores a 30 días de fermentación para colectar muestras de aproximadamente de 500 g de ensilaje de cada uno. Las muestran se colocaron en bolsas plásticas con cierre hermético, se congelaron y se enviaron al laboratorio comercial Dairy One Forage Lab en Ithaca, Nueva York. El protocolo de muestreo del ensilaje y manejo de las muestras fue de acuerdo a los términos establecidos por el laboratorio. Los análisis solicitados fueron los mismos descritos en el primer experimento. Como parte de las variables nutricionales se calculó el VRF. También se estimó la pérdida

de MS durante el proceso de fermentación, utilizando el peso inicial y final del silo, corregido por el contenido de MS.

5.1.5.5 Variables indicativas de la estabilidad aeróbica

La EA fue evaluada utilizando muestras de 1500 g de ensilaje de cada silo y siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente en el primer experimento. Además, se calculó la pérdida de MS después de los 7 días de exposición aeróbica utilizando el peso inicial y final de las muestras de ensilaje expuestas, corregido por el porcentaje de MS.

5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1 Ensilaje de soya (Experimento II)

5.2.1.1 Rendimiento de materia seca (RMS)

La producción de forraje fresco y el RMS presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) al comparar soya en monocultivo (S) en estado R6 y su con combinación con sorgo (SS). El tratamiento S registró la menor producción de biomasa (9.3 Mg ha^{-1}) y menor RMS (2.7 Mg ha^{-1}). Para la combinación de forraje (SS) se obtuvo 41.01% más de biomasa y un RMS superior en un 47.37% (Tabla 15). El RMS del S fue menor en 4.5 Mg ha^{-1} con relación al rendimiento obtenido en el experimento I con la misma Línea y estado fenológico; también fue mucho menor a los valores publicados por Tobía y Villalobos (2004) y Tobía et al. (2006).

Tabla 15. Producción de biomasa, porcentaje y rendimiento de materia seca, y proporción de mezcla con sorgo de forraje de soya (Línea 22-3) cosechada en el estado fenológico R6

Variables	Soya	Soya : Sorgo
Biomasa (Mg ha^{-1})	9.3[b]	13.1[a]
MS[1] (%)	29.28[a]	30.60[a]
RMS[2] (Mg ha^{-1})	2.7[b]	4.0[a]
Proporción S:S en BH[3]	100:00	35:65
Proporción S:S en BS[4]	100:00	34:66

[1] Materia seca; [2] Rendimiento de materia seca; [3] Proporción soya : sorgo en base húmeda; [4] Proporción soya : sorgo en base seca. Dentro de la misma fila promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El efecto positivo en la producción de MF y MS al combinar soya con sorgo concuerda con otros informes. Serbester et al. (2015), obtuvieron mayores rendimientos al comparar soya en monocultivo versus soya intercalada con maíz en las tres proporciones (1:1, 2:1 y 1:2) y los dos estados de madurez (en 3/5 y ¼ de línea de leche). La producción promedio de biomasa y MS de soya en monocultivo fue de 31.2 y 6.9 Mg ha^{-1}, y de soya intercalada con maíz 39.3 y 10.4 Mg ha^{-1}, respectivamente. Esto significa que intercalar la soya con maíz generó un 25.96% más de biomasa y un 51.33% más en MS. Aquel incremento porcentual en el RMS es similar al obtenido en el presente estudio con soya y sorgo, pero las producciones presentes son bajas comparativamente. Lima et al. (2010), evaluaron dos variedades de sorgo (CIAP 2E y CIAP 49V-95) en estado de grano pastoso, combinadas con

soya (INCASOY-35) y obtuvieron rendimientos de 14.6 y 12.2 Mg ha^{-1} MS, donde la soya aportó un 35.2% y 38.7% de la MS total, respectivamente.

La combinación de soya con sorgo resultó en un pequeño incremento, no significativo ($p > 0.05$), en el % MS en comparación con el monocultivo. El valor promedio para los dos tratamientos combinado fue de 29.94% MS (Tabla 15). Serbester et al. (2015), encontraron 21.96% MS en la soya en monocultivo y 26.38% MS al intercalarla con maíz. Por su parte, Lima et al. (2010), obtuvieron 28.6% MS para soya pura y para una combinación de 40% soya y 60% sorgo (variedades CIAP 2E y CIAP 49V-95), valores de 34.9% y 28.6%.

La siembra de los dos forrajes en áreas iguales generó una proporción de 35% soya y 65% sorgo en base húmeda, y 34 % soya con 66% de sorgo en base seca. Serbester et al. (2015), informaron una composición botánica de: 31.8% soya con 68.2% de maíz y 33.7 % soya con 66.3% de maíz, a las respectivas edades de cosecha del maíz (3/5 y ¼ de línea de leche), con una siembra intercalada de uno a uno. Estas proporciones son similares a las obtenidas en el presente estudio y a las observadas por Lima et al. (2010) para soya en combinación con sorgo. La presente proporción soya:sorgo es adecuada conforme las recomendaciones de Abdelhadi (2005) y Romero y Aronna (2003).

5.2.1.2 Características nutricionales

La inclusión de 6% de melaza (SM) y la mezcla con forraje de sorgo (SS) mostraron una reducción en el contenido de FDA con respecto al ensilaje de solo soya (S), pero ésta no alcanzó significancia ($p > 0.05$), obteniendo un promedio para los tres ensilajes de 34.93% (Tabla 16). Serbester et al. (2015), también observaron una reducción, significativa en su caso, en el contenido de FDA al comparar ensilaje de soya en monocultivo (29.9 - 24.7 %) versus soya intercalada con maíz (27.17 - 24.47 %) en diferentes proporciones. En cuanto al efecto de la melaza, Tobía et al. (2008), también señalaron que el contenido de FDA decreció (significativamente) con dicha inclusión; siendo sus valores promedio para ensilaje de soya sin melaza de 37.0% y para soya con 6% de melaza de 26.7% FDA.

Tabla 16. Contenidos promedio de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales y energía neta, y valor relativo del forraje de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6 sola, con adición de melaza y en mezcla con sorgo

Tratamientos	MS PRE[1]	MS Ensilaje[2]	PB[3]	FDA[4]	FDN[5]	NDT[6]	ENl[7]	ENm[8]	ENg[9]	VRF[10]
	%						Mcal/kg			
S[11]	29.28[a]	35.13[b]	23.25[a]	35.45[a]	44.00[a]	58.25[a]	1.31[a]	1.19[a]	0.63[a]	130[a]
SM[12]	-	38.15[a]	22.15[a]	33.95[a]	40.53[a]	58.50[a]	1.35[a]	1.23[a]	0.67[a]	144[a]
SS[13]	30.60[a]	31.75[c]	16.18[b]	35.38[a]	55.70[b]	54.00[b]	1.13[b]	1.04[b]	0.49[b]	103[b]

[1] Materia seca pre-marchitamiento; [2] Materia seca del ensilaje; [3]Proteína bruta; [4] Fibra detergente ácido; [5] Fibra detergente neutro; [6] Nutrientes digeribles totales; [7] Energía neta de lactancia; [8] Energía neta de mantenimiento; [9] Energía neta de ganancia; [10] Valor relativo del forraje; [11] Soya (control); [12] Soya + 6% de melaza; [13] Soya + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El contenido de MS de estos ensilajes refleja el hecho que los forrajes ensilados fueron sometidos a un proceso de marchitamiento previo, aunque ésta no fuera una variable evaluativa en la presente investigación. El contenido de MS fue significativamente diferente ($p < 0.05$) entre los ensilajes de los tres tratamientos con valores de 35.13, 38.15 y 31.75% para S, SM y SS, respectivamente (Tabla 16). La inclusión de 6% de melaza generó un incremento de 3.02 unidades porcentuales respecto al tratamiento S, esto debido al alto contenido de MS de la melaza (83.93%). Análogamente, Tobía et al. (2008), obtuvieron un incremento ($p < 0.05$) similar desde 25.1% MS para ensilaje de soya sin melaza hasta 29.8% para soya con adición de 6% de melaza. Serbester et al. (2015), compararon ensilaje de soya en monocultivo versus su asociación con maíz y obtuvieron respectivos valores de 19.7 - 24.1% y 24.6 - 28.2% MS. Lima et al. (2010), hicieron lo mismo con sorgo y observaron 29.9% para soya pura versus 34.5 y 34.6% MS para combinaciones con 60% de sorgo. Semejante aumento en el contenido de MS al combinar soya con una gramínea no fue obtenido en la presente investigación, donde la diferencia favoreció la soya sola. Esta discrepancia en resultados puede ser atribuida al proceso de marchitamiento que recibieron los forrajes, ya que se pudo apreciar una mayor deshidratación de la soya sola que de su combinación con sorgo.

En cuanto a los contenidos de PB, FDN, NDT, ENl, ENm y ENg, y VRF, los ensilajes S y SM no difirieron entre sí ($p > 0.05$), pero difirieron del ensilaje SS ($p < 0.05$) (Tabla 16). Los contenidos de PB y FDN mostraron una reducción de 1.1 y 3.47 unidades porcentuales en relación al tratamiento S al incluir la melaza (6%), pero ésta no fue significativa ($p > 0.05$).

Tobía et al. (2008), también observaron un efecto reductor de la inclusión de 6% melaza en ensilajes de soya sobre el contenido de PB (25.1% vs 19.0%) y FDN (42.6% vs 32.5%). La reducción en los niveles de PB y FDN refleja un efecto diluyente de un aditivo (melaza) que es no fibroso y ni proteico. La ausencia de diferencias ($p > 0.05$) entre S y SM en contenido energético expresado a través del valor de NDT y ENl, concuerda con los hallazgos de Tobía et al. (2008). El valor promedio de S y SM combinados de ENl (1.33 Mcal Kg^{-1} MS) es 11.27% más bajo que lo estimado en aquel caso.

En el ensilaje SS se registró el mayor promedio de FDN (55.70%) y los menores de PB (16.18%); NDT (54.00%); ENl, ENm y ENg (1.13, 1.04 y 0.49 Mcal kg^{-1} MS, respectivamente); y VRF (103). El ensilaje SS tuvo valores de 6.52 y 0.20 unidades menos de PB y ENl, respectivamente, en relación al promedio común de los otros dos tratamientos, mientras que el valor de FDN fue 13.44 unidades porcentuales mayor (Tabla 16). La reducción ($p < 0.05$) de la PB e incremento de la FDN, al combinar soya con una gramínea (SS), concuerda con resultados obtenidos por Serbester et al. (2015) (11.3 vs 8.77% PB y 43.4 a 39.3 vs 48.07 a 42.93 % FDN) y Lima et al. (2010) (14.8 vs 9.1 a 12.4% PB y 49.2 vs 53.3 a 51.3% FDN). De acuerdo a sus respectivos valores promedio de VRF (137 y 103), los ensilajes S y SM tendrían una calidad de primera y el ensilaje SS una calidad de segunda (Tabla 16).

5.2.1.3 Productos de fermentación

La inclusión de 6% de melaza (SM) y la mezcla con forraje de sorgo (SS) mejoraron las características de fermentación del ensilaje de soya, mostrando un efecto ($p < 0.05$) favorable sobre el pH, ácido láctico (AL), ácido acético (AA), relación L/A, ácido propiónico (AP), ácido butírico (AB), APE y NH_3-N. Los tres tratamientos fueron diferentes ($p < 0.05$) entre sí en cuando al pH, APE y NH_3-N (Tabla 17). El ensilaje SS presentó los menores ($p < 0.05$) valores de pH y APE, y el mayor ($p < 0.05$) de AL, además registró promedios de AA de 2.88%, L/A de 2.93, AP de 0.01%, AB de 0.03%, AT de 10.74% y NH_3-N de 8.25%. En éste último presentó un valor 3 unidades porcentuales menor que el ensilaje S, pero 1.50 unidades mayor que el ensilaje SM (Tabla 17). Serbester et al. (2015), también obtuvieron mejores valores de pH en ensilaje de soya intercalada de maíz (3.98) versus soya en

monocultivo (5.5); Lima et al. (2010), obtuvieron análogo resultado al comparar ensilaje de soya pura (5.47) con ensilaje de soya combinada con 60% de sorgo (4.29 - 4.11). La combinación de leguminosa-gramínea también limitó la degradación de la proteína, lo cual es apreciable en el menor contenido de NH_3-N al comparar el ensilaje SS con S. Lima et al. (2010), también obtuvieron una reducción del NH_3-N al combinar soya con sorgo. En evaluaciones hechas con ensilaje de alfalfa la inclusión de bagazo de manzana y uva también disminuyó la degradación de la proteína, registrado 11.6 y 3.47 % NH_3-N para el tratamiento control y los con bagazo, respectivamente (Ke et al. 2015). Jatkauskas y Vrotniakiene (2011), comunicaron un mayor pH (5.55) y menor NH_3-N (9.2%) en otro ensilaje de leguminosa-gramínea, con respecto al tratamiento de soya-sorgo de la presenten investigación (Tabla 17).

Al igual que la mezcla con gramínea, la adición de melaza también mejoró el pH y contenido de NH_3-N del ensilaje de soya (Tabla 17). Tobía et al. (2008), también verificaron una reducción en pH y NH_3-N a medida se incrementó la concentración de melaza; siendo los respectivos valores 5.81 y 21.1% para el tratamiento control y 4.03 y 7.8% para el tratamiento con 6% de melaza.

Tabla 17. Características fermentativas de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6

Tratamientos	pH	A. láctico	A. acético	Láctico/Acético	A. propiónico	A. butírico	A. isobutírico	A. totales	APE[1]	NH_3-N[2]	PMS1[3]
		%			%						
S[4]	5.00^{c}	5.77^{b}	4.02^{b}	1.44^{b}	0.08^{b}	0.12^{b}	0.18^{a}	10.15^{ab}	2.58^{c}	11.25^{c}	10.04^{a}
SM[5]	4.45^{b}	6.31^{b}	2.89^{a}	2.20^{ab}	0.00^{a}	0.00^{a}	0.00^{a}	9.20^{a}	1.50^{b}	6.75^{a}	12.33^{a}
SS[6]	4.13^{a}	7.82^{a}	2.88^{a}	2.93^{a}	0.01^{a}	0.03^{a}	0.00^{a}	10.74^{b}	1.31^{a}	8.25^{b}	10.97^{a}

[1] Amonio proteína equivalente; [2] Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total; [3] Pérdidas de materia seca durante la fermentación; [4] Soya (control); [5] Soya + 6% de melaza; [6] Soya + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En cuanto a la relación L/A y al contenido de los ácidos acético, propiónico, butírico e isobutírico, los valores difirieron ($p < 0.05$) al comparar el ensilaje SS con S, pero no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los ensilaje SS y SM. El ensilaje SS presentó 0.87, 1.14, 0.07, 0.09 y 1.27 unidades menos de pH, AA, AP, AB, y APE respectivamente, en relación al ensilaje S; mientras que el AL y la relación L/A fueron mayores en 2.05 y 1.49 unidades (Tabla 17). El efecto beneficioso obtenido con la mezcla de leguminosa-gramínea en términos de AL, AA y AB concuerda con lo observado por Lima et al. (2010), de un aumento en AL y reducciones en AA y AB al combinar soya con 60% de sorgo (variedad

CIAP 2E). Además señalaron un efecto positivo de la adicción de melaza (3.5%), basados en un menor pH y en un aumento y reducción del lactato y acetato, respectivamente. Para otro ensilaje de leguminosa-gramínea (trébol rojo-raigrás perenne) Jatkauskas y Vrotniakiene (2011), dieron valores de concentraciones de 1.39% AL, 1.82% AA, 0.07% AP y 3.75% AB. Aquellos valores de AL y AA son menores y los de AP y AB son mayores con respecto a los resultados presentes para la mezcla de soya-sorgo. Ke et al. (2015), informaron un efecto similar, en ensilaje de alfalfa combinado con bagazo de manzana y uva, al obtenido con la mezcla de soya-sorgo en el presente estudio en cuanto al incremento en el contenido AL y la reducción del AA.

El efecto beneficioso en la fermentación de ensilaje de soya con la inclusión de 6% de melaza se refleja también en menores ($p < 0.05$) contenidos de AA y AB. En cambio, las concentraciones de AL y ácidos totales no difirieron ($p > 0.05$) entre los ensilajes S y SM. (Tabla 17). De modo similar Tobía et al. (2008), también obtuvieron un incremento en el contenido de AL (significativo en su caso) y una reducción del nivel de AA y AB en ensilaje de soya con adición de 6% de melaza.

Por otra lado, no se encontró efectos significativos ($p > 0.05$) sobre el contenido de ácido isobutírico ni la pérdida de MS ocurrida durante el proceso de fermentación (PMS1) (Tabla 17). El promedio general de PMS1 fue de 11.11%, un valor similar al de 12.3% obtenido por Jatkauskas y Vrotniakiene (2011), para ensilaje de leguminosa-gramínea (trébol rojo-raigrás perenne) en un periodo de 90 días de fermentación. Estas PMS1 son mayores a las típicas de ensilajes tradicionales, como los de maíz (2.4-3.4%) y sorgo (2.0-2.8%) (Tabacco et al. 2011).

5.2.1.4 Estabilidad aeróbica

La determinación de la EA durante 7 días de exposición al aire presentó un efecto interactivo significativo ($p < 0.05$) entre los tratamientos y el tiempo de exposición sobre el pH y la temperatura (Tabla 18). Al día cero el pH del ensilaje SS (3.85) fue significativamente diferente ($p < 0.05$) de S (4.45) pero no de SM (4.24). Luego los ensilajes S, SM y SS mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el pH hasta el quinto día de exposición. Así la mayor diferencia inicial (SS vs S) fue de 0.6 unidades. A los días 1, 3 y 5 el pH más bajo

siguió correspondiendo al tratamiento SS (4.04 a 4.01) y el más alto al S (4.78 a 4.86). A los 7 días de exposición las diferencias entre tratamientos dejaron de ser significativas. En cuanto a la temperatura, los tratamientos no difirieron significativamente ($p > 0.05$) entre sí a los 0, 1 y 3 días de exposición aeróbica, mostrando respectivos promedios de 25.75, 21.58 y 25.57°C. Al quinto y séptimo día de exposición al aire el tratamiento SS registró la mayor temperatura (Figura 4), siendo diferente ($p < 0.05$) a S y SM; mientras estos últimos no difirieron significativamente ($p > 0.05$) entre sí (Tabla 18).

Tabla 18. Comportamiento del pH y la temperatura de ensilajes de soya (Línea 22-3) en estado R6 a 0, 1, 3, 5 y 7 días de exposición aeróbica

Tratamientos	pH					Temperatura °C				
	Días de exposición									
	0	1	3	5	7	0	1	3	5	7
S[1]	4.45[b]	4.79[c]	4.78[c]	4.86[c]	4.88[a]	25.85[a]	21.25[a]	25.58[a]	24.30[a]	29.58[a]
SM[2]	4.24[ab]	4.43[b]	4.41[b]	4.34[b]	4.33[a]	26.10[a]	22.23[a]	25.58[a]	24.43[a]	29.83[a]
SS[3]	3.85[a]	4.04[a]	4.01[a]	4.01[a]	4.30[a]	25.30[a]	21.25[a]	25.55[a]	28.63[b]	37.38[b]

[1] Soya (control); [2] Soya + 6% de melaza; [3] Soya + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El efecto principal de tratamiento fue significativo ($p < 0.05$) sobre el pH, la temperatura y la pérdida de MS durante la exposición al aire (PMS2), pero no sobre el tiempo que demoraron los ensilajes en incrementar 2°C por encima de la temperatura ambiente ($p > 0.05$) (Tabla 19). El pH difirió significativamente ($p < 0.05$) entre los tres tratamientos registrado valores de 4.75, 4.35 y 4.04 para S, SM y SS, respectivamente. La temperatura y la PMS2 de S (25.31°C y 3.66%) y SM (25.63°C y 4.05%) fueron significativamente menores ($p < 0.05$) a las de SS (27.62°C y 8.40%), pero iguales entre sí. El ensilaje SS tuvo 4.55 unidades porcentuales más de PMS2 en comparación con el promedio de S y SM. Como promedio general los ensilajes presentaron 114 h de EA (Tabla 19); y de acuerdo al comportamiento de su temperatura con respecto a la temperatura del ambiente (Figura 4), la estabilidad mostró variaciones de 88 a 125 horas aproximadamente. Considerando que el aumento de temperatura y pH, y las pérdidas de MS son indicadores de la inestabilidad (Martínez y De la Roza 1999), queda claro que en el caso presente el uso del pH como guía única de la EA de los ensilajes no es adecuado, ya que la mayor temperatura y PMS2, así como el menor tiempo de estabilidad, están en desacuerdo con el menor pH que presentó el

tratamiento SS. Además, la diferencia en pH obtenida entre S y SM tampoco se refleja en la temperatura, tiempo de estabilidad y PMS2 de estos tratamientos (Tabla 19).

De forma general, los indicadores de EA, excepto el pH, no señalan una mejoría debido a la inclusión de la melaza (Tabla 19). Esto concuerda con observaciones de Huisden et al. (2009), al adicionar 3% de melaza a ensilaje de maíz (con base en la MS del forraje) sin mejorar la EA. Sin embargo, Soper y Owen (1977), usaron una solución amoniaco-melaza-mineral como aditivo a ensilaje de maíz y lograron mejorías en una menor pérdida de MS, preservación de la PB, así como en la estabilidad de la temperatura, después de una exposición al ambiente de 48 horas.

Tabla 19. Efecto de la inclusión de melaza y mezcla de forraje con sorgo sobre la estabilidad aeróbica de ensilaje de soya (Línea 22-3) en estado R6

Tratamientos	pH	Temperatura	Estabilidad Aeróbica	PMS2[1]
		°C	H	%
S[2]	4.75[c]	25.31[a]	133[a]	3.66[a]
SM[3]	4.35[b]	25.63[a]	117[a]	4.05[a]
SS[4]	4.04[a]	27.62[b]	93[a]	8.40[b]

[1] Pérdidas de materia seca a los 7 días de exposición aeróbica; [2] Soya (control); [3] Soya + 6% de melaza; [4] Soya + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La mayor temperatura y PMS2, así como el menor tiempo de estabilidad (aunque no significativo), registrados para el tratamiento SS, muestran que la mezcla de soya con sorgo promueve la inestabilidad aeróbica del ensilaje (Tabla 19). Esto concuerda con los resultados encontrados por Barbosa et al. (2011) al asociar ensilajes de maíz y soya en diferentes proporciones y registrar temperatura y pH más altos, y tiempo de estabilidad más corto en los tratamientos que incluyeron 10 y 15% de soya. Ke et al. (2015) observaron una EA reducida al mezclar ensilaje de alfalfa con bagazo de manzana y uva. El presente tiempo de estabilidad del ensilaje SS (93 h) fue menor al registrado por Jatkauskas y Vrotniakiene (2011), para otra mezcla de leguminosa-gramínea (192 h). El mayor valor de PMS2 obtenido en el presente estudio fue menor que los de ensilajes de pasturas en clima tropical. Rodríguez et al. (1997), recuperaron 89.20% de la MS de ensilajes de pasturas tropicales al tercer día de exposición aeróbica.

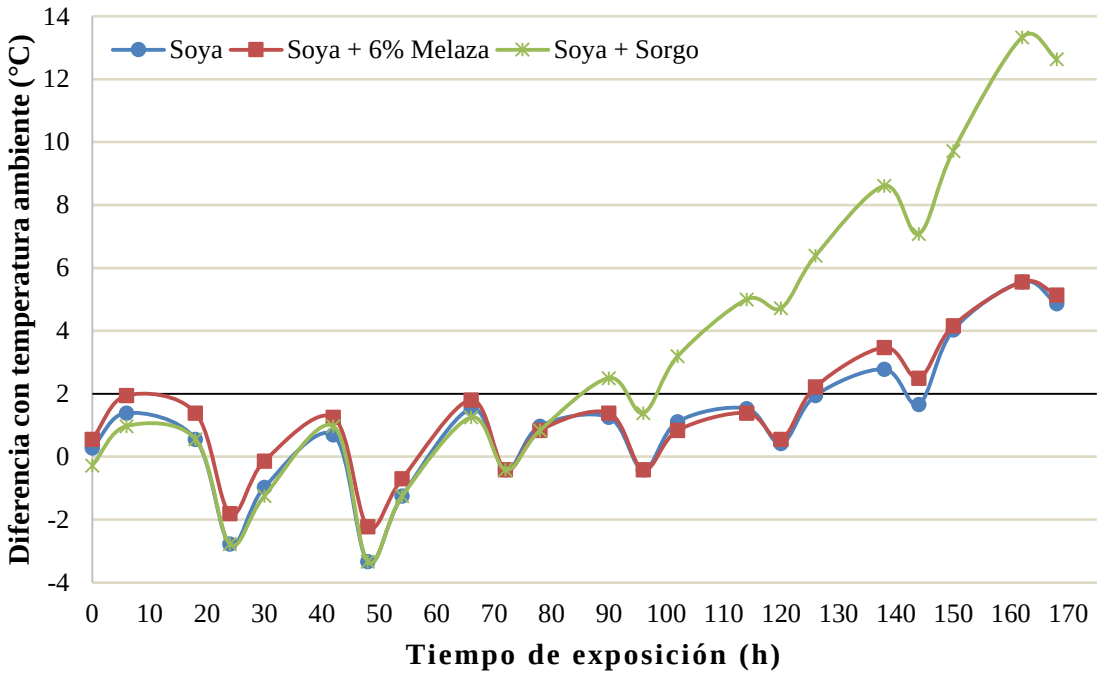

Figura 4. Diferencia de temperaturas observadas durante la exposición al aire de ensilajes de soya en estado R6 (semilla completamente desarrollada)

El análisis de regresión mostró una relación significativa del tiempo de exposición al aire con la diferencia entre la temperatura observada y la ambiental, de los ensilajes de soya ($p < 0.05$), pero no así ($p > 0.05$) con su pH. Para los tres tratamientos la regresión de tiempo de exposición por diferencia de temperaturas fue ajustada a un modelo cuadrático (Figura 5). El incremento de temperatura de los ensilajes a mayor tiempo de exposición al aire, ha sido observado también por Mier (2009), Emanuelli (2014) y González y Rodríguez (2003), en sus investigaciones con ensilajes de maíz, caña de azúcar y forrajes tropicales, respectivamente; pero aquellos autores también verificaron una tendencia significativa de incremento del pH a través del tiempo, a diferencia de la presente evaluación de los ensilajes de soya.

Para el ensilaje S el R^2 obtenido fue de 0.69 y de acuerdo a la ecuación de regresión establecida, este ensilaje tendría una estabilidad de 133 horas. El R^2 para los ensilajes SM y SS fue de 0.73 y 0.94, y la predicción del tiempo de estabilidad aeróbica sería de 129 y 90 horas, respectivamente (Figura 5). Así el menor tiempo de EA para el ensilaje SS queda verificado por la estimación hecha a través de la ecuación de regresión.

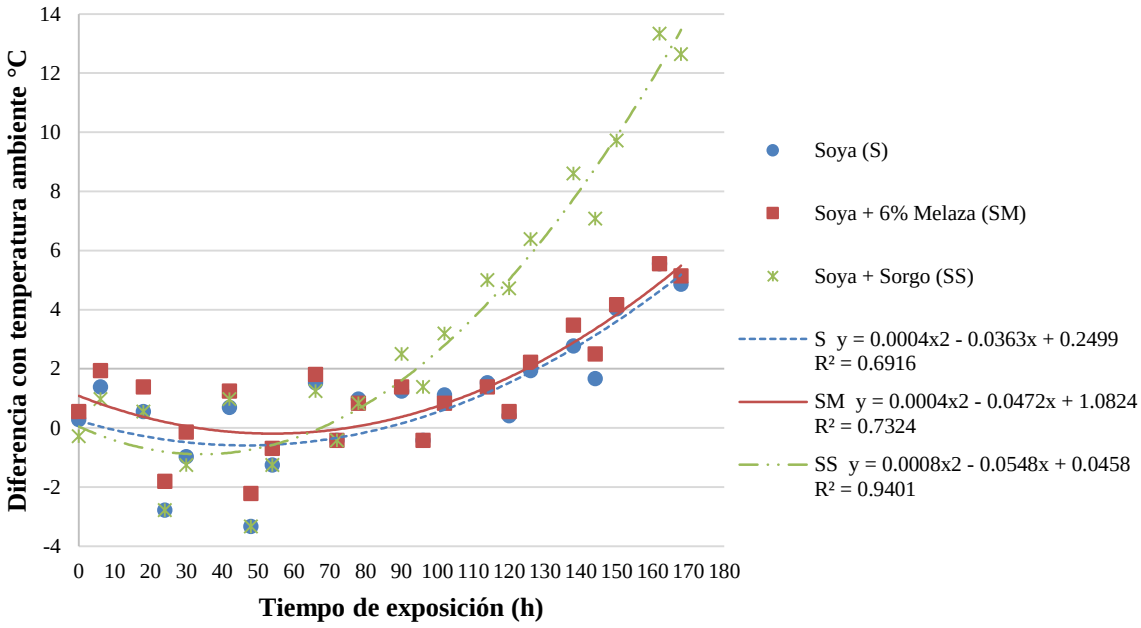

Figura 5. Regresión entre el tiempo de exposición aeróbica y la diferencia entre la temperatura observada y la ambiental de ensilajes de soya en estado R6 (semilla completamente desarrollada)

5.2.2 Ensilaje de girasol (Experimento II)

5.2.2.1 Rendimiento de materia seca (RMS)

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la biomasa producida, al comparar girasol solo (G) con girasol en combinación con sorgo (GS), siendo el valor promedio de 28.8 Mg ha^{-1}. Sin embargo, el porcentaje de MS y el RMS difirieron significativamente ($p < 0.05$). El forraje de tratamiento G presentó 14.11% MS, que fue menor a GS en 3.58 unidades porcentuales. GS dio un RMS (5.4 Mg ha^{-1}) mayor ($p < 0.05$) que el de G, por un margen relativo de 44.65%. La siembra de ambos cultivos en áreas iguales generó en el forraje cosechado proporciones de 69% girasol con 31% sorgo en base húmeda y 56% girasol con 44% sorgo en base seca (Tabla 20).

Tabla 20. Producción de biomasa, porcentaje y rendimiento de materia seca, y proporción de mezcla con sorgo en girasol (Variedad Torino) cosechado en estado fenológico R6

Variables	Girasol	Girasol:Sorgo
Biomasa (Mg ha^{-1})	26.7[a]	30.9[a]
MS[1] (%)	14.11[b]	17.69[a]
RMS[2] (Mg ha^{-1})	3.8[b]	5.4[a]
Proporción G:S en BH[3]	100:0	69:31
Proporción G:S en BS[4]	100:0	56:44

[1] Materia seca; [2] Rendimiento de materia seca; [3] Proporción girasol : sorgo en base húmeda; [4] Proporción girasol : sorgo en base seca. Dentro de la misma fila promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los resultados demuestran la opción de mejorar el contenido de MS de forraje de girasol mediante una inter-siembra con sorgo (Tabla 20). Esto concuerda con resultados obtenidos con otros cultivos de alta humedad (leguminosas). Lima et al. (2010), al comparar soya sola y soya combinada con sorgo (CIAP 2E) encontraron incrementos en el contenido de MS, de 6.3 y 4.2 unidades porcentuales en referencia al 26.8% de MS de soya pura. La inter-siembra de GS también resultó en mayor RMS (Tabla 20). En cambio, Nassab et al. (2011), obtuvieron mayor RMS, tanto para girasol (16.8-16.3 Mg ha^{-1}) como para maíz (13.7-15.4 Mg ha^{-1}) en monocultivo, comparados con la inter-siembra. Aquellos resultados sugieren que una tasa de asociación de 67% maíz con 33% girasol puede dar un rendimiento de 12.4-14.5 Mg ha^{-1}. Por su parte, Serbester et al. (2015), lograron mejorar el RMS de monocultivos como el de soya, mediante la combinación con maíz, pero no así al comparar maíz en monocultivo versus su combinación con soya.

5.2.2.2 Características nutricionales

Los ensilajes de los tres tratamientos de girasol cosechados en estado fenológico R6 presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en % MS; aunque el ensilaje con 6% de melaza (GM) y el de mezcla con sorgo (GS) no difirieron ($p > 0.05$) entre sí, fueron superiores ($p < 0.05$) al ensilaje de girasol solo (G). Aquellos presentaron un promedio de 18.14% MS, siendo mayor al valor de G en 2.26 unidades porcentuales (Tabla 21). Esto concuerda con resultados obtenidos por Serbester et al. (2015), al combinar otro cultivo de alta humedad, como es la soya, con una gramínea o al adicionar melaza, de incrementos en el contenido de MS relativo al de soya en monocultivo desde 3.6 hasta 6.1 unidades porcentuales. Tobía et al. (2008), agregaron 9% de melaza a ensilaje de soya aumentando así el contenido de MS por 5.9 unidades porcentuales. Valdez et al. (1988), no encontraron diferencias en el contenido de MS al comparar ensilajes de maíz (25.1%), maíz-girasol (23.4) y girasol (22.8).

Tabla 21. Contenidos de materia seca, proteína bruta, fibra detergente ácido y neutro, nutrientes digeribles totales, energía neta y valor relativo del forraje de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado R6 solo, con adición de melaza y en mezcla con sorgo

Tratamientos	MS PRE[1]	MS Ensilaje[2]	PB[3]	FDA[4]	FDN[5]	NDT[6]	ENl[7]	ENm[8]	ENg[9]	VRF[10]
	%						Mcal/kg			
G[11]	14.11[b]	15.88[b]	8.93[b]	35.80[b]	45.83[b]	56.50[b]	1.27[b]	1.14[b]	0.58[b]	124[b]
GM[12]	-	18.20[a]	10.20[b]	29.48[a]	39.13[a]	58.75[a]	1.36[a]	1.23[a]	0.66[a]	158[a]
GS[13]	17.69[a]	18.07[a]	13.07[a]	36.80[b]	50.23[c]	55.67[b]	1.21[c]	1.10[c]	0.54[c]	112[b]

[1] Materia seca pre-marchitamiento; [2] Materia seca del ensilaje; [3]Proteína bruta; [4] Fibra detergente ácido; [5] Fibra detergente neutro; [6] Nutrientes digeribles totales; [7] Energía neta de lactancia; [8] Energía neta de mantenimiento; [9] Energía neta de ganancia; [10] Valor relativo del forraje; [11] Girasol (control); [12] Girasol + 6% de melaza; [13] Girasol + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El ensilaje GS presentó el mayor contenido ($p < 0.05$) de PB (13.07%) que los ensilajes de G y GM. Estos últimos no presentaron diferencias ($p > 0.05$) entre sí, y su promedio fue de 9.57% PB. La inclusión de melaza generaría lógicamente un efecto de dilución de PB (Tobía et al. 2008), pero sorprendentemente en el presente estudio este efecto no se aprecia. Hay evidencia de una menor degradación de la PB en el caso del ensilaje con melaza en comparación con el G, a juzgar por los contenidos de NH_3-N y AB (Tabla 22), pero es difícil saber qué efecto tendría esto sobre el porcentaje de nitrógeno determinado por el método Kjeldahl. Serbester et al. (2015), encontraron para otro cultivo alto en proteína un

efecto reductor de la misma al combinarlo con una gramínea, pero este efecto no se reflejó en el ensilaje de girasol al combinarlo con sorgo. Valdez et al. (1988), determinaron contenidos de PB similares de 10.6 y 10.4% para ensilajes de girasol y girasol-maíz, respectivamente.

En cuanto a la FDN y el nivel energético, los tres tratamientos fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre sí. El ensilaje GS presentó mayor contenido de FDN (50.23%) y los menores valores para ENl, ENm y ENg (1.21, 1.10 y 0.54 Mcal kg^{-1} MS, respectivamente). Esto significa márgenes de diferencia entre los ensilajes GM y GS de 11.1 unidades en FDN y 0.15, 0.13 y 0.12 unidades en los tres respectivos criterios de energía neta. Para la FDA, NDT y VRF no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) entre los ensilajes de G y GS, pero estos dos difieren significativamente ($p < 0.05$) del ensilaje GM. El promedio de FDA para los ensilajes G y GS fue de 36.30% o 6.82 unidades mayor al de GM. Para ensilaje de GM se estimó un 58.75% NDT lo que supera al promedio de G y GS en 2.67 unidades. Los ensilajes G y GS recibieron un VRF promedio de 118, de acuerdo al cual tendrían una calidad de segunda, mientras que GM obtuvo un valor de 158, lo cual representa una excelente calidad del forraje (Tabla 21).

Tobía et al. (2008), plantean que los contenidos de FDN y FDA decrecen linealmente con el incremento en la concentración de melaza (aditivo no fibroso), a la vez que aumenta el contenido energético (NTD y EN). Esto concuerda con los resultados presentes. Tobía et al. (2008), observaron que la ENl de ensilaje de soya pasó de 1.47 a 1.52 Mcal kg^{-1} MS con una inclusión de 3% de melaza; y con 6% de melaza los niveles de FDN y FDA disminuyeron en 10.1 y 10.3 unidades porcentuales, respectivamente. Por otro lado, Valdez et al. (1988), notaron un incremento en la concentración de FDN y FDA, y una reducción en la energía bruta (EB) para ensilaje de girasol-maíz en relación a girasol solo. Este efecto sobre la fracción fibrosa se vio al combinar el forraje de girasol con sorgo en el presente estudio. En ensilajes de girasol y girasol-maíz, Valdez et al. (1988), reportaron promedios de 43.5 y 51.5% FDN, 30.0 y 31.8% FDA, y 4.7 y 4.5 Mcal EB kg^{-1} MS, respectivamente.

5.2.2.3 Productos de fermentación

La inclusión de melaza (GM) y la mezcla con sorgo (GS) mejoraron las características de fermentación, relativo al ensilaje de girasol solo (G). Resultaron significativos ($p < 0.05$) los efectos sobre el pH, AP, AB, ácidos totales y NH_3-N (Tabla 22). Entre los ensilajes GM y GS no se encontraron diferencias ($p > 0.05$), siendo los respectivos valores promedio de 3.92, 0.01%, 0.04%, 13.34% y 5.21%, es decir 0.21, 0.09, 0.56, 2.02 y 2.79 unidades más bajos en comparación con los valores del tratamiento G. El ensilaje GM presentó el menor APE (0.48%), que fue significativamente diferente ($p < 0.05$) de los de G y GS, no habiendo diferencia ($p > 0.05$) entre éstos, cuyo promedio de fue 0.72%. La mayor pérdida de MS durante la fermentación (PMS1) se registró en el tratamiento de GM (18.46%), un valor significativamente diferente ($p < 0.05$) del GS, pero no así ($p > 0.05$) del G. El margen de diferencia en esta variable fue de 11.48 unidades entre GS y GM (Tabla 22).

La utilidad del uso de melaza en el proceso de fermentación del ensilaje encuentra apoyo en las investigaciones de Tobía et al. (2008). Estos autores mejoraron las características de fermentación de ensilaje de soya al adicionar diferentes dosis de melaza; obteniendo valores de pH más bajos con 6 y 9% de melaza y valores decrecientes de NH_3-N, AB y AA, mientras en dirección opuesta cambiaron los niveles de ácidos orgánicos totales y AL. Huisden et al. (2009), informaron resultados similares al adicionar 3% de melaza a ensilaje de maíz.

Tabla 22. Características fermentativas de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado fenológico R6

Tratamientos	pH	A. láctico	A. acético	Láctico/Acético	A. propiónico	A. butírico	A. isobutírico	A. totales	APE[1]	NH_3-N[2]	PMS1[3]
		%			%						
G[4]	4.13[b]	11.69[a]	2.94[a]	4.10[a]	0.10[b]	0.60[b]	0.04[a]	15.36[b]	0.70[b]	8.00[b]	11.42[ab]
GM[5]	3.93[a]	10.94[a]	2.75[a]	4.11[a]	0.01[a]	0.04[a]	0.00[a]	13.73[a]	0.48[a]	4.75[a]	18.46[b]
GS[6]	3.90[a]	9.70[a]	3.32[a]	3.10[a]	0.01[a]	0.03[a]	0.00[a]	13.06[a]	0.73[b]	5.67[a]	6.98[a]

[1] Amonio proteína equivalente; [2] Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total; [3] Pérdidas de materia seca durante la fermentación; [4] Girasol (control); [5] Girasol + 6% de melaza; [6] Girasol + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Evaluaciones hechas por Valdez et al. (1988), con ensilaje de maíz, de girasol y de maíz-girasol (inter-cultivo) mostraron un pH similar entre maíz y maíz-girasol; respectivos contenidos de AL de 3.94, 3.73 y 2.92%; una concentración de acetato 31% más alta para

girasol y el inter-cultivo en relación a maíz; mayor concentración de propionato en girasol con respecto a maíz y un nivel medio para el inter-cultivo; concentraciones de AB bajas y similares entre tratamientos; y un contenido de NH_3-N de 7.8% en girasol y 6.9% en el ensilaje de inter-cultivo).

En el presente estudio, los contenidos de AL, AA, relación L/A y ácido isobutírico no difirieron significativamente ($p > 0.05$) entre tratamientos, presentado valores promedio de 10.78%, 3.00%, 3.77 y 0.01%, respectivamente (Tabla 22). De manera general los tres tratamientos resultaron en adecuadas características de fermentación en cumplimiento con los parámetros evaluativos propuestos por diferentes autores (Martínez et al. 1999; Kaiser y Piltz 2004; Seglar 2003; Chaverra y Bernal 2000; Dairy One 2014). Tanto la inclusión de melaza como la mezcla con sorgo permitieron mejorar algunas de las características de fermentación, sin embargo la inclusión de melaza generó la mayor pérdida de MS, difiriendo ($p < 0.05$) de GS, y no ($p > 0.05$) de G (Tabla 22). Huisden et al. (2009), comunicaron una recuperación de MS en ensilaje de maíz sin y con melaza de 94.5 y 96.3%, respectivamente, siendo estas tasas de recuperación indicativas de menores PMS1 que las observadas para girasol sin (11.42%) y con melaza (18.46%) en el presente estudio. En cuanto a la mezcla de forrajes, Valdez et al. (1988), encontraron en ensilaje de girasol una PMS1 de 15.6% y en ensilaje de maíz-girasol un 17.2%, los cuales superan a las de la presente investigación para ensilaje de girasol (11.42%) y girasol-sorgo (6.98%).

5.2.2.4 Estabilidad aeróbica

El análisis de los datos de pH reveló una interacción significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos y el tiempo de exposición. Los ensilajes G y GS difirieron significativamente ($p < 0.05$) en pH a 0 y 1 día de exposición, pero a partir del día 3 no había diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (Tabla 23). El menor pH a tiempo cero (3.59) y día 1 (3.68) de exposición correspondió al ensilaje GS, que difirió ($p < 0.05$) del G, pero no ($p > 0.05$) de GM, siendo los respectivos márgenes de diferencia de 0.16 y 0.15 unidades. A los 3, 5 y 7 días de exposición aeróbica el promedio de pH de los tres tratamientos fue de 6.26, 7.14, 7.37, respectivamente (Tabla 23).

Tabla 23. Comportamiento del pH de ensilajes de girasol (Variedad Torino) en estado R6 a 0, 1, 3, 5 y 7 días de exposición aeróbica

	pH				
	Días de exposición				
Tratamientos	0	1	3	5	7
G[1]	3.75[b]	3.83[b]	6.29[a]	7.20[a]	7.36[a]
GM[2]	3.65[ab]	3.76[ab]	6.16[a]	7.24[a]	7.35[a]
GS[3]	3.59[a]	3.68[a]	6.33[a]	6.99[a]	7.39[a]

[1] Girasol (control); [2] Girasol + 6% de melaza; [3] Girasol + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En la evaluación de la EA el efecto principal de tratamiento no fue significativo ($p > 0.05$) sobre el pH y la temperatura, pero sí afectó ($p < 0.05$) en el tiempo que los ensilajes demoraron en incrementar su temperatura, 2°C por encima de la ambiental (Tabla 24). El promedio general de pH y temperatura para los ensilajes de girasol fue de 5.64 y 27.69 °C.

El menor tiempo de estabilidad (32 horas) se registró con el tratamiento GM, que fue significativamente diferente de G y GS, mientras estos no difirieron entre sí. Además, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos para la pérdida de MS durante la exposición aeróbica (PMS2); siendo el tratamiento G (con 1.59 %) significativamente menor ($p < 0.05$) a GM y GS, pero sin diferencia ($p > 0.05$) entre éstos. La PMS2 promedio entre GM y GS fue de 7.16%, igual a 5.57 unidades más alta que la de G (Tabla 24).

El menor tiempo de estabilidad aeróbica registrado en el tratamiento GM guarda relación con su mayor promedio de temperatura (aunque no significativo) (Figura 6) y su mayor PMS2 en relación con el tratamiento de girasol puro. El alza de temperatura y mayor pérdida de MS son indicadores de la inestabilidad del ensilaje (Martínez y De la Roza 1999). El más corto tiempo de estabilidad que caracteriza a este tipo de ensilaje puede estar asociado a un mayor contenido de carbohidratos fermentables y a la fermentación del AL dominante (Piltz y Kaiser 2004). Es notable que el ensilaje con melaza presentó un fuerte olor a alcohol, lo cual indica que las levadoras tuvieron un rol activo durante la fermentación, generando altos niveles de etanol. Ensilajes con estas características son a menudo inestables durante la alimentación (Kaiser y Piltz 2004). Además, según Huisden et al. (2009), la inclusión de melaza en ensilaje de maíz no mejoró la EA.

El tiempo de estabilidad registrado para los tratamientos G y GS se asemeja a lo encontrado por Toruk y Koc (2009) para ensilaje de girasol en inicio de floración. Los ensilajes de girasol evaluados mostraron menores pérdidas de MS que ensilajes de pasturas tropical, los cuales, suelen presentar hasta 10.8% de pérdidas a los 3 días de exposición (Rodríguez et al. 1997).

Tabla 24. Efecto de la inclusión de melaza y mezcla de forraje con sorgo sobre variables indicativas de la estabilidad aeróbica de ensilaje de girasol (Variedad Torino) en estado R6

Tratamientos	pH	Temperatura	Estabilidad Aeróbica	PMS2[1]
		°C	h	%
G[2]	5.69[a]	27.22[a]	56[a]	1.59[a]
GM[3]	5.63[a]	28.56[a]	32[b]	6.93[b]
GS[4]	5.59[a]	27.28[a]	51[a]	7.38[b]

[1] Pérdidas de materia seca a los 7 días de exposición aeróbica; [2] Girasol (control); [3] Girasol + 6% de melaza; [4] Girasol + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La Figura 6 muestra el comportamiento de la variable definida como la diferencia entre la temperatura del ensilaje de girasol y la ambiental. De acuerdo a esta figura, la duración de la EA de los tres ensilajes evaluados estaría dentro de los límites aproximados de 29 a 51 horas de exposición. El similar comportamiento ($p > 0.05$) de los tratamientos G y GS en el incremento de temperatura y el tiempo de estabilidad confirma la información obtenida mediante el análisis de varianza. Esto es opuesto a lo encontrado en algunos estudios de otras mezclas de forraje; Barbosa et al. (2011) señalaron una menor estabilidad para ensilajes de maíz combinados con soya respecto a los ensilajes de maíz y soya puros.

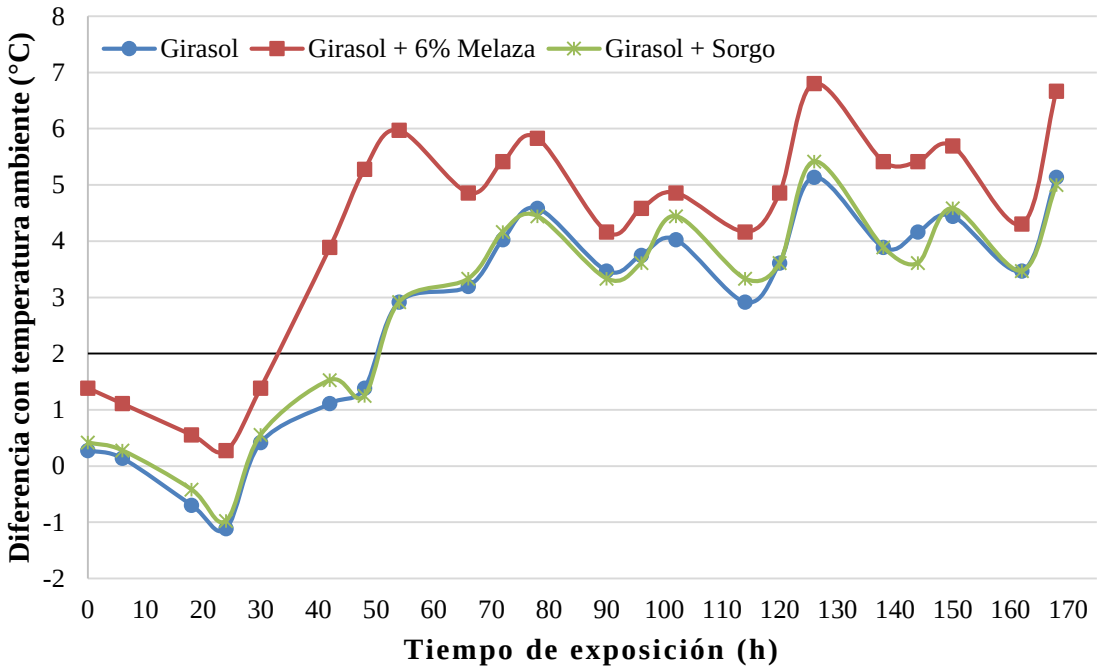

Figura 6. Diferencia de temperaturas observadas durante la exposición al aire de ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas)

El efecto principal del tiempo de exposición al aire fue significativo ($p < 0.05$) sobre el pH y la temperatura del ensilaje de girasol, mostrando para ambas variables una tendencia ascendente. Para el pH se verificaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todos los días de evaluación. El valor más bajo fue el de día cero de exposición con un promedio de 3.66, luego subió hasta alcanzar un valor de 7.37 al séptimo día. En cuanto a la temperatura, ésta ya había aumentado significativamente ($p < 0.05$) después del primer día de exposición aeróbica (Tabla 25).

Estos cambios en pH y temperatura sugieren que el período crítico, cuando empieza el deterioro del ensilaje de girasol, empieza aproximadamente desde las 24 horas de exposición aeróbica (Tabla 25). Esta relación entre el tiempo de exposición aeróbica y el incremento de temperatura y pH es ilustrada también por los análisis de regresión. Los resultados presentes concuerdan con los de Mier (2009) para ensilaje de maíz, Emanuelli (2014) para ensilaje de caña de azúcar y González y Rodríguez (2003) para ensilajes de pasturas tropicales.

Tabla 25. Efecto principal del tiempo de exposición al aire sobre el pH y la temperatura de los tres ensilajes de girasol

Tiempo de exposición (días)	pH	Temperatura °C
0	3.66[a]	26.26[b]
1	3.75[b]	23.43[a]
3	6.26[c]	30.50[d]
5	7.14[d]	27.90[c]
7	7.37[e]	30.33[d]

Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas (p< 0.05).

La regresión entre el tiempo de exposición al aire y el incremento de temperatura de los ensilajes de girasol (Figura 7) fue significativa ($p < 0.05$). Para el ensilaje G el R^2 fue de 0.81 y de acuerdo a la ecuación establecida este ensilaje tendría una estabilidad de 52 horas. El R^2 para los ensilajes GM y GS fue de 0.68 y 0.80; y la predicción del tiempo de estabilidad aeróbica sería de 21 y 48 horas, respectivamente.

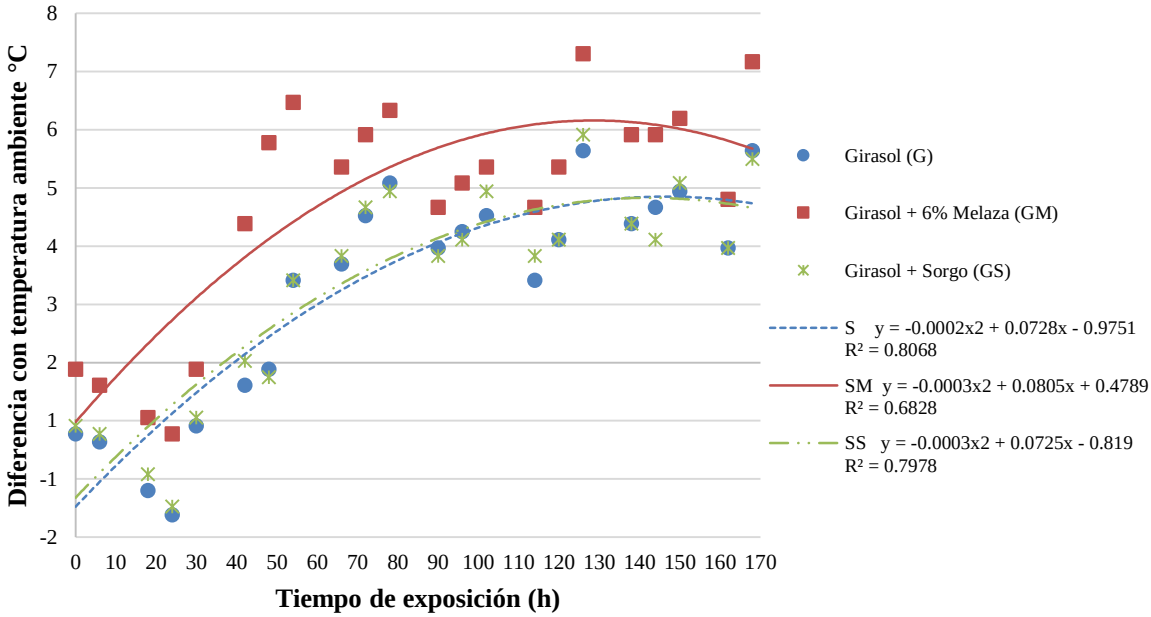

Figura 7. Relación entre el tiempo de exposición aeróbica y la diferencia entre la temperatura de los ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas) y la temperatura ambiental

El análisis de regresión también describe una relación significativa ($p < 0.05$) entre el tiempo de exposición al aire y el pH de los ensilajes (Figura 8). El valor de R^2 para los ensilajes de G, GM y GS fue de 0.90, 0.83 y 0.84, respectivamente. Considerando que los

tiempos de estabilidad aeróbica de los ensilajes evaluados fue de aproximadamente dos días para G y GS y uno para GM, los valores de pH esperados para estos tiempos serían 5.49, 5.24 y 4.20, respectivamente (Figura 8).

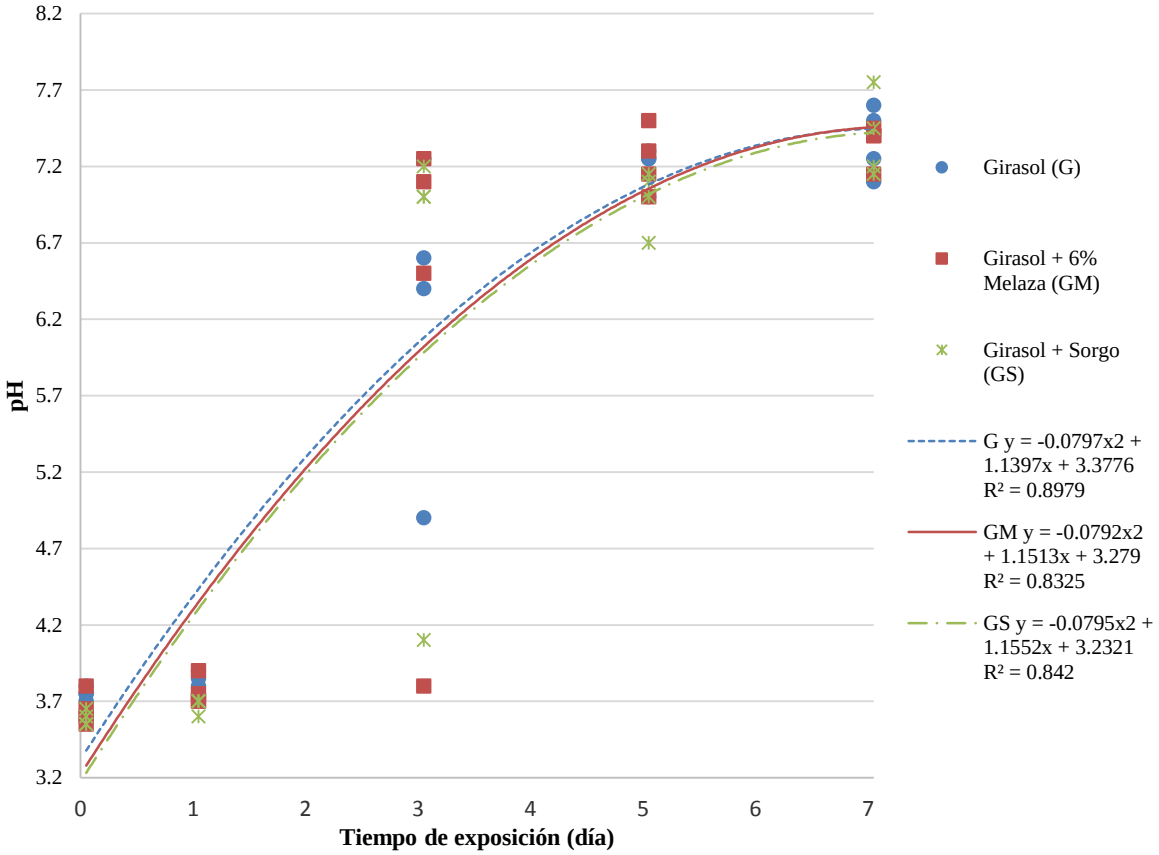

Figura 8. Relación entre el tiempo de exposición aeróbica y el pH de ensilajes de girasol en estado R6 (antesis completa con flores liguladas marchitas)

5.3 CONCLUSIONES

- En la producción de ensilaje de soya en estado R6, la mezcla con sorgo resultó en mayor RMS, por un margen de hasta un 47%. La siembra en áreas iguales fue efectiva por haber logrado una proporción adecuada de soya-sorgo (34:66). En el proceso de elaboración del ensilaje de soya la adición de 6% de melaza y la mezcla con sorgo mejoraron las características fermentativas, obteniendo valores más bajos de pH, AA, AP, AB y NH_3-N y más altos de AL y de relación L/A relativo al tratamiento control (solo soya). Desde el punto de vista nutricional la adición de melaza lució como la mejor opción para la elaboración de ensilaje de soya, ya que se obtuvo un mayor contenido de MS sin afectar adversamente los niveles de PB, FDA, FDN, ni NDT y EN. Sin embargo, si se desea producir una mayor cantidad de forraje de adecuado nivel proteico, para uso en las épocas de escases, la mezcla de soya con sorgo puede ser viable. La inclusión de melaza no afectó de forma significativa la EA de ensilaje de soya, pero la mezcla de soya con sorgo resultó en un mayor aumento de temperatura y una mayor pérdida de MS. El efecto significativo del tiempo de exposición aeróbica sobre la temperatura de los ensilajes puede ser expresado como una regresión de modelo cuadrático. La mayor inestabilidad del ensilaje de soya y sorgo mezclados fue corroborada por el menor tiempo de estabilidad (90 h), estimado a través de su ecuación de regresión.

- Para la elaboración de ensilaje de girasol cosechado en el estado fenológico R6 se obtuvo un mayor contenido de MS y RMS con una combinación de girasol-sorgo, alcanzando hasta un 45% más de RMS en comparación con girasol en monocultivo. Esta mezcla de forrajes tuvo una proporción de 56% girasol : 44% sorgo en base seca. La inclusión de 6% de melaza y la mezcla con sorgo afectaron las características de fermentación y valor nutricional del ensilaje de girasol. La mezcla con sorgo aumentó el nivel de PB, pero también el de FDN y redujo el nivel energético (EN). La inclusión de 6% de melaza causó dilución de las fracciones FDN y FDA, y un incremento en el nivel energético (NDT y EN), con mejoría del VRF. Tanto la inclusión de melaza como la mezcla de forrajes, mejoraron las características fermentativas del ensilaje

de girasol, en términos de valores de pH y contenidos de AP, AB, ácidos totales y NH_3-N como porcentaje del N total. Los menores niveles de AB y NH_3-N indican una mejor preservación de la proteína. Sin embargo, la adición de melaza generó también una mayor pérdida de MS durante la fermentación. El análisis de EA reveló que la adición de melaza generó inestabilidad, indicada por mayores temperaturas (no significativo) y pérdidas de MS, y más corto tiempo de estabilidad. La relación entre el tiempo de exposición y el incremento de temperatura y de pH de los ensilajes de girasol se expresó mediante una regresión modelo cuadrático.

6 Experimento III. Evaluación de aceptabilidad de ensilajes de girasol (*Helianthus annuus*) por ovinos

6.1 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.1 Localización y desarrollo del experimento

Esta evaluación se realizó durante el mes de marzo de 2015, en las instalaciones de la Granja de la EEA de Lajas, ubicada al suroeste de la isla a 18º latitud norte y 67º longitud oeste, y 30 msnm. La temperatura fluctúa entre 18 a 32 ºC y la precipitación media anual es de 1067 mm. El ensayo consistió en una prueba de cafetería con ovinos para estudiar la preferencia de consumo en ensilajes de girasol.

6.1.1.1 Ubicación y manejo de los animales

Se utilizaron 6 carneros criollos jóvenes (21.4 kg de peso promedio) alojados en un corral de grupo en el interior del galpón destinado a albergar los ovinos. Se realizó una prueba de cafetería durante un período de 12 días, que incluyó 5 días de adaptación. Los animales utilizados recibieron una dieta basada en pastoreo y los ensilajes fueron ofrecidos como suplemento durante dos horas de la mañana, después del cual los animales salieron al pastoreo durante las restantes horas del día, hasta pasar la noche encerrados en la edificación para su protección. El corral disponía de un bebedero que proveía agua de forma libre.

Figura 9. Prueba de cafetería para evaluación de aceptabilidad de ensilajes de girasol

6.1.1.2 Tratamientos

Los tratamientos que se utilizaron corresponden a los ensilajes evaluados en el segundo experimento con el cultivo de girasol (girasol solo, girasol + melaza y girasol + sorgo).

6.1.1.3 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un DBCA con 7 repeticiones, donde los bloques corresponden a los 7 días de medición. Los resultados se sometieron a un ANDEVA, utilizando el PROC GLM con ayuda del paquete estadístico SAS versión 9.1® (SAS 2009). Para la comparación entre las medias de los tratamientos, se empleó la prueba de DMS con un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

6.1.1.4 Variables a cuantificar

Para evaluar la preferencia animal de los ensilajes de girasol, se ofreció diariamente 6 kg de cada uno de los ensilajes aparte en las tres secciones del comedero del corral. Se hizo rotación diaria de la posición de los ensilajes en el comedero de forma aleatoria para evitar sesgos en el consumo de los animales habitados a una sección específica del comedero. La cantidad de los ensilajes consumida durante dos horas fue determinada diariamente como la diferencia entre el peso inicial de forraje ofrecido menos el ensilaje sobrante. Se expresó la preferencia de los ensilajes por el Coeficiente de Preferencia (CoP) y por el Porcentaje de Preferencia. El CoP fue calculado como la relación entre el consumo individual de cada ensilaje dividido por el promedio de consumo de todos los ensilajes, mientras que el Porcentaje de Preferencia se calculó como la relación del consumo individual entre el consumo total, multiplicado por 100. Un alimento es considerado como de buena preferencia cuando el valor del CoP es mayor que la unidad (Olorunnisomo y Adesina 2013; Falola et al. 2013).

6.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.2.1 Consumo, coeficiente de preferencia (CoP) y porcentaje de preferencia de ensilajes de girasol

En la Tabla 26 se presenta la aceptabilidad de ensilajes de girasol evaluada con ovinos, donde el consumo diario, CoP y porcentaje de preferencia son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los tres tratamientos. El ensilaje de girasol en mezcla con sorgo (GS) fue el más consumido ($p < 0.05$) (0.93 kg MS día^{-1}), seguido por el G (0.63 kg) y luego por el GM (0.26 kg). De acuerdo a estos consumos la preferencia de los animales por los tres respectivos ensilajes es de 1.53, 1.03 y 0.44; correspondientes a porcentajes de preferencia de 51.06, 34.33 y 14.62. Los ensilajes GS y G presentaron un CoP mayor que la unidad y por lo tanto una buena aceptabilidad, mientras que el ensilaje de GM con un CoP menor que la unidad dio indicios de pobre aceptabilidad.

Tabla 26. Consumo diario promedio, coeficiente de preferencia y porcentaje de preferencia de ensilajes de girasol solo, con inclusión de melaza y en mezcla forrajera con sorgo

Tratamientos	Consumo diario kg (Base seca)	CoP[1]	Preferencia %	Escalonamiento
G[2]	0.63[b]	1.03[b]	34.33[b]	2[do]
GM[3]	0.26[c]	0.44[c]	14.62[c]	3[er]
GS[4]	0.93[a]	1.53[a]	51.06[a]	1[er]

[1] Coeficiente de preferencia; [2] Girasol (control); [3] Girasol + 6% de melaza; [4] Girasol + Sorgo.
Dentro de la misma columna promedios seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La baja aceptabilidad observada del ensilaje de girasol con 6% de melaza puede atribuirse al fuerte olor a alcohol que presentó este tratamiento. En evaluaciones hechas con ensilaje de maíz, Huisden et al. (2009) encontraron que la aplicación de melaza incrementó el contenido de etanol. Un olor a alcohol es indicativo de la actividad de levaduras, las cuales convierten el azúcar en alcohol, pudiendo también metabolizar el AL (Seglar 2003). El etanol como producto final de la actividad de las levaduras puede limitar el consumo de MS (Ward 2005).

Mizubuti et al. (2002), compararon ensilajes de maíz y de girasol y encontraron que el consumo por ovejos de MS, FDA y PB no fue diferente; mientras el consumo de FDN fue

mayor y el de extracto etéreo menor con el ensilaje de maíz. Otros resultados que confirman indirectamente la aceptabilidad animal del ensilaje de girasol incluyen los de Ribeiro et al. (2002), que concluyeron que la alimentación de ovejas de engorde con ensilaje de girasol como dieta única, representa una gran opción ya que dicha práctica resultó en mayor ganancia de peso y rendimiento de canal que la alimentación con ensilaje de maíz o de sorgo. En vacas Holstein con un nivel productivo de 25 kg leche día^{-1}, la sustitución parcial de ensilaje de maíz por ensilaje de girasol no afectó la producción de leche ni la de proteína y grasa de la leche (Silva et al. 2004). Los ensilajes de girasol-sorgo y de girasol solo ameritan investigaciones adicionales para determinar su efecto sobre el desempeño productivo de los rumiantes bajo condiciones locales.

6.3 CONCLUSIONES

La evaluación de aceptabilidad animal mostró que el ensilaje de girasol puro es adecuadamente aceptado. La adición de melaza disminuyó el consumo del ensilaje, mientras que la mezcla con sorgo mejoró su relativa aceptabilidad.

7 LITERATURA CITADA

Abaunza, M. A., Lascano, C. E., Giraldo, H., Toledo, J. M. 1991. Valor nutricional y aceptabilidad de gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales en suelos ácidos. *Trop. Grasslands* 13(2): 2-9.

Abdelhadi, L. 2005. Maíz y soja, dos RR que se pueden ensilar juntos. Producir XXI, Bs.As. 13(166): 41 - 47.

Agnusdei, M. 2007. Calidad nutritiva del forraje. Grupo Producción y Utilización de Pasturas, INTA E.E.A. Balcarce. Agromercado Temático, Bs. As. 136:11-17.

Ajmal Khan, M., Mahr-Un-Nisa, Sarwar, M. 2003. Techniques measuring digestibility for the nutritional evaluation of feeds. *Int. J. Agr. Biol.* 5(1): 91-94.

Alaniz, O. 2008. Adición de residuo de la industria cervecera al ensilaje de maíz como alternativa de forraje para ganado. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el desarrollo Regional Durango. Tesis Msc. Ciencias en Gestión Ambiental. 37 p.

Amaral, D. 2015. Important steps during the silage fermentation process (en línea). University of Kentucky, College of Agriculture. Consultado el 10 de febrero de 2015. http://afsdairy.ca.uky.edu/extension/nutrition/milkingcows/forages/silagefermentationprocess

Andrade, R., Mohamad, L. 2010. Estrategias para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje. Producir XXI, Bs. As. 18(219): 58-62.

Andreo, G. E., Pagliaricci, H. R., Pereyra, T. 2011. Valor nutritivo e indicadores cualitativos de la fermentación del girasol forrajero para ensilaje. Presentado en XXII Reunión ALPA. Montevideo, Uruguay.

Aponte, A. 2011. Efecto de la edad fenológica en la calidad y producción de biomasa de líneas de soya forrajera (Glycine max L. Merr) en un Oxisol de Puerto Rico. Tesis Msc. Universidad de Puerto Rico, Recinto universitario de Mayagüez. 63 p.

Avellaneda, J., Cabezas, F., Quintana, G., Luna, R., Montañez, O., Espinoza, I., Zambrano, S., Romero, D., Vanegas, J., Pinargote, E. 2008. Comportamiento agronómico y composición química de tres variedades de Brachiaria en diferentes edades de cosecha. *Ciencia y Tecnología* 1(2): 87-94.

Barbosa, L. A., Rezende, A. V., Rabelo, C. H. S., Rabelo, F. H. S., Nogueira, D. A. 2011. Aerobic stability of corn and soybean silage mixed at different ratios. ARS VETERINARIA, Jaboticabal, SP, 27(4): 255-262.

Bareeba, F. 1992. Forage conservation and utilization. *Nomadic Peoples* 31: 91-92.

Barroso, F., Pedreño, A., Martínez, T., Robles, A., González, J. 2005. Potencialidad de las especies C4 como alimento para el ganado en repoblaciones de zonas semiáridas. XLV Reunión Científica de la SEEP. Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural Vol. I: 347-353.

Beinroth, F., Engel, R., Lugo, J., Santiago, C., Ríos, S. and Brannon G. 2003. Updated Taxonomic Classification of the Soils of Puerto Rico, 2002. Bulletin 303. University of Puerto Rico, Mayagüez Campus. College of Agricultural Sciences Agricultural Experiment Station. San Juan, PR. 38 p.

Blount, A. R., Wright, D. L., Sprenkel, D. L., Hewitt, T. D., Myer, R. O. 2009. Forage Soybeans for Grazing, Hay, and Silage. University of Florida. 4p.

Calsamiglia, S., Ferret, A., Bach, A. 2004a. Alfalfa, heno en rama. Tablas FEDNA de valor nutritivo de forrajes y subproductos fibrosos húmedos (en línea). Fundación para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. 70 p. Consultado el 20 de febrero de 2015. http://fundacionfedna.org/forrajes/alfalfa-heno-en-rama

Calsamiglia, S., Ferret, A., Bach, A. 2004b. Ensilado de sorgo. Tablas FEDNA de valor nutritivo de forrajes y subproductos fibrosos húmedos (en línea). Fundación para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. 70 p. Consultado el 3 de marzo de 2014. http://www.fundacionfedna.org/forrajes/ensilado-de-sorgo

Caravaca, F. 2006. Introducción a la Alimentación y Racionamiento Animal. EUITA.

Sevilla. 18 p.

Castelán, M., Tomei, C., Ciotti, E., Linsdtrom, R. 2002. Efecto de la frecuencia de corte en el rendimiento de materia seca y valor nutritivo de Trifolium repens cv. Haifa. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 22(1). 21-27.

Castillo, M., Rojas-Bourrillón, A., WingChing-Jones, R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (Vigna radiata). *Agron. Costarricense* 33(1): 133-146.

Castro, Á. 2001. Ganadería de la carne. Gestión empresarial. Producción bovina. Tomo II. Ed. EUNED. 259 p.

Chacón, P., Vargas, C. 2009. Digestibilidad y calidad del Pennisetum purpureum cv. king grass a tres edades de rebrote. *Agron. Mesoam.* 20(2):399-408.

Chacón, P., Vargas, C. 2010. Consumo de Pennisetum purpureum cv. King Grass a tres edades de cosecha en caprinos. *Agron. Mesoam.* 21(2):267-274.

Chaverra, H., Bernal, J. 2000. El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno. Primera edición. IICA. Colombia: 99-113.

Chr. Hansen, Inc. 2009. Asegure un forraje de alta calidad. Milwaukee, Wiconsin, USA. 23p.

Clemente, G. 2008. El silaje de cultivos no tradicionales y en épocas no convencionales: ampliando posibilidades para los silajes, el silo de leguminosas en otoño. Producir XXI, Bs. As. 16(195):20-22.

Clemente, G. 2009. Silaje de girasol. Universidad Nacional de Villa María. Córdoba, Argentina.

Cobos-Peralta, M. A., Sánchez, M., Trinidad, A., Cetina, V., Vargas, J. 2003. Importancia del tipo de muestra en la estimación del valor nutritivo de leguminosas y arbustivas, y potencial de un inocuo de bacterias degradadoras de aserrín en sistemas silvopastoriles (en línea). Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México, México. Consultado 10 de enero 2015.

http://www.fao.org/docrep/006/Y4435S/y4435s0h.htm

Cofré, P., Jahn, E. 2005. Alimentación de vacas lecheras con ensilajes de maíz confeccionados con urea y con azufre. Centro Regional de Investigación Quilamapu (INIA). Chillán, Chile. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13(4): 161-190.

Contreras-Govea, F. E., Muck, R. E., Armstrong, K. L., Albrecht, K. A. 2009. Nutritive value of corn silage in mixture with climbing beans. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150: 1-8.

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 2013. Festuca alta. Sistema de Toma de Decisión para la selección de especies Forrajeras.

Dairy One. 2014. Fermentation Analysis & Evaluation (en línea). Ithaca, New York. Consultado el 5 de septiembre del 2015. http://dairyone.com/wp-content/uploads/2014/01/Fermentation-Analysis-Evaluation.pdf

De León, M. 2014. La utilización de silajes en los sistemas ganaderos. INTA EEA Manfredi. 5° Jornada Nacional de Forrajes Conservados. 145-152.

Drobná1, J., Jančovič, J. 2006. Estimation of red clover (Trifolium pratense L.) forage quality parameters depending on the variety, cut and growing year. Slovak Republic. *Plant Soil Environ.* 52(10): 468-475.

Dumont, J. 2006. Conservación de Forrajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias - Centro Regional de Investigación Remehue, Chile. Boletín INIA N° 148: 12p.

Emanuelli, G. 2014. Características fermentativas y estabilidad aeróbica de ensilaje de caña de azúcar (Saccharum officinarum) y su inclusión en dietas para ovinos. Tesis Msc. Universidad de Puerto Rico, Recinto universitario de Mayagüez. 75 p.

Escalante, L., Escalante, Y., Linzaga C. 2008. Densidad de siembra del girasol forrajero. *Agron. Costarricense* 32(2): 177-182.

Estrada, J. 2004. Efecto de la temperatura sobre la producción y el contenido de proteína cruda y fibra neutro detergente de Panicum máximum cv. Tobiatá, Digitaria eriantha cv. Transvala y Brachiaria híbrido cv. Mulato. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola

Panamericana Zamorano, Tegucigalpa, Honduras. 21p.

Falola, O.O., Alasa, M.C., Babayemi, O.J. 2013. Assessment of silage quality and forage acceptability of vetiver grass (Chrysopogon zizanioides L. Roberty) ensiled with cassava peels by Wad goat. *Pak. J. Nutr.* 12(6): 529-533.

Fehr, W.R., Caviness, C.F., Burmood, D.T., Pennington, J.S., 1971. Stage of development descriptions for soybeans, Glycine max (L.) Merrill. *Crop Sci.* 11: 929-931.

Flores, G. 2004. Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Doctoral. E.T.S.I. Agrónomos (UPM). 353p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2002. Statistical data base for Agriculture of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome.

Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. 2015. Forrajes (en línea). FEDNA. Madrid. Consultado el 20 de febrero de 2015. http://fundacionfedna.org/forrajes

Gallardo, M. 2015. Forrajes conservados: aspectos nutricionales y diagnóstico de calidad. Forratec No 214. 62 p.

Galyean, M.L. 2010. Laboratory procedures in animal nutrition research. Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University. 189 p.

Garcia, A. 2006. Alternative forages for dairy cattle: soybeans and sunflowers. South Dakota State University. 2 p.

Gerlach, K. 2013. The aerobic deterioration of silages as estimated from chemical composition and dietary choice by goats. Thesis Doctor of Agricultural Sciences. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Alemania. 97 p.

González, G., Rodríguez, A. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics,

aerobic stability, and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. *J. Dairy Sci.* 86:926-933.

Grijalva, J. 2010. Sistemas analíticos de evaluación de alimentos de uso animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 115 p.

Hardy, C. 1973. Ensilaje de grano de sorgo con alta humedad. 3. Desaparición de carbohidratos y la producción de ácidos orgánicos y etanol. *Cuban J. Agr. Sci.* 7(2): 207-212.

Holguín, V., Ibrahim, M. 2004. Ensilaje: estrategia de conservación de forrajes para la época seca. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 3p.

Holmann, F., Rivas, L., Argel, P. J., Pérez, E. 2004. Impact of the adoption of Brachiaria grasses: Central America and Mexico (en línea). Livestock Research for Rural Development 16 (12). Consultado el 30 de junio de 2014. http://lrrd.cipav.org.co/lrrd16/12/holm16098.htm

Holmann, F., Rivas, L., Carrulla, B., Rivera, L., Giraldo, S., Guzmán, M., Martínez, A., Medina, A., Farrow, A. 2003. Evolution of milk production systems in tropical Latin America and its interrelationship with markets: an analysis of the Colombian case (en línea). Livestock Research for Rural Development 15 (9). Consultado el 30 de junio de 2014. http://www.lrrd.org/lrrd15/9/holm159.htm

Huisden, C. M., Adesogan, A. T., Kim, S. C., Ososanya, T. 2009. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 92(2): 690-697.

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 2009. Manual del cultivo de girasol en Venezuela. Araure, Venezuela. INIA. Serie B Nº 20. 48 p.

Irigoyen, A. 2009. Rol de las reservas forrajeras en los sistemas ganaderos. *Rev. Plan Agropecuario* 130. 46-52.

Jatkauskas, J., Vrotniakiene, V. 2011. The effects of silage inoculants on the fermentation and aerobic stability of legume-grass silage. *Žemdirbystė=Agriculture* 98(4): 367-374.

Juárez, A., Cerrillo, M., Gutiérrez, E., Romero, E., Colín, J., Bernal, U. 2009. Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas in vitro. *Téc. Pecuaria en México* 47(1). 55-68.

Kaiser, A. G. 2004. Silage additives. En: Kaiser, A., Piltz, J., Burns, H., Griffiths, N. (ed.). Successful Silage. Second edition. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries: 171-196.

Kaiser, A. G., Piltz, J. W. 2004. Feed testing: assessing silage quality. En: Kaiser, A., Piltz, J., Burns, H., Griffiths, N. (ed.). Successful Silage. Second edition. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries: 311-334.

Ke, W.C., Yang, F.Y., Undersander, D.J., Guo, X.S. 2015. Fermentation characteristics, aerobic stability, proteolysis and lipid composition of alfalfa silage ensiled with apple or grape pomace. *Anim. Feed Sci. Technol.* 202: 12-19.

Koc, F., Levent Ozduven, M., Coskuntuna, L., Polant, C. 2009. The effects of inoculant lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of sunflower silage. *Poljoprivreda:Agriculture* 15(2): 47-52.

Koukolová, V., Homolka, P., Koukol, O., Jančík, F. 2010. Nutritive value of Trifolium pratense L. for ruminants estimated from in situ ruminal degradation of neutral detergent fibre and in vivo digestibility of organic matter and energy. *Czech J. Anim. Sci.* 55(9): 372-381.

Kristensen , N. B., Sloth, K. H., Højberg, O., Spliid, N. H., Jensen, C., Thøgersen, R. 2010. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy Sci.* 93:3764-3774.

Kung, L. 2010. Aerobic stability of silage. UC Cooperative Extension, Plant Sciences

Department, University of California.

Kung, L., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Gold, C.M., Pesek, J.D. 2000. Microbial populations, fermentation end products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *J. Dairy Sci.* 83: 1479-1486.

Lara, P. 1977. Diferentes niveles de melaza y urea en el ensilaje de caña de azúcar (Saccharum officinarum L.). Tesis Msc. Universidad de Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 72 p.

Lardy, G., Anderson, V. 2009. Alternative Feeds for Ruminants. North Dakota State University. 24 p.

Lascano, C., Plazas, C. 2003. Utilidad de la leguminosa semiarbustiva Cratylia argentea en sistemas de ganado doble propósito del Piedemonte Llanero: Validación y difusión. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 57 p.

León, R. 1999. Niveles óptimos de melaza, urea y gallinaza para la elaboración de ensilaje de pasto Guinea var. Tobiatá (Panicum maximun) en Zamorano. Tesis Ing. Agr. Tegucugalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 28 p.

Lima, R., Lourenço, M., Díaz, R.F., Castro, A., Fievez, V. 2010. Effect of combined ensiling of sorghum and soybean with or without molasses and lactobacilli on silage quality and in vitro rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 155: 122-131.

Marichal, M. de J., Carriquiry, M., Trujillo, A.I. 2007. Estudio comparativo de la degradabilidad fermentativa del N y de la digestibilidad intestinal del N no degradable de gramíneas forrajeras templadas y tropicales. Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay. 4p.

Maroto, F., Gómez A., Guerrero J., Garrido A., Pérez D. 2011. La valoración nutricional de los alimentos para animales: Génesis de la información. Servicio de Información sobre alimentos. Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba. 51-68.

Martínez, A., De la Roza, B. 1999. Calentamiento del ensilaje. En: Tecnología

Agroalimentaria. CIATA Boletín Informativo. 80 p.

Martínez, A., De la Roza, B., Fernández, O. 1999. Nuevas técnicas para determinar la calidad de los ensilados. En: Tecnología Agroalimentaria. CIATA Boletín Informativo. 80 p.

Martínez, A., Pérez, M., Pérez, L. Gómez, G., Carrión, D. 2011. Efecto de las fuentes de grasa sobre la digestión de la fibra en los rumiantes. *Rev. electrón. vet.* 12(07): 21 p.

Martínez, J., Brunetti, M., Molinari, D., Cora, A. 2006. Digestibilidad de la materia seca de alfalfa evaluada mediante diferentes métodos: efecto del procesamiento de la muestra y la fuente de inóculo. INTA EEA, Manfredi, Córdoba.

McGuffey, R.K., Schingoethe, D.J. 1980. Feeding value of a high oil variety of sunflowers as silage to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63:1109-1113.

Mhere, O., Maasdorp, B., Titterton, M. 2002. Forage Production and Conservation Manual. University of Zimbabwe. 31p.

Mickan, F. J., Piltz, J. W. 2004. Mowing and wilting pastures and crops. En: Kaiser, A., Piltz, J., Burns, H., Griffiths, N. (ed). Successful Silage. Second edition. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries: 143-170 p.

Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. Universidad de Córdoba. 66 p.

Mizubuti, I., Ribeiro, E., Rocha, M., Silva, L., Pinto, A., Fernandes, W., Rolim, M. 2002. Intake and apparent digestibility of corn (Zea mays L.), sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) and sunflower (Helianthus annuus L.) silages. *R. Bras. Zootec.* 31(1): 267-272.

Nassab, A.D.M., Amon, T., Kaul, H.P. 2011. Competition and yield in intercrops of maize and sunflower for biogas. *Ind. Crops Prod.* 34:1203-1211.

Olorunnisomo, O. A., Adesina, M. A. 2013. Silage characteristics, nutritive value and preference of zebu cows for moringa leaf ensiled with different levels of cassava peel. University of Ibadan, *Nigeria Agricultural J.* 8(6): 295-298.

Olvera, M.A., Martínez C.A., Real de León, E. 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Programa cooperativo gubernamental FAO-Italia (en línea). Documento de campo (7). Consultado el 3 enero de 2015. http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S00.htm

Penichet, M., Carballo, P., Guerra, M., Alemán, R. 2008. El cultivo del girasol como alternativa forrajera viable para la alimentación del ganado vacuno lechero. Observatorio de la Economía Latinoamericana Nº 95. 7p.

Pereira, S., Flores, G., González, A., Fernández, B., Valladares, J., Díaz, N., Resch, C. 2014. Rendimiento y valor nutricional de girasol (Helianthus annus L.) aprovechado para forraje tras la floración. 53a Reunión Científica de la SEEP. 357-364.

Piltz, J. W., Kaiser, A. G. 2004. Principles of silage preservation. En: Kaiser, A., Piltz, J., Burns, H., Griffiths, N. (ed.). Successful Silage. Second edition. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries: 25-56 p.

Pirela, M.F. 2005. Manual de ganadería doble propósito: valor nutritivo de los pastos tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela, 176-182 p.

Putnam, D. H., Oplinger, E. S., Hicks1, D. R., Durgan, B. R., Noetzel1, D. M., Meronuck1, R. A., Doll, J. D., Schulte, E. E. 1990. Sunflower (en línea). Corn Agronomy. Consultado el 30 de marzo de 2015. http://corn.agronomy.wisc.edu/Crops/Sunflower.aspx

Recavarren, P., Leaden, K., Martinefsky, J., Bilotto, F. 2013. Experiencias en implantación y manejo de festucas puras en la depresión de Laprida. INTA-EEA Balcarce.

Reyes, N., Mendieta, B., Fariñas, T., Mena, M., Cardona, J., Pezo, D. 2009. Elaboración y utilización de ensilajes en la alimentación del ganado bovino. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Managua, Nicaragua. Manual Técnico No 91. 99 p.

Ribeiro, E.L.A., Rocha, M.A., Mizubuti, I.Y., Silva, L.D.F. 2002. Silagem de girasol (Helianthus annuus L.), milho (Zea mays L.) E sorgo (Sorghum bicolor (L.) Moench)

para ovelhas em confinamento. *Cienc. Rural* 32(2): 299-302.

Ribeiro, L., Gonçalves, L., Rodríguez, N., Tomich, T. 2007. Ensilaje de girasol como opción forrajera. Jornada sobre Producción y Utilización de Ensilajes. Brasil. 31-50.

Rodríguez, A. A., Acevedo, J. A., Riquelme, E. O. 1997. Estabilidad aeróbica de ensilaje de pasturas tropicales nativas. Efecto del ácido propiónico y tiempo de exposición aeróbica. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5(1):83-85.

Rodríguez, S. 1983. Ensilaje (en línea). FONAIAP DIVULGA No. 12. Consultado el 10 de julio del 2014. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd12/texto/ensilaje.htm

Romero, L. 2004. Ensilaje de leguminosas con énfasis en alfalfa y soja. INTA E. E. A. Rafaela. 11p.

Romero, L. 2008. Pasturas templadas y tropicales. XXI Curso Internacional de Lechería para Profesionales de América Latina. INTA Rafaela. 37-60.

Romero, L., Aronna, S. 2003. Ensilaje de soya. Campaña de forrajes Conservados 2003-04. INTA E. E. A. Rafaela. 2 p.

Romero, L., Mattera, J. 2008. Girasol para ensilaje: producción de forraje y calidad de los ensilajes según el estado fenológico al momento de corte. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 28(1): 349-543.

Romero, L., Mattera, J., Redolfi, F., Gaggiotti, M. 2009. Silaje de girasol: efecto del momento de corte sobre la producción y el valor nutritivo de dos híbridos. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 29(1): 570-571.

Roth, G.W., Heinrichs, A. J. 2001. Producción y manejo del ensilaje de maíz. ABT México. Universidad del Estado de Pennsylvania. 11 p.

Ruiz, M., Rodríguez, L. 2004. Consumo de materia seca de pasto guinea (Panicum maximum cv Tobiatá) suplementado con maíz y soya en vaquillas de cuatro a ocho meses de

preñez. Tesis Ing. Agr. Tegucugalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 27 p.

Sánchez, A., Faria, J. 2008. Efecto de la edad de la planta en el contenido de nutrientes y digestibilidad de Leucaena leucocephala (en línea). Zootecnia Trop. 26(2). Maracay. Consultado el 20 de marzo del 2015. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S079872692008000200007&script=sci_arttext

Santos, D. 2010. Fenología en el Cultivo de Soja: una "hoja de ruta". Segunda edición. INTA. Estación Experimental Agropecuaria Paraná. 11 p

Schneiter, A.A., Miller, J.F. 1981. Description of sunflower growth stages. *Crop Sci.* 21:901-903.

Seglar, B. 2003. Fermentation Analysis and Silage Quality Testing. Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference College of Veterinary Medicine, University of Minnesota. Global Agronomy and Nutritional Sciences. Pioneer Hi-Bred International, Inc. 18 p.

Serbester, U., Akkaya M.R., Yucel C., Gorgulu, M. 2015. Comparison of yield, nutritive value, and in vitro digestibility of monocrop and intercropped corn-soybean silages cut at two maturity stages. *Ital. J. Anim. Sci.* 14: 66-70.

Silva, B.O., Leite, L.A., Ferreira, M.I.C., Fonseca, L.M., Reis, R.B. 2004. Sunflower silage and corn silage in lactating cow diets: milk production and composition. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 56(6): 750-756.

Soper, I. G., Owen, F. G. 1977. Improving silage preservation and stability with an ammonia-molasses-mineral solution. *J. Dairy Sci.* 60(7):1077-1082.

Spangheroa, M., Zanfia, C., Signorb, M., Davanzob, D., Volpeb, V., Venerusb, S. 2015. Effects of plant vegetative stage and field drying time on chemical composition and in vitro ruminal degradation of forage soybean silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200: 102-106.

Statistical Analysis System Institute. 2009. SAS User's guide: S.A.S. Institute Inc. Cary NC.

Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A., Borreani, G. 2011. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *J. Dairy Sci.* 94:1409-1419.

Tilley J.M.A., Terry R.A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104-111.

Tobía, C., Rojas, A., Villalobos, E., Soto, H., Uribe, L. 2004. Sustitución parcial del alimento balanceado por ensilaje de soya y su efecto en la producción y calidad de la leche de vaca, en el trópico húmedo de Costa Rica. *Agron. Costarricense* 28(2): 27-35.

Tobía, C., Villalobos, E. 2004. Producción y valor nutricional del forraje de soya en condiciones tropicales adversas. *Agron. Costarricense* 28(1): 17-25.

Tobía, C., Villalobos, E., Rico, E. 2006. Uso del forraje de soya (Glycine max L. Merr.) variedad CIGRAS 06 en la nutrición de rumiantes. X Seminario de Pastos y Forrajes.

Tobía,C., Villalobos, E., Rojas, A., Soto, H., Moore, K. J. 2008. Nutritional value of soybean (Glycine max L. Merr.) silage fermented with molasses and inoculated with Lactobacillus brevis 3 (en línea). Volume 20, Article #106. Consultado el 2 de septiembre del 2015. http://www.lrrd.org/lrrd20/7/tobi20106.htm

Tomich, T.R., Gonçalves, L.C., Tomich, R.G.P., Rodrigues, J.A., Borges, I. 2004. Características químicas e digestibilidade in vitro de silagens de girassol. *R. Bras. Zootec.* 33(6) (Supl. 1):1672-1682.

Torres-Torres, N., Tovar-Palacio, A. R. 2009. La historia del uso de la soya en México, su valor nutricional y su efecto en la salud. *Salud Públ. Méx.* 51:246-254.

Toruk, F., Koc, F. 2009. Effects on silage quality and aerobic stability of different compaction levels in sunflower silage. *Bulg. J. Agric. Sci.* 15 (3): 269-275.

Undersander, D., Jarek, K., Anderson, T., Schneider, N., Milligan L. 2007. A Guide to Making Soybean Silage. University of Wisconsin. Plant Management Network. 3 p.

Valdez, F. R., Harrison, J. H., Deetz, D. A., Frasen, S. C. 1988. *In vivo* digestibility of corn and sunflower intercropped as a silage crop. *J. Dairy Sci.* 71:1860-1867.

Valencia, R. 2006. Soya (Glycine max L. Merril). Alternativa para los sistemas de producción de la Orinoquia colombiana. Primera edición. CORPOICA C. I. La Libertad. Bogota, Colombia. 59-64.

Valerio, D., Atiles, M. 2013. Silo de anillo para conservación de forrajes: Una alternativa para mejorar la alimentación en explotaciones bovinas y ovino-caprinas. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). 19 p.

Van Soest, P. J. 2014. Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Cornell. Ithaca. Nueva York. 85-108.

Vázquez, C., García, J., Salazar, E., Murillo, B., Orona, I., Zúńiga, R., Rueda, E., Preciado, P. 2010. Rendimiento y valor nutritivo de forraje de alfalfa (Medicago sativa L.) con diferentes dosis de estiércol bovino. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1(4):363-372.

Vélez, M., Berger, N. 2011. Producción de forrajes en el trópico. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 151 p.

Vélez, M., Hincapié, J.J., Matamoros, I. 2006. Producción de Ganado Lechero en el Trópico. Quinta edición. Zamorano Academic Press. Zamorano, Honduras. 336 p.

Villalobos, L., Sánchez, J. 2010. Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (Lolium perenne) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. *Agron. Costarricense* 34(1): 43-52.

Wagner, B., Colón, R. 2014. Comportamiento forrajero de tres Pennisetum purpureum Schumach. *Revista APF* 3(1): 61-66.

Ward, R. T. 2005. Evaluating forage and feed quality – What analyses are the best indicators of quality? Cumberland Valley Analytical Services, Inc. In: Proceedings of Feed and Nutritional Management Cow College, Virginia, USA. 21 p.

Wiederholt, R., Albrecht, K. 2003. Using Soybean as Forage. University of Wisconsin. Focus on Forage 5(13): 2 p.

Wilkins, R. J. 1988. El ensilaje de pastos: Efecto del marchitamiento y los aditivos. En: Puignau, J. (ed.). Conservación de forrajes. IICA. Montevideo, Uruguay. 155 p.

Wright, A. 2013. A Review of Forage Soybean Production: Quality and Yield (en línea). Agrowingculture. Consultado el 20 de marzo del 2015. http://www.agrowingculture.org/2013/01/a-review-of-forage-soybean-production-quality-and-yield/

Zavala, D., Valencia, E., Randel, P.F., Ramos-Santana, R. 2011. Composición botánica, rendimiento y características fermentativas de asociaciones de lablab (Lablab purpureus L.) y crotalaria (Crotalaria juncea L.) con maíz amarillo (Zea mays L.) para la producción de ensilaje. *J. Agric. Univ. PR.* 95(3-4): 133-149.

Zepeda, A., Rubio, J., Vélez, M., Matamoros, I. 2008. Comparación de la caña de azúcar integral con el ensilaje de maíz como alimento para vacas lecheras. Zamorano, Honduras. *Ceiba* 49(2): 206-225.