



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EFECTO DEL TIEMPO DE CORTE SOBRE LA CALIDAD
NUTRICIONAL DEL ENSILAJE DE RYE GRASS (*Lolium perenne*) var
AMAZON, TRATADO CON BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS**

AUTOR: JARAMILLO NARVÁEZ, EMILY SAMANTHA

DIRECTOR: Ing.: PAZMIÑO MORALES JULIO CÉSAR, Mgs

SANGOLQUÍ

2020



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación. *“EFECTO DEL TIEMPO DE CORTE SOBRE LA CALIDAD NUTRICIONAL DEL ENSILAJE DE RYE GRASS (*Lolium perenne*) var AMAZON, TRATADO CON BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS”* fue realizado por la señorita *Jaramillo Narváez, Emily Samantha* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 31 de Enero 2020

Ing. Morales Pazmiño, Julio César, Mgs.

C.C: 1801567395



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Jaramillo Narváez, Emily Samantha*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *Efecto del tiempo de corte sobre la calidad nutricional del ensilaje de rye grass (Lolium perenne) var Amazon, tratado con bacterias ácido lácticas* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 31 de enero del 2020

Emily Samantha Jaramillo Narváez

C.C: 1718584491



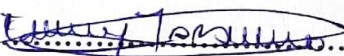
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, *Jaramillo Narvárez, Emily Samantha* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: *Efecto del tiempo de corte sobre la calidad nutricional del ensilaje de Rye grass (Lolium perenne) var Amazon, tratado con bacterias ácido lácticas* en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad

Sangolquí, 31 de enero de 2020

.....


Emily Samantha Jaramillo Narvárez

C.C: 1718584491

DEDICATORIA

A mis padres y hermana por su apoyo y amor incondicional, ya que me han impulsado durante toda mi vida para que pueda lograr mis metas y cumplir mis sueños. Todos mis logros y alegrías siempre serán para ustedes.

A mi abuelita Martha, tíos y primos con quienes crecí y han acompañado en cada momento importante en mi vida.

A mi tía Anita que aunque ya no esté entre nosotros siempre se sintió orgullosa de mí y me apoyó en todos mis sueños.

No puedo estar más agradecida con la vida por darme una familia tan bonita como la que me tocó con ustedes.

Emily Jaramillo

AGRADECIMIENTO

A mi madre por estar siempre para mí, por dedicar su vida a mi formación no sólo como profesional sino también como persona. A mi padre por su amor y esfuerzo para que nunca me falte nada, gracias a los dos por siempre ser mi fortaleza y por sus sacrificios para lograr mi felicidad. A mi hermana por todos los momentos compartidos.

Mi agradecimiento para todos los profesores de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria que contribuyeron en mi formación profesional y también con los que pude formar una amistad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes.....	1
1.2	Justificación.....	2
1.3	Objetivos.....	2
1.3.1	Objetivo general	2
1.3.2	Objetivos específicos.....	3
1.4	Hipótesis.....	3

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1	Rye grass (<i>Lolium perenne</i>).....	4
2.1.1	Clasificación taxonómica	5
2.1.2	Manejo del cultivo	5
2.1.2.1	Siembra.....	5
2.1.2.2	Fertilización	6
2.1.3	Composición química.....	6
2.1.4	Valor nutricional.....	6

2.1.4.1	Proteína.....	6
2.1.4.2	Fibra.....	7
2.1.4.3	Grasa.....	7
2.1.4.4	Ceniza.....	7
2.1.4.5	Energía metabolizable.....	7
2.1.5	Producción del Rye grass.....	8
2.1.6	Rye grass var Amazon (<i>Lolium perenne</i>).....	8
2.2	Métodos de conservación.....	9
2.2.1	Heno.....	9
2.2.2	Henolaje.....	9
2.2.3	Ensilaje.....	9
2.2.3.1	Proceso de ensilaje.....	10
2.2.3.2	Ventajas del ensilaje y características del ensilaje.....	11
2.2.3.3	Aditivos para ensilaje.....	11
2.2.3.3.1	Uso de bacterias ácido lácticas para la elaboración de ensilaje.....	12
2.3	Digestión en rumiantes.....	12
2.3.1	Población bacteriana ruminal.....	13
2.3.2	Características de la digestión en rumiantes.....	13
2.4	Técnicas para evaluar la digestibilidad de los alimentos.....	14
2.4.1	Técnica in situ.....	14
2.4.2	Técnica in vitro.....	14
2.4.3	Método in vivo.....	15
2.4.4	Factores que pueden afectar la digestibilidad.....	15

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Ubicación de la investigación.....	17
3.1.1	Ubicación política.....	17
3.1.2	Ubicación geográfica.....	17
3.2	Materiales y equipos.....	17
3.2.1	Materiales para la evaluación de rendimiento del Rye grass.....	17

3.2.2	Materiales para la elaboración de ensilaje.....	18
3.2.3	Materiales para el análisis bromatológico	18
3.2.3.1	Determinación de proteína	18
3.2.3.2	Determinación de grasa	19
3.2.3.3	Determinación de fibra vegetal.....	20
3.2.3.4	Determinación de ceniza vegetal.....	20
3.2.4	Evaluación de digestibilidad.....	20
3.3	Métodos	21
3.3.1	Diseño experimental.....	21
3.3.2	Número de tratamientos	23
3.3.3	Número de repeticiones.....	23
3.3.4	Parcelas.....	23
3.3.5	Área total del ensayo	23
3.3.6	Manejo del experimento en campo.....	24
3.3.6.1	Instalación de la investigación	24
3.3.6.2	Elaboración del ensilaje.....	25
3.3.7	Manejo del experimento en el laboratorio.....	27
3.3.8	Variables y evaluación	27
3.3.8.1	Producción de materia verde y materia seca	27
3.3.8.2	Materia seca	28
3.3.8.3	Valor nutritivo	29
3.3.8.3.1	Proteína.....	29
3.3.8.3.2	Grasa.....	32
3.3.8.3.3	Fibra.....	34
3.3.8.3.4	Ceniza.....	36
3.3.8.3.5	Humedad.....	37
3.3.8.4	Energía bruta y metabolizable.....	37
3.3.8.5	Digestibilidad in situ	38

CAPÍTULO IV**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1	Producción.....	40
4.2	Valor nutricional.....	42
4.2.1	Proteína, grasa, ceniza y fibra.....	42
4.2.2	Energía bruta y metabolizable	45
4.3	Digestibilidad	47

CAPÍTULO V**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones.....	52
5.2	Recomendaciones	53
5.3	Bibliografía.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Composición química del Rye grass</i>	6
Tabla 2	<i>Tratamientos con los que se trabajó para la elaboración del ensilaje de Rye grass</i>	21
Tabla 3	<i>Promedio \pm error estándar de la producción de materia verde (Kg. MV-1. Ha-1) y materia seca (Kg. MV-1. Ha-1) de Rye grass var Amazon en tres tiempos de corte diferentes.</i>	40
Tabla 4	<i>Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte</i>	42
Tabla 5	<i>Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra de Rye grass sometido a 3 tiempos de corte</i>	44
Tabla 6	<i>Total de Kcal que aporta cada macronutriente en un kilogramo de ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte</i>	45
Tabla 7	<i>Total de Kcal por kilogramo que aporta cada macronutriente en el Rye grass sin ensilar</i>	46
Tabla 8	<i>Análisis de varianza para el porcentaje de digestibilidad de ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte</i>	47
Tabla 9	<i>Promedio \pm error estándar del porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte.</i>	47
Tabla 10	<i>Promedio \pm error estándar del porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass en tres tiempos de corte</i>	48
Tabla 11	<i>Promedio \pm error estándar del porcentaje de digestibilidad de Rye grass sin ensilar en tres tiempos de corte</i>	49
Tabla 12	<i>Correlación ordinal de Spearman de las variables evaluadas en el ensilaje</i>	50
Tabla 13	<i>Correlación ordinal de Spearman de Digestibilidad y Producción de materia seca del Rye grass</i>	50
Tabla 14	<i>Regresión no lineal de la digestibilidad en función de la producción de materia seca de Rye grass</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Vista aérea del lote 23 del IASA I. Fuente: Google Earth.....	17
Figura 2	Establecimiento del experimento en el potrero 23 de la hacienda "El Prado"	22
Figura 3	Parcelas establecidas en el lote 23 para la investigación.	24
Figura 4	Cuadrante de 1m ² para evaluar la producción	25
Figura 5	Apisonado del pasto.....	26
Figura 6	Adición de melaza y aditivo biológico	26
Figura 7	Sellado hermético del tubo	27
Figura 8	Secado de las muestras	28
Figura 9	Proceso de digestión de las muestras.....	31
Figura 10	Destilación de muestras	32
Figura 11	Titulación de la muestra.....	32
Figura 12	Extracción de grasa.....	34
Figura 13	Filtrado de las muestras	36
Figura 14	Quema de muestras.....	37
Figura 15	Elaboración y sellado de las fundas.....	39
Figura 16	Introducción de las bolsas en la fístula	39
Figura 17	Promedio de la producción de la materia verde (Kg. MV-1. Ha-1)	41
Figura 18	Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del ensilaje de Rye grass	43
Figura 19	Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del Rye grass	44
Figura 20	Energía metabolizable del ensilaje de Rye grass para	45
Figura 21	Energía metabolizable de Rye grass sin ensilar.....	46
Figura 22	Porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass	48
Figura 23	Porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass	49

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la digestibilidad y calidad nutricional del ensilaje de Rye grass var Amazon. El ensilaje es un proceso de fermentación anaerobio el cual permite la conservación de pasturas para periodos en los que se tenga escasez de forraje. Se evaluaron tres tiempos de corte (40, 50 y 60 días) y la adición de un aditivo biológico con tres bacterias diferentes (*Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus helveticus*). Se estableció un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) bifactorial (Día al corte y microorganismo) con 12 tratamientos y 3 repeticiones (T1= 40 días + L. plantarum; T2= 50 días + L. plantarum; T3= 60 días+ L. plantarum; T4= 40 días + L. lactis; T5= 50 días + L. lactis; T6= 60 días + L. lactis; T7= 40 días + L. helveticus; T8= 50 días + L. helveticus; T9= 60 días + L. helveticus; T10= 40 días + sin microorganismo; T11= 50 días + sin microorganismo; T12= 60 días + sin microorganismo). Obteniendo como resultado que el mayor contenido de proteína fue de T10, grasa y ceniza de T7 y de fibra de T3. Al calcular la energía metabolizable se encontró que T4 presentó el mayor valor. En la evaluación de digestibilidad se determinó que no se tuvo efecto de la interacción de los factores, pero que los días al corte si tuvieron un efecto significativo, por lo que a los 40 días de corte se observó que la media del porcentaje de digestibilidad fue mayor.

Palabras clave:

- **RYE GRASS**
- **VALOR NUTRICIONAL**
- **ENSILAJE**
- **DIGESTIBILIDAD**

ABSTRACT

The reason for this research was to evaluate the digestibility and nutritional quality of the silage of Rye grass var Amazon. Silage is an anaerobic fermentation process which allows the conservation of pastures for periods in which there is a shortage of fodder. Three cutting times (40, 50 and 60 days) and the addition of a biological additive with three different bacteria (*Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus helveticus*) were evaluated. A completely randomized Bifactorial Block Design (DBCA) (Day to cut and microorganism) was established with 12 treatments and 3 repetitions (T1 = 40 days + *L. plantarum*; T2 = 50 days + *L. plantarum*; T3 = 60 days + *L. plantarum*; T4 = 40 days + *L. lactis*; T5 = 50 days + *L. lactis*; T6 = 60 days + *L. lactis*; T7 = 40 days + *L. helveticus*; T8 = 50 days + *L. helveticus*; T9 = 60 days + *L. helveticus*; T10 = 40 days + without microorganism; T11 = 50 days + without microorganism; T12 = 60 days + without microorganism). Obtaining as a result that the highest protein content was T10, T7 fat and ash and T3 fiber. About the metabolizable energy, it was found that T4 had the highest value. In the evaluation of the percentage of digestibility it was determined that there was no effect of the interaction of the factors, but that on the days of the cut did had a significant effect, at 40 days of cutting it was observed that the average of the percentage of digestibility was higher.

Keywords:

- RYE GRASS
- NUTRITIONAL VALUE
- SILING
- DIGESTIBILITY

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La producción forrajera puede verse afectada en ciertos periodos del año por la disminución de precipitaciones y el aumento de la temperatura, esto provocará una disminución en la producción de las plantas y afectará el rebrote del pasto, perjudicando de manera consecuente la producción ganadera lo cual se evidencia en la producción lechera o la condición corporal de los animales (López, Murrieta, & López, 2009).

La producción forrajera es de vital importancia para las actividades ganaderas, ya que éstos son sembrados principalmente con el fin de alimentar a los bovinos. El forraje puede darse en fresco o de manera procesada a los animales, dependiendo de la época del año o de las necesidades productivas de la hacienda (INTA, 2016). En el Ecuador, el Ray grass es uno de los principales recursos para el pastoreo, debido a que se ha adaptado adecuadamente y tiene un fácil manejo (Vargas, 2011).

En las épocas de escasez de alimento para el ganado se han tomado medidas para la conservación del forraje, las cuales pueden ser: ensilaje, henolaje, amonificación y rastrojo.

El ensilaje es un proceso de fermentación anaeróbico, el cual depende de la producción de las bacterias anaeróbicas, estas se encargan de producir ácido láctico y ácido acético. El pH debe mantenerse bajo para que se dé un proceso de fermentación adecuado (Tobía, Uribe, Villalobos, Soto, & Ferris, 2003).

1.2 Justificación

Las épocas de sequía representan un problema para las actividades ganaderas, por la disminución de la producción de pastos y forrajes. Por lo tanto se buscan alternativas de conservación de forrajes para estas épocas. El ensilaje es una de estas opciones, el uso de aditivos permite la producción de una mayor cantidad de ácido láctico y por lo tanto mejora su estabilidad, pero es importante determinar si estos tendrán un efecto en la digestibilidad del ensilaje.

En el Ecuador las actividades de conservación de forraje no se han investigado a profundidad, por lo que es necesario que se realicen más estudios sobre la importancia de la conservación de forrajes y su impacto en la nutrición animal.

En este proyecto de investigación se centra en el Rye grass, debido a que se trata de una pastura de uso común en la mayoría de las haciendas ganaderas del Ecuador y se evaluará el efecto de dos factores en la producción de ensilaje; uno de los factores es el día del corte del Rye grass (*Lolium perenne*), los cuales se realizarán a los 40, 50 y 60 días y el otro factor es la adición de tres bacterias ácido lácticas para el ensilaje de Rye grass.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del tiempo de corte sobre la calidad nutricional del ensilaje de Rye grass (*Lolium perenne*) var Amazon, tratado con bacterias ácido lácticas

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el valor nutricional del ensilado de Rye grass (*Lolium perenne*) tratado con diferentes aditivos biológicos: *Lactobacillus platarum*, *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus helveticus*
- Determinar con que bacteria se presenta la mayor digestibilidad del ensilaje.
- Establecer el tiempo ideal de corte de Rye grass (*Lolium perenne*) para la elaboración de ensilaje.
- Determinar que tratamiento brinda el mayor aporte energético del ensilaje de Rye grass (*Lolium perenne*)

1.4 Hipótesis

Ho: El tiempo de corte y el tipo de aditivo, no tendrán un efecto sobre la digestibilidad de ensilaje de Rye grass (*Lolium perenne*) var Amazon.

Ha: El tiempo de corte y el tipo de aditivo tendrán un efecto sobre la digestibilidad de ensilaje de Rye grass (*Lolium perenne*) var Amazon.

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1 Rye grass (*Lolium perenne*)

Nombre común: Rye grass

Nombre inglés: Rye grass

Nombre científico: *Lolium perenne*

El Rye grass var amazon, es una especie tetraploide porque tienen el número normal de cromosomas duplicado, esto le dará características productivas de acuerdo al ambiente en el que se requiera su siembra. Las variedades tetraploides al tener una mayor tasa de aparición de hojas iniciales y una semilla más pesada le permiten tener una mejor implantación (Bologna, 2014).

Esta variedad presenta hojas gruesas por lo tanto tiene un mayor contenido celular, es más digestible y palatable a comparación de variedades diploides. Produce un ensilaje de calidad, porque al tener un alto contenido de carbohidratos solubles tendrá un mejor proceso de fermentación (Bologna, 2014).

El Rye grass perenne se siembra en suelos con un pH superior de 5,5, debe tener un buen drenaje y es bastante exigente en cuanto a nutrición de macro nutrientes como son el nitrógeno, fósforo y potasio. Se establece en zonas ubicadas entre los 1800 y 3600 msnm. Es bastante resistente a plagas y enfermedades, pero se ve afectado por *Puccinia coronata*, causante de la pudrición de la corona (Villalobos & Sanchez, 2010).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Pooideae

Tribu: Poeae

Subtribu: Loliinae

Género: Lolium

Especie: *Lolium perenne*

2.1.2 Manejo del cultivo

2.1.2.1 Siembra

Se recomienda que se coloque la semilla a 2cm máximo de profundidad, el suelo debe estar bien húmedo y con una nutrición adecuada. La densidad de siembra recomendada es de 20 kg de semilla por hectárea (Hidalgo, 2010).

2.1.2.2 Fertilización

Siempre se debe realizar un análisis del suelo para conocer las deficiencias presentes y que se debe agregar para los requerimientos del cultivo. El Rye grass es exigente en nitrógeno y fósforo. Se debe aplicar de 30-50 kg de úrea después de cada pastoreo (Hidalgo, 2010).

2.1.3 Composición química

Tabla 1

Composición química del Rye grass

VRF ¹	Humedad	Cenizas	PB	EE	FB	FND	FAD	LAD
Excelente (>151)	76.2	12.4	19.7	3.99	19.1	40.5	22.6	2.34
Primera (125-151)	76.7	12.8	14.4	3.23	23.3	46.0	27.8	2.57
Segunda (103-124)	73.9	13.2	12.0	2.56	26.6	52.1	31.3	3.23
Tercera (87-102)	70.3	12.4	10.4	2.29	30.4	59.3	35.3	4.06
Cuarta (75-86)	69.2	14.4	8.00	2.33	32.3	65.2	38.0	5.24

¹Valor relativo del forraje = $[(88.9 - (0.779 \times \text{FAD}\%)) \times (120 / \text{FND}\%)]$

/ 1.29. Fuente: (FEDNA).

2.1.4 Valor nutricional

2.1.4.1 Proteína

De acuerdo con (Velásquez, 2009), los forrajes con un porcentaje mínimo de 6% de proteína cruda pueden ser digeridos normalmente por los microorganismos de los rumiantes. Para el cálculo del porcentaje de proteína se debe estimar el contenido de nitrógeno con el método de Kjeldhal y posteriormente se multiplica con el factor de 6.25 para obtener el porcentaje de proteína.

Según el estudio de (Castro, Domínguez, Morales, & Huerta, 2015) se encontró que a los 28 días de corte, el porcentaje de proteína fue de 14.53%. En Rye grass ensilado de acuerdo con (FEDNA, s.f) el contenido de proteína puede ir del 18% al 11%.

2.1.4.2 Fibra

El contenido de fibra bruta en las pasturas es importante para la fermentación de nutrientes, un bajo contenido de fibra puede causar la disminución de la población microbiana de los microorganismos del rumen (Velásquez, 2009). A medida que aumenta el contenido de fibra la digestibilidad del alimento disminuye (Di Marco, 2012).

2.1.4.3 Grasa

El porcentaje de grasa generalmente disminuye a medida que incrementa la edad de la pastura (Alvear & Cabezas, 2018). La grasa es parte de la fuente de energía para el animal junto con los carbohidratos (Velásquez, 2009).

2.1.4.4 Ceniza

El contenido de ceniza fue de 9.96% de acuerdo con el estudio de (Villalobos & Sanchez, 2010), con la ceniza se puede determinar la calidad de un alimento debido a que en este elemento se determinan los minerales presentes en el mismo (Velásquez, 2009).

2.1.4.5 Energía metabolizable

La energía metabolizable brinda información sobre la calidad y valor nutritivo de un alimento debido a que expresa el valor energético que puede ser aprovechado por el animal para cumplir con todos sus procesos metabólicos. Esta se calcula a partir de la energía bruta de cada macronutriente de un alimento (Zamora, 2006). El Rye grass en silo tiene un alto contenido

energético debido a que contiene un mayor contenido de azúcares que el pasto fresco (FEDNA, s.f).

El valor energético de un alimento disminuye a medida que avanza la edad de la pastura, por eso es importante tener en cuenta el punto de corte (Valles de la Mora, Castillo, & Bernal, 2016).

2.1.5 Producción del Rye grass

En el estudio de (Villalobos & Sanchez, 2010) en el cual se evaluó la producción de materia seca de Rye grass cada dos meses durante un año se encontró que en promedio se tiene una producción de 4110 Kg MS/ ha, este valor puede verse afectado de acuerdo al manejo que se esté dando a los potreros y la fertilización de los mismos. A medida que continua el desarrollo del cultivo se tendrá una mayor producción de materia seca, pero se debe tomar en cuenta que la calidad del mismo disminuirá por el aumento del contenido de fibra y la disminución de proteína (Romero, Aronna, & Cuatrin, 2019).

2.1.6 Rye grass var Amazon (*Lolium perenne*)

Se trata de una variedad perenne, tetraploide, lo cual le permite un mayor crecimiento y vigor. Es de ciclo vegetativo largo, tiene un sistema radicular denso y bien anclado. Se puede asociar con otras variedades de Rye grass, leguminosas, kikuyo y festucas. Es bastante resistente a enfermedades por lo que es un pasto muy sano. Puede soportar bien el verano y tiene un alto rendimiento (Alaska, 2015).

2.2 Métodos de conservación

El ganado bovino tanto de carne como de leche se alimenta de pastos y forrajes frescos, pero lamentablemente ciertas épocas del año cuando las precipitaciones son menores, disminuye la disponibilidad de este recurso alimenticio, por lo que es necesario buscar métodos que permitan almacenar el pasto y que mantenga sus propiedades nutricionales. Los métodos más comunes de conservación son: heno, henificación y ensilaje (Moreno & Suerio, 2009).

2.2.1 Heno

La producción de heno permite conservar el forraje convirtiéndolo en un material que pueda almacenarse de manera segura y sin el riesgo de que se dañe el material. Este proceso reduce el contenido de humedad del forraje en menos del 25%. El heno puede conservarse por largos periodos de tiempo (FAO, 2007).

2.2.2 Henolaje

Es un sistema de conservación intermedio entre el heno y ensilaje. Este proceso consiste en embolsar forraje con un 50% de contenido de humedad, de esta manera no pasará aire al interior y se dará lugar a la fermentación anaeróbica. Para obtener un henolaje de buena calidad se debe trabajar con pasto que tenga un alto valor nutritivo y una buena cantidad de materia seca (Romero, Henolaje empaquetado, 2004) .

2.2.3 Ensilaje

Se usa cuando las condiciones climáticas no favorecen la elaboración de los otros métodos de conservación, permite almacenar en húmedo el material y por medio de la acidificación de los carbohidratos simples y solubles (Moreno & Suerio, 2009).

Es un proceso para conservar el forraje fresco, por medio de un proceso de fermentación. Esto permite que se mantenga el material estable durante largo tiempo por la acidificación del medio. Este método está conformado por procesos fermentativos pero debe hacerse sin oxígeno, se presenta la fermentación láctica en la cual se degradan carbohidratos y otros azúcares. También puede presentarse fermentación alcohólica, pero esta puede dañar al ensilaje. Para asegurar ensilajes de buen calidad se puede usar aditivos para mejorar el proceso fermentativo. El principal uso del ensilado es ser una fuente de alimento para los animales en épocas donde carece el forraje fresco (Valencia, Hernández, & López, 2011).

2.2.3.1 Proceso de ensilaje

El proceso de ensilaje consiste en cuatro etapas: fase aeróbica, fase de fermentación, fase estable y fase de deterioro aerobio. En la fase aeróbica el oxígeno disminuye por la respiración de microorganismos como levaduras y enterobacterias. El pH en esta fase es de 6,5-6. En la fase de fermentación inicia el ambiente anaerobio, en esta fase la actividad de las bacterias ácido lácticas empieza a incrementar y su población es mayor. El pH bajará a 3,8-5. Estas bacterias son aeróbicos facultativos (Garcés, Berrio, Ruiz, Serna, & Bulles, 2004).

En la fase estable los microorganismos de la fase aeróbica se reducen y si se mantiene el ambiente sin aire no se tienen cambios mayores. Finalmente en la etapa de deterioro aerobio se pueden observar dos etapas, en la primera se degradan los ácidos orgánicos lo cual aumenta el pH, y esto inicia la segunda etapa en la que la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje aumenta (Garcés, Berrio, Ruiz, Serna, & Bulles, 2004).

2.2.3.2 Ventajas del ensilaje y características del ensilaje

Las ventajas del ensilaje según (Reyes, et al., 2009) son:

- Es una fuente de alimentación para el ganado cuando las condiciones climáticas no son favorables para la producción de forraje.
- Al ser una fuente adicional de alimento, se puede tener una mayor recuperación de los potreros y se evita el sobrepastoreo.
- Se conservan los valores nutritivos del pasto.
- El proceso de ensilado elimina microorganismos dañinos que se encuentran en el forraje a ensilar.
- Permite conservar alimento por mucho tiempo.

El ensilaje bien fermentado tendrá un olor agradable similar al vinagre, color marrón verdoso o amarillo- verdoso, textura firme, pH entre 3.3 y 4.0, tendrá una buena aceptabilidad por el ganado y un valor nutritivo similar al forraje fresco (Bertoia, 2007).

2.2.3.3 Aditivos para ensilaje

Se puede encontrar cuatro tipos de aditivos según (INIA, 2006):

- Carbohidratos solubles: mejoran las fermentaciones debido a que son una fuente de azúcares. Se recomienda de 20-40 kg por tonelada de forraje fresco.
- Aditivos biológicos: aceleran la producción de ácido láctico.
- Ácidos: acidifican el material, ya que disminuye el pH y se evita las malas fermentaciones.
- Absorbentes: disminuyen efluentes y aumentan el contenido de materia seca.

2.2.3.3.1 Uso de bacterias ácido lácticas para la elaboración de ensilaje

El ensilaje permite conservar el valor nutritivo de los forrajes y este proceso se realiza en ausencia del oxígeno. Una vez que empieza el proceso de anaerobiosis, las bacterias productoras de ácido láctico que están presentes en las plantas disminuyen el pH y esto elimina a otros microorganismos (Contreras, Marsalis, & Lauriault, 2009).

Las bacterias ácido lácticas se conocen como inoculantes microbiales o aditivos biológicos, estimulan el proceso de fermentación ya que completan la población ya existente de bacterias en el medio. (Contreras & Muck, 2006).

Ciertas bacterias pueden aumentar la digestibilidad del ensilaje, debido a que liberan enzimas que degradan la pared celular del material, causando la liberación de carbohidratos solubles de manera que podrán ser mejor aprovechados por los microorganismos del rumen (Nsereko, et al., 2008).

2.3 Digestión en rumiantes

Los bovinos son animales poligástricos, es decir que tienen pre-estómagos (rumen, retículo, omaso y abomaso). Los alimentos se degradan mediante la acción microbiana de los microorganismos del rumen los cuales producen ácidos grasos volátiles, los cuales serán una fuente de energía para los animales (INATEC, 2017).

En el retículo- rumen mediante las contracciones de sus paredes, mezcla continuamente el alimento junto con el agua y saliva que ingresa. Los microorganismos actúan sobre este contenido para fermentarlo. Con este proceso de fermentación se tendrán productos finales que

irán directamente a la sangre por medio de las paredes del rumen, los productos que no se absorban pasarán al omaso (Van Lier & Regueiro, 2008).

El omaso extrae los líquidos retenidos en la ingesta y sus láminas funcionan como canal de comunicación entre el retículo y abomaso. El abomaso es el cuarto estómago, debido a que secreta ácidos y enzimas digestivas, se compara con el estómago de los animales no-rumiantes, en el abomaso ingresan algunos productos finales de la fermentación microbiana (Soria, 2011).

2.3.1 Población bacteriana ruminal

Los microorganismos presentes en el rumen mediante un proceso de fermentación se encargan de degradar los nutrientes de los alimentos consumidos por el animal. Existe una relación de simbiosis entre los microorganismos y el animal. Los microorganismos le proporcionan al animal energía y este les brinda un ambiente ideal para su establecimiento (Castillo, Burrola, Domínguez, & Chávez, 2014).

2.3.2 Características de la digestión en rumiantes

De acuerdo con (INTA, 2014):

- Por sus características fisiológicas los rumiantes tienen una mayor variedad de fuentes de alimentos.
- La transformación del alimento fibroso y el nitrógeno no proteico en carne o leche se da gracias a la simbiosis del animal y los microorganismos ruminales.
- Para la producción de saliva y una buena rumia es necesario el consumo de fibra.
- Las heces al ser ricas en materia inorgánica y orgánica se puede usar como fertilizante pero si se tiene un manejo inadecuado puede transformarse en un contaminante.

2.4 Técnicas para evaluar la digestibilidad de los alimentos

2.4.1 Técnica in situ

Es fundamental tener conocimientos sobre la digestibilidad de alimentos para rumiantes, ya que así se puede definir su valor nutritivo y proceder a formular alimento (Giraldo & Gutiérrez, 2007).

La técnica in situ permite evaluar la degradabilidad de cierto material en el rumen de un bovino. El elemento a evaluar se coloca en bolsas cerradas que serán colocadas en el interior de la fístula y transcurrido cierto tiempo se podrá medir la cantidad de alimento que ha sido aprovechado por el animal. Esta técnica ha sido de gran importancia para la nutrición de rumiantes y permite estudiar la relación entre el consumo y la degradabilidad del forraje (Reyes J., 2012).

2.4.2 Técnica in vitro

Esta técnica tiene como objetivo imitar los procesos naturales de digestión que se dan en el animal. Consiste en utilizar líquido ruminal de un animal fistulado para que los microorganismos del rumen entren en contacto con el alimento a evaluar (González & Tarragó, 2011).

Se colocará pepsina ácida para continuar con el proceso de digestión para que por la acción de las enzimas de los microorganismos del líquido ruminal colocado previamente, la celulosa y hemicelulosa se conviertan en productos solubles (González & Tarragó, 2011).

Los azúcares simples que queden como resultado del anterior proceso se convertirán en ácidos grasos volátiles. Mediante este proceso la mayoría de los compuestos solubles se

transforman, pero es importante tomar en cuenta que para la digestión completa de la proteína se requiere la acción de la pepsina (González & Tarragó, 2011).

2.4.3 Método in vivo

Para el uso de esta técnica se debe alojar a los animales en jaulas metabólicas, ya que separan la orina de las heces y esto facilita la recolección de las muestras (Ressia, 2007).

Previamente al ensayo se debe adaptar al animal a la dieta que se desea evaluar, brindándole la misma durante 10 días. Una vez que haya pasado el periodo de adaptación se empieza con la evaluación. Se recoge y pesa el alimento ofrecido, alimento rechazado y las heces. De las muestras recogidas se realiza un análisis de laboratorio para obtener el contenido de materia seca y fibra detergente neutra (Ressia, 2007).

Para determinar la digestibilidad del alimento se relacionan los valores del alimento consumido de materia seca y fibra detergente neutra con los valores de las heces recogidas (Ressia, 2007).

2.4.4 Factores que pueden afectar la digestibilidad

De acuerdo con (Martínez, 2017), la digestibilidad puede variar por factores como:

- Especie animal: cada especie digiere los mismos alimentos dependiendo de sus necesidades y eficiencia.
- Edad: en animales más jóvenes se puede observar una menor digestibilidad debido a una insuficiente capacidad enzimática.
- Composición del alimento: alimentos altos en fibra presentan menor digestibilidad debido a que la fibra protege el resto de macronutrientes de los efectos de las enzimas digestivas.

- Composición de la ración: esto se puede observar principalmente en los rumiantes ya sea por un déficit de proteína o exceso de almidón.
- Nivel de alimentación: relación inversa entre la velocidad del paso de un alimento del tracto digestivo y la exposición a las enzimas digestivas.
- Medio ambiente: depende de la variación de temperatura, por ejemplo en los rumiantes el porcentaje de digestibilidad se ve afectado en un 1.6% por 10 °C de variación de la temperatura ambiental.
- Preparación de los alimentos y sus aditivos.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación de la investigación

3.1.1 Ubicación política

La fase experimental del estudio se realizó en el lote 23 de extensión de 18,984.00 m² ubicado en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE, localizada en la Hacienda “El Prado”.

3.1.2 Ubicación geográfica



Figura 1 Vista aérea del lote 23 del IASA I. Fuente: Google Earth

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Materiales para la evaluación de rendimiento del Rye grass

- Cuadrante
- Hoz

- Balanza digital
- Estufa

3.2.2 Materiales para la elaboración de ensilaje

- Tubos pvc de 6 pulgadas (20,32 cm)
- Tapas de pvc
- Plástico film
- Rye grass var Amazon
- Aditivo de *Lactobacillus helveticus*, Nutrion
- Aditivo de *Lactococcus lactis*, Nutrion
- Aditivo de *Lactobacillus plantarum*, Nutrion
- Melaza
- Tijera de podar
- Balanza digital Camry

3.2.3 Materiales para el análisis bromatológico

3.2.3.1 Determinación de proteína

- Balanza analítica de sensibilidad 0,1 mg
- Manto calefactor Kjeldahl
- Sistema de titulación
- Tubos Kjeldahl
- Matraz de 250 ml
- Ácido sulfúrico con densidad 1,84 g/cm³

- Sulfato de potasio
- Sulfato cúprico
- Solución de hidróxido de sodio al 15%
- Solución de ácido sulfúrico al 0,1 N
- Solución de hidróxido de sodio al 30%
- Solución indicadora de rojo de metilo al 1%
- Solución de hidróxido de sodio 0,1 N
- Ácido bórico al 4%
- Solución de ácido clorhídrico al 0,1 N

3.2.3.2 Determinación de grasa

- Molino de laboratorio
- Balanza analítica de sensibilidad de 0,1 mg
- Placa de calentamiento
- Equipo de soxhlet completo
- Desecador
- Mangueras
- Soporte universal
- Pinzas universales
- Materiales volumétricos
- Papel filtro
- Esferas de vidrio
- Acetona

3.2.3.3 Determinación de fibra vegetal

- Molino de laboratorio
- Balanza analítica de sensibilidad de 0,1 mg
- Estufa
- Plancha de calentamiento
- Embudos de vidrio
- Erlenmeyer (250 ml y 500 ml)
- Desecador
- Papel filtro
- Ácido clorhídrico 1 N
- Hidróxido de sodio 1 N

3.2.3.4 Determinación de ceniza vegetal

- Molino de laboratorio
- Balanza analítica de sensibilidad de 0,1 mg
- Mufla
- Crisoles
- Desecador
- Pinza de crisol

3.2.4 Evaluación de digestibilidad

- Vaca fistulada hembra
- Fundas de poliéster

- Fundas tipo malla
- Cordón
- Balanza analítica de sensibilidad de 0,1 mg
- Estufa
- Selladora de plástico

3.3 Métodos

En la presente investigación se evaluó ensilaje preparado con Rye grass cortado en tres diferentes fechas de corte y con la adición de tres bacterias ácido lácticas diferentes.

Tabla 2

Tratamientos con los que se trabajó para la elaboración del ensilaje de Rye grass

Tratamiento	Microorganismo	Tiempo de corte
T1	M1	C1
T2	M1	C2
T3	M1	C3
T4	M2	C1
T5	M2	C2
T6	M2	C3
T7	M3	C1
T8	M3	C2
T9	M3	C3
T10	M0	C1
T11	M0	C2
T12	M0	C3

T= Tratamiento (Microorganismo + Tiempo de corte); M1= Microorganismo 1 (*Lactobacillus plantarum*), M2= Microorganismo 2 (*Lactococcus lactis*), M3= Microorganismo 3 (*Lactobacillus helveticus*), M0= sin microorganismo, C1= Corte 1 (40 días), C2= Corte 2 (50 días), C3= Corte 3 (60 días).

3.3.1 Diseño experimental

Se evaluó el ensilaje de Rye grass sometido a dos factores: tiempo de corte del pasto (40, 50, 60 días) y adición de aditivos biológicos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*,

Lactobacillus helveticus) con un diseño bifactorial (3x4) con tres repeticiones y un arreglo de bloques completamente al azar (DBCA).

Cada tratamiento fue una unidad experimental teniendo un total de 36 unidades experimentales en la parcela.

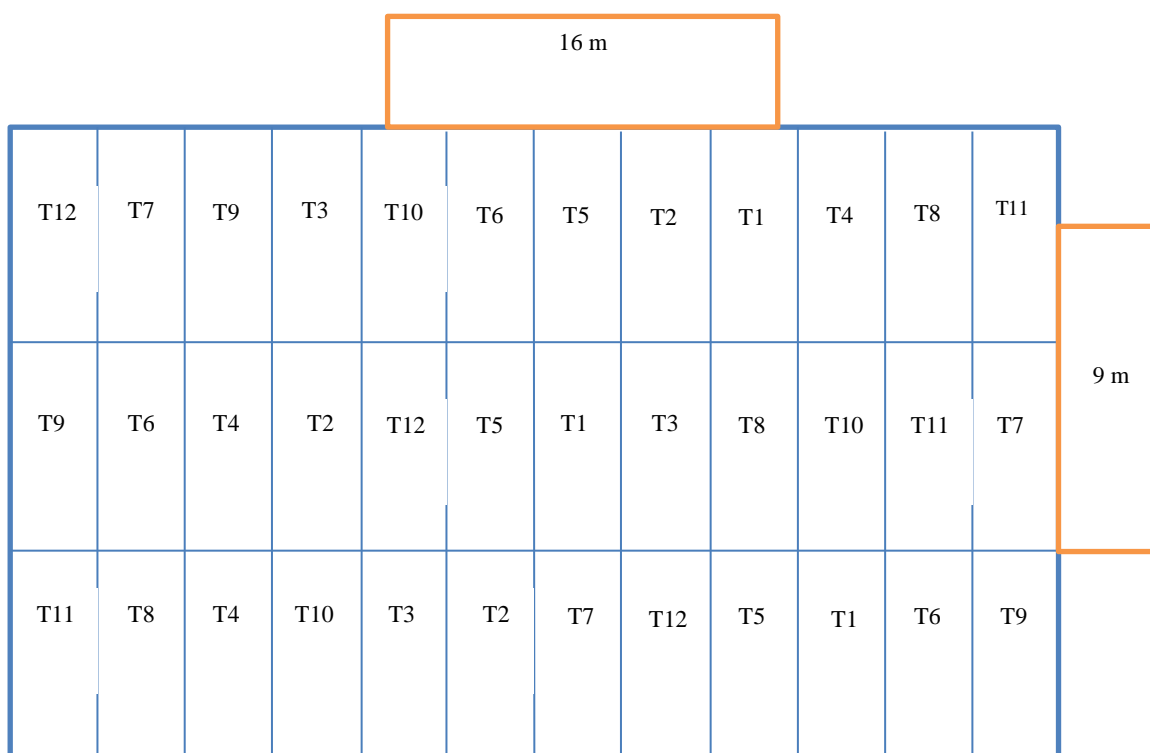


Figura 2 Establecimiento del experimento en el potrero 23 de la hacienda "El Prado"

El modelo matemático del experimento fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + M_j + C_k + MC_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Calidad nutricional y digestibilidad del ensilaje

μ =Media general

β_i =Efecto del i-ésimo bloque

M_j =Efecto del j-ésimo microorganismo

C_k =Efecto del k-ésimo día de corte

MC_{jk} =Efecto de la interacción Microorganismo*Día de corte

ε_{ijk} =Error experimental

3.3.2 Número de tratamientos

12 tratamientos

3.3.3 Número de repeticiones

Tres repeticiones

3.3.4 Parcelas

Cuadradas de $3 \times 3 = 9 \text{m}^2$

3.3.5 Área total del ensayo

144m^2

Forma: Rectangular

3.3.6 Manejo del experimento en campo

3.3.6.1 Instalación de la investigación

En un potrero establecido previamente con Rye grass var. Amazon se realizó un corte de igualación en parcelas del ensayo. Se delimitaron las parcelas con estacas y piola para evitar errores al momento de evaluar y trabajar. A los 40 días se realizó el corte de 1m² de cada parcela con ayuda de un cuadrante y hoz para poder evaluar el rendimiento de producción. Con este material se elaboró el ensilaje de acuerdo a su respectivo tratamiento. Este mismo procedimiento se realizó a los 50 y 60 días del corte.



Figura 3 Parcelas establecidas en el lote 23 para la investigación



Figura 4 Cuadrante de 1m² para evaluar la producción

3.3.6.2 Elaboración del ensilaje

Para la elaboración del ensilaje se colocaron alrededor de 5kg de Rye grass en los tubos, correspondiente a cada edad de corte del pasto. Con ayuda de una tijera para podar se picó el pasto y posteriormente se fue colocando poco a poco en el interior del tubo pvc de 50 cm de altura, para evitar la entrada de oxígeno en el ensilaje se fue apisonando cada capa de pasto, en cada tubo se colocó poco a poco 170 gramos de melaza mezclada con 10ml del aditivo de bacterias ácido lácticas, tomando en cuenta cada tratamiento de la investigación, la dosis aplicada fue la recomendada por la empresa fabricante Nutrion. Una vez que se llenó por completo el tubo con el pasto bien comprimido se tapó con plástico film asegurado con cinta industrial para mantener el proceso de anaerobiosis del ensilaje y así evitar que el pasto se pudra o tenga agentes contaminantes. El ensilaje se mantuvo en maduración por 30 días y cada día se verificó que todos los tubos se mantengan herméticos y sin entradas de aire.



Figura 5 Apisonado del pasto



Figura 6 Adición de melaza y aditivo biológico



Figura 7 Sellado hermético del tubo

3.3.7 Manejo del experimento en el laboratorio

Se recolectaron muestras de 2 kg de pasto y del ensilaje, estas fueron pesadas para proceder a meterlas en la estufa y poder molerlas para realizar el análisis bromatológico.

3.3.8 Variables y evaluación

3.3.8.1 Producción de materia verde y materia seca

Para evaluar el rendimiento del Rye grass se procedió a realizar cortes a los 40, 50 y 60 días, para esto se trabajó con un cuadrante de 1 m² como guía y con ayuda de una hoz se cortó el material y se colocó en fundas plásticas. Posteriormente se pesó la cantidad de pasto para determinar la cantidad de materia verde producida. Para determinar la cantidad de materia verde por hectárea se utilizó la relación:

$$MV.ha^{-1} = MV(Kg) * 10000 m^2$$

Dónde:

MV.ha⁻¹=Materia verde por hectárea

3.3.8.2 Materia seca

Se pesaron 200 gr de pasto fresco de cada unidad experimental para colocarlas en fundas de papel e introducirlas en la estufa del laboratorio de química de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas. Se dejaron secar a 80° C por 24 horas, las muestras secas se pesaron nuevamente para poder calcular la cantidad de materia seca mediante la siguiente relación:

$$\%MS = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} * 100$$

Una vez calculada la cantidad de materia seca se procede a realizar una relación para obtener la cantidad de materia seca por hectárea.



Figura 8 Secado de las muestras

3.3.8.3 Valor nutritivo

3.3.8.3.1 Proteína

El método de Kjeldhal permite evaluar el contenido de nitrógeno de una muestra, presenta tres procedimientos que son: digestión, destilación y titulación. El valor de nitrógeno obtenido será multiplicado con un factor para obtener el porcentaje de proteína (AOAC, 2009).

3.3.8.3.1.1 Digestión de la muestra

En esta fase se formó sulfato de amonio mediante la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico, para esto se siguió el siguiente protocolo según (AOAC, 2009):

- Se pesó en una balanza analítica 1,5 gr de la muestra seca y molida de cada respectivo tratamiento.
- Cada muestra fue colocada en tubos con un cuarto de tableta de Kjeldhal, junto con 15 ml de ácido sulfúrico.
- En la manta calefactora se mantuvo una temperatura de 100 °C por 15 minutos, a 200 °C por otros 15 minutos y finalmente por 340 °C.
- Finalmente se dejó enfriar los tubos hasta temperatura ambiente para añadir 75 ml de agua destilada.

3.3.8.3.1.2 Destilación kjeldhal

Con la adición de hidróxido de sodio se liberó amoníaco que mediante la destilación pasó a convertirse en ácido bórico, para el proceso de destilación se utilizó la metodología de (AOAC, 2009).

- Se calibró el equipo de acuerdo al tipo de muestra y se verificó los tanques de hidróxido de sodio y agua para un óptimo funcionamiento del equipo. Una vez realizado esto se conectó el tubo a la unidad de destilación.
- En un matraz de 250 ml se mezclaron: 30 ml de ácido bórico al 4% y 2 gotas de solución indicadora Tashiro junto con 15 ml de ácido de solución de ácido sulfúrico 0,1 N, 15 ml de agua destilada y 2 gotas de solución indicadora de rojo de metilo.
- Posteriormente se colocó el matraz con el producto preparado en la unidad de destilación.
- El equipo realizó la destilación por 5 minutos. (Se completó 100 ml del matraz hasta obtener una coloración verdosa).

3.3.8.3.1.3 Titulación de la muestra

Al obtener en la destilación ácido bórico se realizó una valoración con ácido clorhídrico mediante el siguiente proceso según (AOAC, 2009):

- Se tituló con el ácido clorhídrico 0.1 N hasta observar el cambio de color de verde a rosado.
- Para obtener el porcentaje de proteína de cada muestra primero se obtuvo el porcentaje de nitrógeno mediante la siguiente formula:

$$\%N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

Dónde:

N=Normalidad de la solución

V=Gasto de titulación de HCl al 0.1 N

m=Masa de la muestra en gramos

Para obtener el porcentaje de proteína bruta a partir del contenido de nitrógeno se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%P = \%N \times \text{Factor}$$

El factor es: 6,25



Figura 9 Proceso de digestión de las muestras



Figura 10 Destilación de muestras



Figura 11 Titulación de la muestra

3.3.8.3.2 Grasa

Para determinar el porcentaje de grasa de cada muestra se utilizó la técnica de Soxhlet, este se conoce como el método más común, de acuerdo con (UPO, 2004) la metodología con la que se trabajó fue la siguiente:

- Se pesaron balones de destilación secos con esferas de vidrio en los cuales se colocaron 3 gramos de muestra en un dedal de papel filtro para ubicarlo dentro del sifón Soxhlet.
- Se agregó solvente al sifón hasta que caiga al balón y proceder a colocar 20 ml de solvente adicional.
- Una vez las conexiones estuvieron realizadas correctamente se dejó fluir agua por el refrigerante para posteriormente prender la placa de calentamiento a 250 °C.
- El solvente tenía que caer al balón 4 veces, cada una de estas caídas se denomina sifonada.
- Después de la última sifonada se retiró el dedal con la muestra y se extrajo la mayor cantidad de solvente posible, hasta que el balón se quede sólo con la grasa.
- Se colocó el balón en una estufa a 80 °C por 24 horas, una vez que transcurrió el tiempo se dejó enfriar el balón dentro del desecador, para así finalmente poder pesarlo en una balanza analítica.

El contenido de grasa en la muestra se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\%G = \frac{B2-B1}{m} \times 100$$

Dónde:

B1=Peso inicial del balón

B2=Peso final del balón con muestra

m= masa en gramos

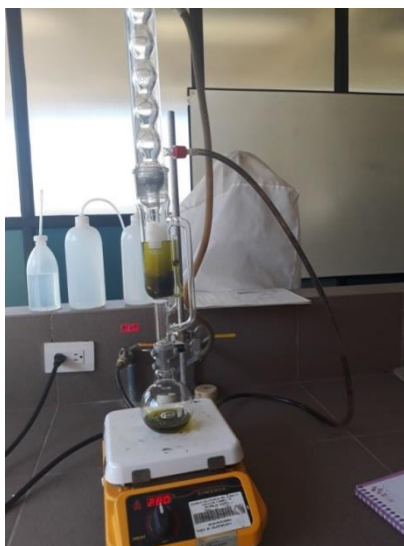


Figura 12 Extracción de grasa

3.3.8.3.3 Fibra

El procedimiento para determinar el contenido de fibra en una muestra se basó en la digestión alcalina y ácida para obtener el residuo de sales y fibra cruda. Con calcinación estos elementos se transformaron en fibra cruda, este proceso se realizó según la norma mexicana (NMX-F-090-S-1978, 1978):

- Se pesó en una balanza analítica 3 gramos de cada tratamiento y estos fueron colocados en matraces de 250 ml.
- En cada matraz se adicionó 100 ml de ácido clorhídrico 1 N.
- Se dejaron los matraces en ebullición por 2 horas agitando cada cierto tiempo en una placa de calentamiento.
- Una vez pasado el tiempo se filtró el material y lavó con 200 ml de agua destilada.

- Posteriormente en el mismo matraz se lavó el papel filtro de la muestra con 100 ml de hidróxido de sodio 1N.
- Con la última lavada se dejó en calentamiento por ebullición por 2 horas.
- En una estufa a 80 °C se secó papel filtrado por una hora para proceder a pesar y etiquetar de acuerdo con la muestra a ser filtrada, esta muestra fue lavada con 200 ml de agua destilada.
- Finalmente al terminar el filtrado se secó el papel filtro en una estufa a 80 °C por 24 horas y una vez transcurrido el tiempo se pesaron en una balanza analítica.

Para calcular el porcentaje de fibra de cada muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%F = \frac{A-B}{C} \times 100$$

Dónde:

A=Peso del papel + muestra

B=Peso del papel

C=Peso de la muestra



Figura 13 Filtrado de las muestras

3.3.8.3.4 Ceniza

Para determinar el contenido de ceniza en cada muestra se procedió a pesar cada crisol sin muestra. Se pesaron 3 gramos de cada tratamiento y se colocaron en un crisol. El crisol con muestra se quemó en la cámara extractora de gases en una placa de calentamiento. Finalmente se colocó el crisol en la mufla por 4 horas a 500 °C, cuando transcurrió el tiempo se dejó enfriar los crisoles dentro del desecador para ser pesados en una balanza analítica (Olvera, Martínez, & Real de León, 1993).

Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el contenido de ceniza de cada muestra:

$$\%C = \frac{Pf - C}{M} \times 100$$

Dónde:

Pf=Peso final

C=Peso del crisol

M=Peso de la muestra en gramos



Figura 14 Quema de muestras

3.3.8.3.5 Humedad

Para el porcentaje de humedad en una capsula de porcelana previamente pesada, se colocaron 3 gramos de cada muestra, esto se colocó en la estufa por 24 horas a 100 °C. Una vez que se haya cumplido el tiempo establecido se colocaron las capsulas a enfriar en un desecador para finalmente ser pesadas en la balanza analítica (Olvera, Martínez, & Real de León, 1993).

3.3.8.4 Energía bruta y metabolizable

Para el cálculo de la energía bruta se utilizaron los valores de proteína, ceniza, grasa y fibra obtenidos en el análisis bromatológico. Una vez obtenido el valor de energía bruta, en el caso de los rumiantes se obtiene la energía metabolizable calculando el 80% de los valores de Kcal de energía bruta de cada macronutriente.

Para realizar la transformación a Kcal/ g se utilizaron los factores generales de atwater. Los cuales corresponden a 4 Kcal/g para proteínas, 9 Kcal/g para grasas y 4 Kcal/g para

carbohidratos, los carbohidratos se calcularon sustrayendo del 100% el resto de macronutrientes calculados previamente (Charrondiere, s.f).

3.3.8.5 Digestibilidad in situ

La digestibilidad in situ se realizó con una vaca fistulada de cruce Holstein x Montbeliarde de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas. Se colocaron 5 gramos del material molido de cada tratamiento aleatoriamente en el interior de las fundas de tela polyester cuyas dimensiones fueron de 10 cm x 20 cm, estas se cerraron con ayuda de una máquina selladora de plástico, de esta manera se evitó pérdidas del material.

Posteriormente se colocaron las fundas con el material distribuidas aleatoriamente en grupo de 5 en bolsas tipo malla.

Se llevó al animal a la manga de manejo para poder retirar el tapón de la fistula, se sacó un poco de alimento y se introdujeron las bolsas tipo malla en el interior del rumen, estas fueron amarradas entre sí para evitar la pérdida de las mismas. Finalmente se lavó cualquier residuo de jugo gástrico del cuerpo del animal y se procedió a colocar nuevamente el tapón. Las bolsas tipo malla se retiraron 24 horas después. Una vez transcurrido el tiempo las bolsas se sumergieron en agua a 12 °C para detener el proceso de digestión (Ørskov, DeB Hovell, & Mould, 1980).

Para el secado del material se colocaron las fundas con el material en una estufa a 45 °C por 72 horas. Al cumplirse el tiempo en la estufa se procedió a pesar cada funda en una balanza analítica de sensibilidad de 0,1 mg (Ørskov, DeB Hovell, & Mould, 1980).



Figura 15 Elaboración y sellado de las fundas



Figura 16 Introducción de las bolsas en la fístula

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se evaluaron 4 variables: producción (materia verde y materia seca), valor nutritivo (proteína, fibra, grasa, ceniza), energía metabolizable y digestibilidad.

Para la investigación se utilizaron tres aditivos biológicos para ensilaje de la empresa Nutrion (*Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*) y un testigo, se trabajó con Rye grass en tres diferentes tiempos de corte (40-50-60 días), sobre un potrero establecido, el cual fue previamente fertilizado de acuerdo a sus requerimientos.

Las variables fueron procesadas en el software infostat (Di Rienzo, 2017).

4.1 Producción

Tabla 3

Promedio ± error estándar de la producción de materia verde (Kg. MV-1. Ha-1) y materia seca (Kg. MV-1. Ha-1) de Rye grass var Amazon en tres tiempos de corte diferentes.

Materia verde Kg. MV-1. Ha-1		Materia seca Kg. MV-1. Ha-1		
Días de corte	Media ± E.E	Días de corte	Media ± E.E	
60	12586.33 ± 399.77	60	3484.56 ± 163.61	A
50	7637.33 ± 276.85	50	1821.33 ± 129.59	B
40	6326.67 ± 631.85	40	1510.62 ± 146.92	B

La producción de materia verde promedio fue diferente para los tres tiempos de corte ($F=51.43$; $p=0.0002$). A los 60 días de corte se obtuvo la mayor cantidad de producción de materia verde con un valor de 12586.33 Kg. MV-1. Ha-1, mientras que a los 40 días de corte se obtuvo

la menor cantidad de producción de materia verde con un valor de 6326.67 Kg. MV-1. Ha-1 (Tabla 3).

La producción de materia seca promedio fue diferente para los tres tiempos de corte ($F=51.88$; $p=0.0002$). A los 60 días de corte se observó la mayor cantidad de producción de materia seca con un valor de 3484.56 Kg. MV-1. Ha-1, a los 40 días de corte se obtuvo la menor cantidad de materia seca con un valor de 1510.62 Kg. MV-1. Ha-1 (Tabla 3). El valor de materia seca es similar al estudio de Villalobos & Sanchez (2010) en el cual obtuvieron un promedio de 4110 Kg. MS-1 de Rye grass a los 60 días de corte.

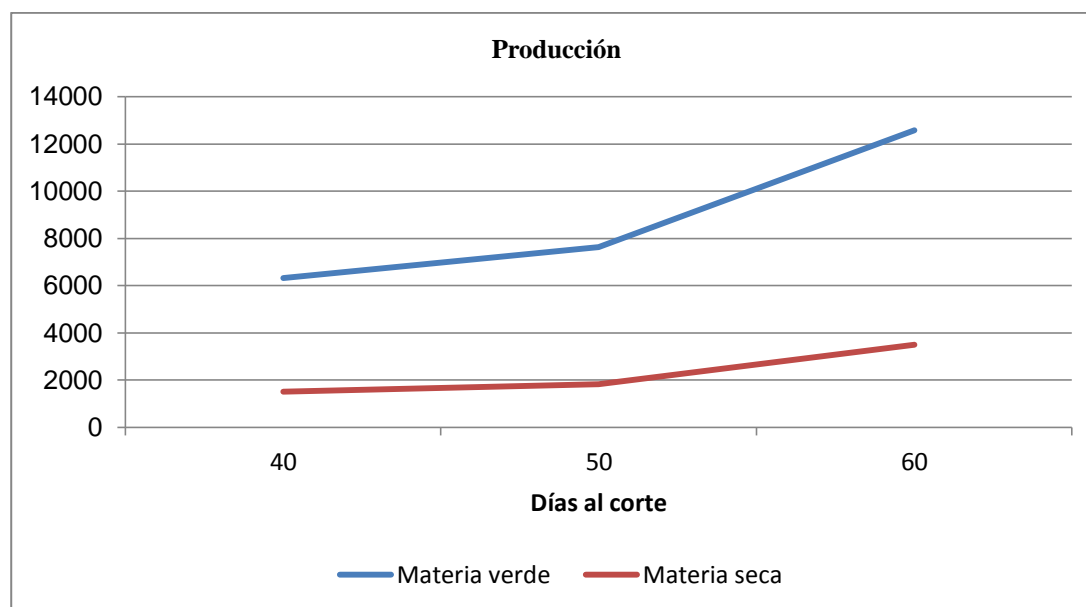


Figura 17 Promedio de la producción de la materia verde (Kg. MV-1. Ha-1) y seca (Kg. MS-1. Ha-1) de Rye grass en cada tiempo de corte.

4.2 Valor nutricional

4.2.1 Proteína, grasa, ceniza y fibra.

Tabla 4

Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte

Días al corte	Microorganismo	%Proteína	% Grasa	% Ceniza	%Fibra
40 días	<i>L.plantarum</i>	11.72	7.38	13.75	24.44
40 días	<i>L.lactis</i>	11.84	8.38	12.80	21.61
40 días	<i>L.helveticus</i>	11.43	9.71	14.69	26.43
40 días	Sin aditivo	12.65	8.78	13.79	23.46
50 días	<i>L.plantarum</i>	8.40	7.10	12.76	30.68
50 días	<i>L.lactis</i>	9.04	8.70	12.48	22.47
50 días	<i>L.helveticus</i>	11.08	9.01	11.87	27.88
50 días	Sin aditivo	8.98	7.60	12.99	25.77
60 días	<i>L.plantarum</i>	7.64	6.63	8.75	31.03
60 días	<i>L.lactis</i>	8.81	6.50	9.52	30.68
60 días	<i>L.helveticus</i>	8.16	5.87	9.07	28.22
60 días	Sin aditivo	7.93	6.88	8.75	29.49

En el porcentaje de proteína los tratamientos con el mayor valor fueron los correspondientes a los 40 días al corte y de estos el que se destacó con un 12.65 % de proteína fue el tratamiento T10. Los tratamientos de 60 días al corte presentaron los porcentajes más bajos de proteína (Tabla 4). De acuerdo con el análisis de composición química del ensilaje de Rye grass según (FEDNA, s.f) el porcentaje obtenido de proteína en el ensilaje es aceptable.

En el porcentaje de grasa se destacaron los tratamientos a los 40 días al corte, el tratamiento T7 fue el que presentó el mayor porcentaje con un valor de 9.71%. Los tratamientos con el valor más bajo de grasa fueron los correspondientes a los 60 días al corte (Tabla 4). Esta información coincide con la investigación de Alvear & Cabezas (2018) en la que se manifiesta que el porcentaje de grasa va disminuyendo con la edad de la pastura.

El porcentaje de ceniza fue más alto en los tratamientos de 40 días al corte, el tratamiento T7 con un valor de 14.69%, mientras que los tratamientos de 60 días al corte tuvieron los valores más bajos de ceniza (Tabla 4).

En el porcentaje de fibra se observó que los valores más altos fueron los tratamientos de 60 días al corte, el tratamiento T3 tuvo el valor más alto con 31.03%. Los valores más bajos de fibra correspondieron a los tratamientos de 40 días corte, el tratamiento T4 presentó el valor más bajo con un 21.61% (Tabla 4). Es importante tener en cuenta que un porcentaje alto de fibra tiende a disminuir la digestibilidad del alimento por lo tanto el contenido de fibra debe ser ideal para el aprovechamiento de los microorganismos del rumen (Villalobos, 2012).

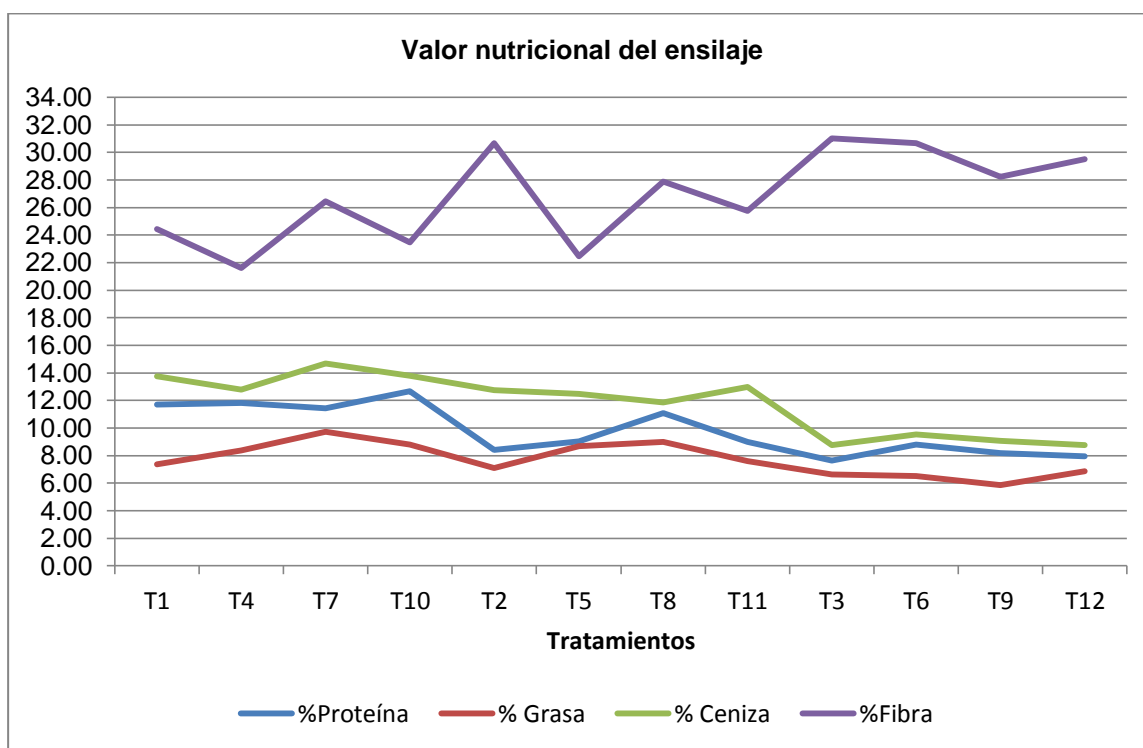


Figura 18 Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del ensilaje de Rye grass para cada microorganismo y corte

Tabla 5

Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra de Rye grass sometido a 3 tiempos de corte

Días al corte	%Proteína	% Grasa	% Ceniza	%Fibra
40	11.0796	5.5930	10.9075	26.0657
50	10.7917	5.5424	9.5844	27.7719
60	8.2217	4.7952	7.9164	28.5053

El porcentaje de proteína, ceniza y grasa tuvo el valor más alto a los 40 días de corte, mientras que el porcentaje de fibra presentó el valor más alto a los 60 días de corte (Tabla 5), en la investigación de Romero, Aronna, & Cuatrin (2019) se observa el mismo comportamiento, a medida de que aumenta la edad del pasto se tendrá un mayor porcentaje de fibra y disminuirá la calidad nutricional. Al comparar el porcentaje de fibra del ensilaje con el pasto fresco se observa que el pasto fresco presenta un menor porcentaje.

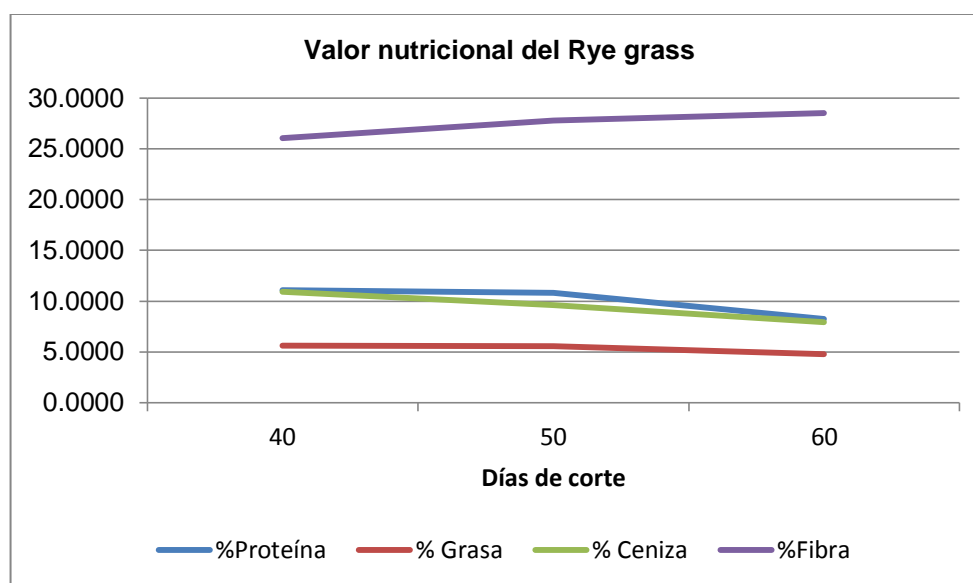


Figura 19 Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y fibra del Rye grass fresco sometido a tres tiempos de corte

4.2.2 Energía bruta y metabolizable

Tabla 6

Total de Kcal que aporta cada macronutriente en un kilogramo de ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte

Días al corte	Microorganismo	Proteína	Grasa	Carbohidratos	TOTAL kcal/Kg EB	TOTAL kcal/Kg EM
40 días	<i>L.plantarum</i>	46.881	66.41	170.83	2841.21	2272.97
40 días	<i>L.lactis</i>	47.351	75.39	181.50	3042.42	2433.94
40 días	<i>L.helveticus</i>	45.720	87.39	150.94	2840.50	2272.40
40 días	<i>Sin aditivo</i>	50.616	79.03	165.27	2949.16	2359.33
50 días	<i>L.plantarum</i>	33.600	63.93	164.22	2617.46	2093.97
50 días	<i>L.lactis</i>	36.159	78.29	189.24	3036.96	2429.57
50 días	<i>L.helveticus</i>	44.320	81.09	160.63	2860.38	2288.31
50 días	<i>Sin aditivo</i>	35.929	68.41	178.63	2829.67	2263.73
60 días	<i>L.plantarum</i>	30.560	59.66	183.78	2740.07	2192.06
60 días	<i>L.lactis</i>	35.226	58.49	177.98	2716.95	2173.56
60 días	<i>L.helveticus</i>	32.658	52.87	194.66	2801.96	2241.57
60 días	<i>Sin aditivo</i>	31.719	61.90	187.81	2814.37	2251.49

Los tratamientos de 40 días tuvieron un mayor aporte energético, el tratamiento T4 presentó el mayor valor con 2433.94 Kcal/ Kg (Tabla 6). De acuerdo con Valles de la Mora, Castillo & Bernal (2016) la energía disminuye a medida que aumenta la edad del pasto, lo cual podemos observar en los resultados de la presente investigación.

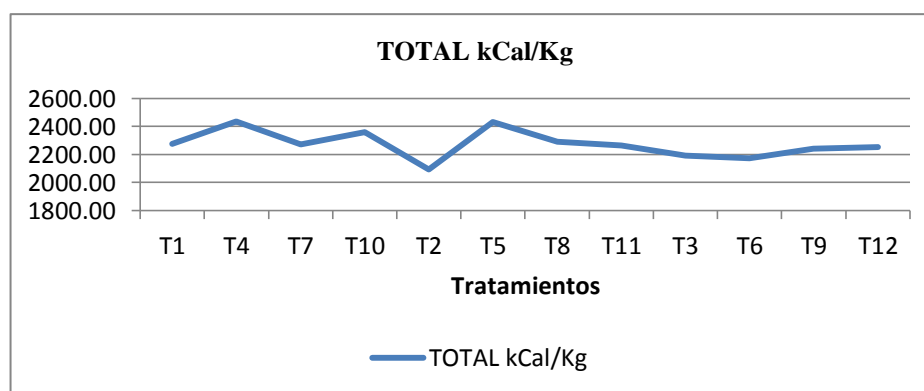


Figura 20 Energía metabolizable del ensilaje de Rye grass para cada tratamiento

Tabla 7

Total de Kcal por kilogramo que aporta cada macronutriente en el Rye grass sin ensilar

Días al corte	Proteína	Grasa	Carbohidratos	TOTAL Kcal/Kg	TOTAL Kcal/kg/ EM
40	62.05	52.57	185.42	3000.37	2400.29
50	60.43	52.10	185.24	2977.71	2382.16
60	46.04	45.08	202.25	2933.62	2346.90

A los 40 días de corte se puede observar el mayor aporte energético con un valor de 2400.29 Kcal/kg (Tabla 7). Al comparar la cantidad de Kcal/kg que aporta el ensilaje y el pasto fresco, se determinó que el ensilaje tiene un aporte mayor, debido a que de acuerdo con FEDNA (s.f) el ensilaje de Rye grass tiene un alto contenido de azúcares.

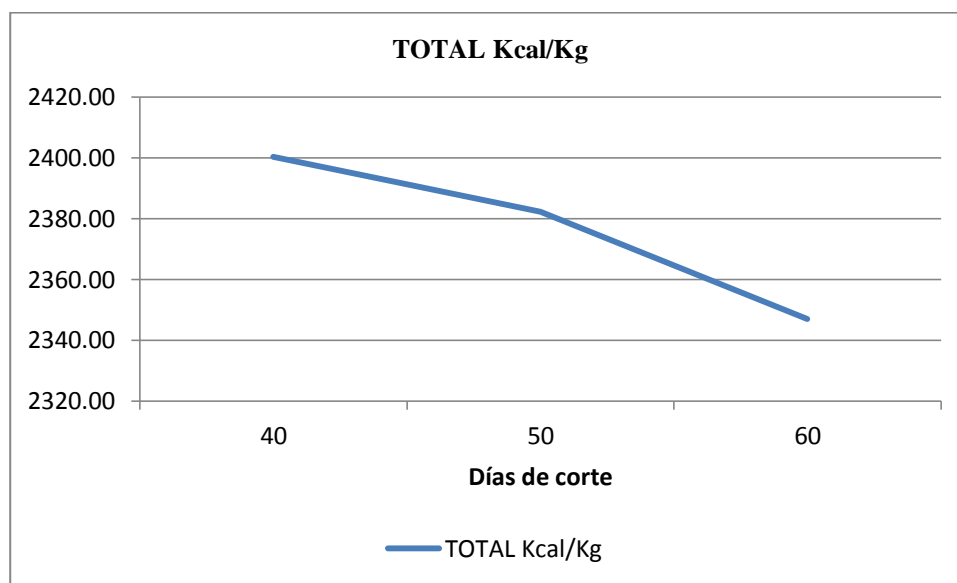


Figura 21 Energía metabolizable de Rye grass sin ensilar, sometido a diferentes días de corte

4.3 Digestibilidad

Tabla 8

Análisis de varianza para el porcentaje de digestibilidad de ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte

Fuente de variación	Gl	F-value	p-valor
Microorganismo	3	2.99	0.051
Corte	2	30.48	<0.0001
Microorganismo* Corte	6	0.9	0.5113

En el ANAVA no se encontró un efecto significativo de la interacción Microorganismo* Corte sobre el porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass ($F=0.9$, $p=0.5113$). Sin embargo se encontró un efecto significativo de los días al corte ($F=30.48$, $p=0.0001$) sobre el porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass. Nsereko, et al (2008) Menciona que la digestibilidad del ensilaje puede aumentar con algunas bacterias ácido lácticas, pero en este caso no se observa un efecto de las mismas.

Tabla 9

Promedio \pm error estándar del porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido lácticas y sometido a 3 tiempos de corte.

Días al corte	Microorganismo	Media \pm E.E	
40	<i>L. Lactis</i>	54.26 \pm 0.56	A
40	<i>L. Helveticus</i>	47.95 \pm 2.7	A B
40	<i>Sin aditivo</i>	45.21 \pm 0.89	A B
40	<i>L. Plantarum</i>	44.96 \pm 1.62	A B
50	<i>L. Lactis</i>	41.08 \pm 2.65	B C
50	<i>L. Helveticus</i>	41.05 \pm 2.14	B C
50	<i>Sin aditivo</i>	40.89 \pm 0.27	B C
50	<i>L. Plantarum</i>	39.06 \pm 3.07	B C
60	<i>L. Lactis</i>	37.12 \pm 3.75	B C
60	<i>L. Helveticus</i>	36.52 \pm 2.03	B C
60	<i>Sin aditivo</i>	36.17 \pm 2.49	BC
60	<i>L. Plantarum</i>	31.79 \pm 2.77	C

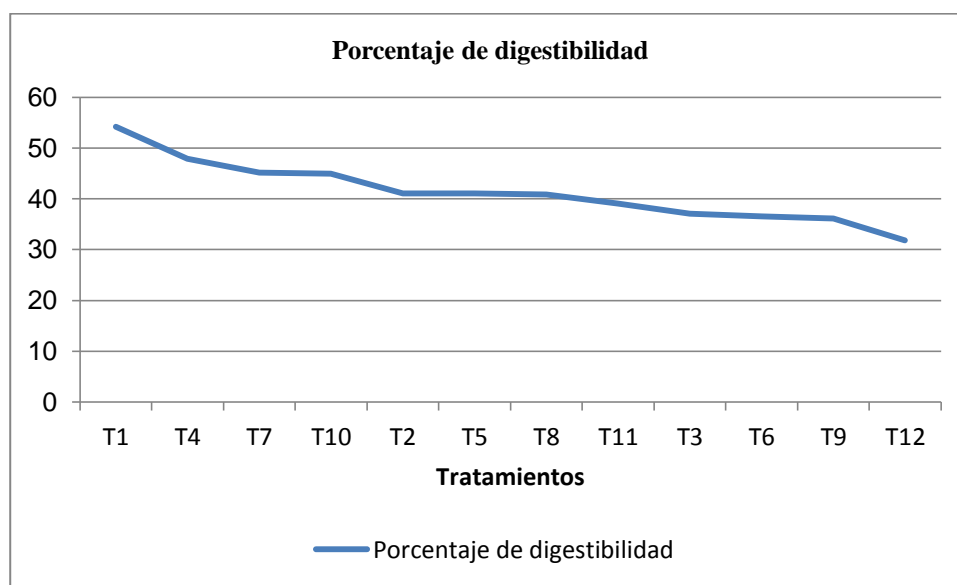


Figura 22 Porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass tratado con diferentes bacterias ácido láctico y sometido a 3 tiempos de corte

El ensilaje del tratamiento T4; elaborado con Rye grass cortado a los 40 días y tratado con *Lactococcus lactis* presentó el mayor porcentaje de digestibilidad respecto a los demás tratamientos con una media de 54.26 ± 0.56 (Tabla 9). Según Martínez (2017) la digestibilidad se verá afectada por la composición de un alimento, es decir entre mayor sea el contenido de fibra y más bajo el de proteína se tendrán valores más bajos.

Tabla 10

Promedio \pm error estándar del porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass en tres tiempos de corte

Días al corte	Media \pm E.E	
40	48.1 ± 1.33	A
50	40.52 ± 1.01	B
60	35.4 ± 1.36	C

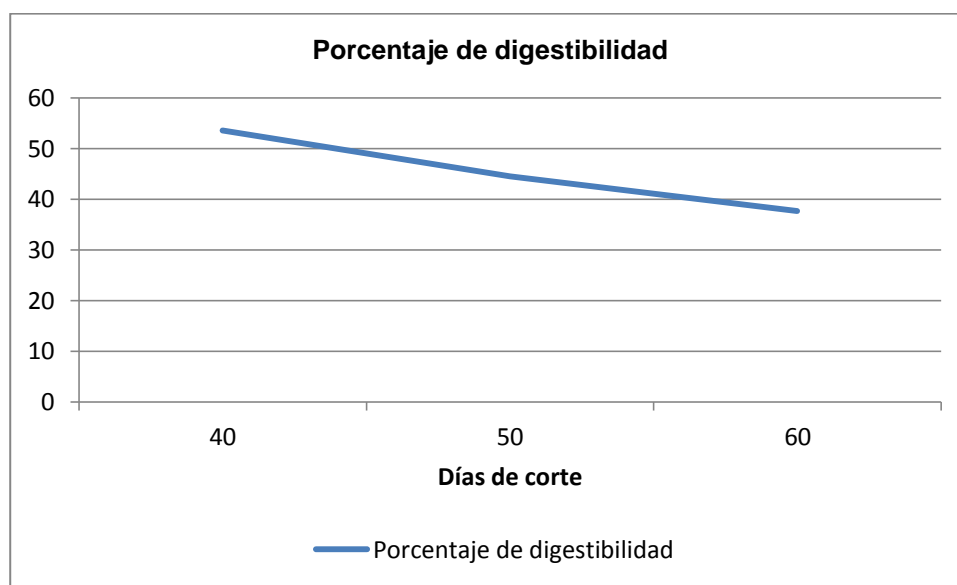


Figura 23 Porcentaje de digestibilidad del ensilaje de Rye grass en tres tiempos de corte.

El factor días al corte tuvo un efecto significativo en la investigación por lo cual al analizarlo de manera independiente se encontró que el ensilaje elaborado con Rye grass cortado a los 40 días contó con el mayor valor en la media respecto a los demás cortes con un porcentaje de 48.1% (Tabla 10). Según Di Marco (2012) con el mayor contenido de fibra se tendrá un menor porcentaje de digestibilidad, debido a que la actividad microbiana del rumen es menor, lo cual concuerda con esta investigación ya que se observa que los mayores valores de digestibilidad están presentes en el ensilaje y pasto sin ensilar de 40 días.

Tabla 11

Promedio ± error estándar del porcentaje de digestibilidad de Rye grass sin ensilar en tres tiempos de corte

Días al corte	Media ± E.E	
40	53.55 ± 4.72	A
50	44.49 ± 2.4	A B
60	37.63 ± 1.37	B

A los 40 días de corte se observó la media más alta del porcentaje de digestibilidad del Rye grass sin ensilar con un valor de 53.55% (Tabla 11). Es importante mencionar que al comparar el porcentaje de digestibilidad se determinó que esta fue mayor en el pasto sin ensilar.

Tabla 12

Correlación ordinal de Spearman de las variables evaluadas en el ensilaje

Variables	Digestibilidad	Energía	Fibra	Proteína	Grasa	Ceniza
Digestibilidad	1	0.06	0.02	0.01	0.03	0
Energía	0.57	1	0	0.01	0.02	0.12
Fibra	-0.64	-0.92	1	0	0.03	0.03
Proteína	0.83	0.78	-0.82	1	0.01	0
Grasa	0.64	0.72	-0.63	0.74	1	0.01
Ceniza	0.83	0.47	-0.64	0.83	0.7	1

Se trabajó con los coeficientes de covarianza de Spearman para identificar la covarianza entre las variables estudiadas ($p < 0.05$). Se encontró una correlación positiva entre la digestibilidad y la fibra ($p = 0.02$); digestibilidad y proteína ($p = 0.01$); digestibilidad y ceniza ($p = 0.00$); energía y fibra ($p = 0.00$); energía y proteína ($p = 0.01$); energía y grasa ($p = 0.02$); fibra y proteína ($p = 0.00$); fibra y grasa ($p = 0.03$); fibra y ceniza ($p = 0.03$); proteína y grasa ($p = 0.01$); proteína y ceniza ($p = 0.00$); grasa y ceniza ($p = 0.01$) (Tabla 12). La correlación de la digestibilidad y fibra concuerda con lo mencionado por Di Marco (2012), ya que la digestibilidad tiene relación con el porcentaje de fibra.

Tabla 13

Correlación ordinal de Spearman de Digestibilidad y Producción de materia seca del Rye grass

Variables	Producción	Digestibilidad
Producción	1.00	0.16
Digestibilidad	-1.00	1.00

Para identificar las correlaciones entre la digestibilidad y Producción el Rye grass se trabajó con los coeficientes de covarianza de Spearman ($p < 0.05$). Se encontró una correlación negativa entre la digestibilidad y la producción ($p = -1.00$) (Tabla 13).

Tabla 14

Regresión no lineal de la digestibilidad en función de la producción de materia seca de Rye grass

Parámetros	Estimación
B0	356
B1	-142.50
B2	-13.45

El modelo matemático es el siguiente: $b_0 + (b_1 * Digestibilidad) * (Digestibilidad < b_2) + (b_1 * b_2) * (Digestibilidad > b_2)$.

El valor de B1 representa la tasa de producción con la que disminuye la digestibilidad del Rye grass (Tabla 14).

Esto coincide con Romero, Aronna & Cuatrin (2019) ya que entre más tardío se realice el corte de la pastura se tendrá un mayor producción de materia seca, pero la calidad nutricional se verá afectada y por ende la digestibilidad del pasto disminuirá.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- El punto ideal de corte para la elaboración de ensilaje es a los 40 días ya que presenta una mejor calidad nutritiva.
- En el valor nutricional del ensilaje de Rye grass se observó que el contenido de proteína fue mayor para el tratamiento 10 (40 días de corte + sin microorganismo) con un porcentaje de 12.65%, el de grasa y ceniza fue el tratamiento 7 (40 días de corte + *L. helveticus*) con un porcentaje de 9.71% y 14.69%; el de contenido más alto de fibra fue el tratamiento 3 (60 días + *L. plantarum*) con un porcentaje de 31.03%, al comparar los valores nutricionales del ensilaje con el Rye grass sin procesar se puede observar que los correspondientes al ensilaje son mayores a los del pasto normal.
- El mayor aporte energético se observó con el tratamiento T4 (40 días + *Lactococcus lactis*) con un valor de 2433.94 Kcal/ kg. El ensilaje presentó un mayor valor de energía metabolizable que el del pasto sin ensilar que tuvo un valor de 2400.29 Kcal/ kg.
- De acuerdo al análisis de varianza no hubo un efecto significativo por parte del aditivo biológico para ensilaje en el porcentaje de digestibilidad. Sin embargo la digestibilidad más alta se observa en los tratamientos correspondientes a los 40 días al corte.

- Al comparar las medias de digestibilidad del ensilaje analizando solamente el factor tiempo de corte con el pasto fresco se puede determinar que el pasto fresco presenta un mayor porcentaje de digestibilidad que el ensilaje.
- Se encontró la correlación negativa entre la producción de materia seca y digestibilidad, debido a que si se deja pasar más tiempo para el corte se tendrá una mayor producción pero al ser un pasto más maduro su calidad nutricional disminuirá y esto por ende afectando la digestibilidad.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda utilizar Rye grass var Amazon cortado a de los 40 días para realizar ensilaje, debido a que se obtuvieron los mejores valores en la digestibilidad y valor nutritivo.
- Se debería trabajar con pasto más joven para determinar si se puede obtener un ensilaje con mayor digestibilidad que el pasto fresco.
- Sería conveniente realizar investigaciones sobre ensilaje en mezclas forrajeras para saber si se pueden obtener mejores resultados

5.3 Bibliografía

- Alaska. (2015). *Pastos perennes*. Obtenido de http://www.imporalaska.com/uploads/products/2019/06/ficha_1560784848_1560784889.pdf
- Alvear, A., & Cabezas, V. (2018). *Efecto de la fertilización fosfatada sobre la producción y digestibilidad de una mezcla forrajera en tres diferentes tiempos de corte*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15870/1/T-IASA%20I-005474.pdf>
- AOAC. (2009). Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain and Oilseeds. *Animal feed*(4), 34.
- Bertoia, L. (2007). *Algunos conceptos sobre ensilaje*. Obtenido de <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/algunos-conceptos-sobre-ensilaje-t27275.htm>
- Bologna, J. (2014). *Ráigras anual: Ráigras diploide o triploide*. Obtenido de <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/raigras-anual-raigras-diploide-t30662.htm>
- Castillo, A., Burrola, M., Domínguez, J., & Chávez, A. (2014). *Rumen microorganisms and fermentation*. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2014000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Castro, H., Domínguez, I., Morales, E., & Huerta, M. (2015). *Composición química, contenido mineral y digestibilidad in vitro de raigrás (Lolium perenne) según intervalo de corte y época de crecimiento*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v8n2/2448-6698-rmcp-8-02-00201.pdf>
- Charrondiere, R. (s.f). *Convenios y modos de expresión de los componentes*. Obtenido de <http://www.fao.org/tempref/AG/agn/infoods/Conveniosymodosdeexpresion.pdf>
- Contreras, F., & Muck, R. (2006). Microbial Inoculants for Silage. *Focus on Forage*, (8):1.
- Contreras, F., Marsalis, M., & Lauriault, L. (2009). *Inoculantes microbiales para ensilaje: Su uso en condiciones de clima cálido*. Obtenido de https://aces.nmsu.edu/pubs/_circulars/CR642_SPANISH.pdf

- Di Marco, O. (2012). *Estimación de la calidad de forrajes*. Obtenido de <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/estimacion-calidad-forrajes-t29621.htm>
- Di Rienzo, J. (2017). *Infostat*. Obtenido de <https://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=34>
- FAO. (2007). *Producción de heno*. Obtenido de <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/007/x7660s/x7660s02.pdf>
- FEDNA. (s.f.). *Ray grass*. Obtenido de <http://www.fundacionfedna.org/forrajes/ray-grass-verde>
- FEDNA. (s.f.). *Rye grass, silo*. Obtenido de <http://www.fundacionfedna.org/forrajes/ray-grass-silo>
- Garcés, A., Berrio, L., Ruiz, S., Serna, J., & Bulles, G. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista lasallista de investigación*, (1): 1. Obtenido de Revista Lasallista de investigación
- Giraldo, L., & Gutiérrez, L. (2007). *Comparison between in vitro and in situ protocols for estimating true digestibility of several tropical forages*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v20n3/v20n3a05.pdf>
- González, V., & Tarragó, J. (2011). *Digestibilidad "in vitro" como método para determinar el valor nutritivo de los forrajes*. Obtenido de [polired.upm.es > index.php > pastos > article > download](http://polired.upm.es/index.php/pastos/article/download)
- Hidalgo, P. (2010). *Evaluación del comportamiento productivo de una mezcla forrajera de Ray grass (Lolium perenne), pasto azul (Dactylis glomerata) y trébol blanco (Trifolium repens) mediante la utilización de diferentes niveles de vermicompost*. Obtenido de <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1256/1/17T0964.pdf>
- INATEC. (2017). *Manual de bovinos y caprinos*. Obtenido de https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Bovinos_y_Equinos_02.pdf
- INIA. (2006). Conservación de forrajes. *Boletín INIA No. 148*.
- INTA. (2014). *Nutrición animal aplicada*. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_curso_nutricin_animal_aplicada_2014.pdf
- INTA. (2016). Pastos y forrajes. *Manual del protagonista*, 1-2.

- López, M., Murrieta, S., & López, R. (2009). *Percepción de los ganaderos respecto a la sequía: viabilidad de un manejo de los agostaderos que prevenga sus efectos negativos. Estudios sociales* (17):. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572009000300010
- Martínez, A. (2017). *Nutrición y alimentación animal*. Obtenido de http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/17_17_30_Valoracion_de_Alimentos.pdf
- Moreno, E., & Suerio, N. (2009). *Conservación de forrajes*. Obtenido de <http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/PASTURAS%20CRS/Seminarios%202009/Conservacion%20de%20Forrajes.pdf>
- NMX-F-090-S-1978. (1978). *Determinación de fibra cruda en alimentos*. Obtenido de <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-090-S-1978.PDF>
- Nsereko, V., Smiley, B., Rutherford, W., Spielbauer, A., Forrester, K., Hettinger, G., & Harman, B. (2008). Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Animal Feed Science*, 145(1-4), 122-135.
- Olvera, M., Martínez, C., & Real de León, E. (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/ab489s/ab489s03.htm>
- Ørskov, E., DeB Hovell, F., & Mould, F. (1980). THE USE OF THE NYLON BAG TECHNIQUE FOR THE EVALUATION OF FEEDSTUFFS. *Trop Animal production*, 195-213.
- Ressia, M. (2007). *Digestibilidad in vivo de silajes de tres híbridos de sorgo cosechados en inicio de panojamiento y su comparación con estimaciones de métodos indirectos*. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_tesis_ressia_-_calidad_nutritiva_y_digestibili.pdf
- Reyes, J. (2012). *Evaluación de la digestibilidad in situ de los nutrientes y variables ruminales del ensilado de caña de azúcar con diferente fuente de proteína*. Obtenido de http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4783/Reyes_Gutierrez_Jose_Andres.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Reyes, N., Mendieta, B., Farinas, T., Mena, M., Cardona, J., & Pezo, D. (2009). *Elaboración y utilización de ensilajes en la alimentación de ganado bovino*. Obtenido de <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/7886/173.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

- Romero, L. (2004). *Henolaje empaquetado*. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_henolaje_o_silopaq/01-henolaje_empaquetado.pdf
- Romero, L., Aronna, M., & Cuatrin, A. (2019). *Producción estacional de materia seca, relación hoja -tallo y calidad de alfalfas multifoliadas*. Obtenido de <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/produccion-estacional-materia-seca-t43469.htm>
- Soria, J. (2011). *Sistemas de producción animal II*. Obtenido de https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4783/sistemas_produccion_animal_ii.pdf
- Tobía, C., Uribe, L., Villalobos, E., Soto, H., & Ferris, I. (2003). Aislamiento, selección y caracterización de bacterias de ácido lácticas en ensilaje de soya. *Agronomía costarricense*, 27(2): 21-27.
- UPO. (2004). *Determinación del contenido graso de leche en polvo: Extracción soxhlet*. Obtenido de https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5_0405.pdf
- Valencia, A., Hernández, A., & López, L. (2011). *El ensilaje. ¿Qué es y para qué es?* Obtenido de <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/ensilaje/>
- Valles de la Mora, B., Castillo, E., & Bernal, H. (2016). *Rendimiento y degradabilidad ruminal de materia seca y energía de diez pastos tropicales cosechados a cuatro edades*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242016000200141
- Van Lier, E., & Regueiro, M. (2008). *Digestión en retículo- rumen*. Obtenido de <http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/AFA/TEORICOS/Repartido-Digestion-en-Reticulo-Rumen.pdf>
- Vargas, C. (2011). *Evaluación de diferentes dosis de enmiendas húmicas en la producción primaria de forraje Lolium perenne (Rye grass)*. Obtenido de <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1004/1/17T01057.pdf>
- Velásquez, P. (2009). *Evaluación Morfoagronómica y nutricional de cinco variedades de Rye grass bianual (Lolium multiflorum) en lugares representativos de las zonas de producción lecher de las provincias de Carchi, Imbabura y Pichincha*. Obtenido de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1664/1/CD-2283.pdf>

Villalobos, L. (2012). *Fenología, producción y valor nutritivo del pasto alpiste (phalaris arundinacea) en la zona alta lechera de Costa Rica*. Obtenido de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242012000100002

Villalobos, L., & Sanchez, J. (2010). *Evaluación agronómica y nutricional del pasto Ryegrass Perenne Tetraploide (Lolium perenne) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. I. Producción de biomasa y fenología*. Obtenido de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242010000100003

Zamora, N. (2006). *Determinación de la energía metabolizable verdadera de varias fuentes de carbohidratos utilizadas para la alimentación de aves*. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1009.pdf