

INOCULACIÓN DE *Lactobacillus plantarum* PARA LA FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL ENSILAJE DE MAÍZ (*Zea mays*)

Arturo José Vera Mendoza¹ ; Boris Andres Zambrano Zambrano² y Ernesto Antonio Hurtado³

^{1,2} Med. Vet. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Manabí-Ecuador; arturojose231192@hotmail.com; boris.z94@hotmail.com.

³ Doctor en Ciencias Agrícolas; Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Manabí-Ecuador; ernestohurta@gmail.com

RESUMEN

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

Palabras Clave: Bacterias, pH, temperatura, sensoriales, bromatológicos, Unidades formadoras de colonia.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of the inoculation of *L. plantarum* on the fermentation, conservation and quality of the corn silage (*Zea mays*), the silage of 32 bags with forage was carried out at different doses of inoculated *L. plantarum* (0, 5, 10, 15 ml) and sampling time (15, 30, 45 days), in a completely randomized design. The pH, temperature and colony forming units (CFU) were studied. In addition to the bromatological characteristics. The sampling time was found to be significant ($p < 0.01$) for the pH, being at 30 days the one with the lowest average value (3.65). A higher temperature (27°C) was observed at 15 days of sampling ($p < 0.01$). The application of *L. plantarum* in the bromatological components did not affect statistically, except for dry matter, where T3 at 15 days had a higher percentage (23.65). In addition, the maximum averages were for crude protein (10.71%) in T2 at 30 days; ethereal layer (2.36%) in T1 at 45 days; raw fiber (37.30%) in T3 at 45 days; ash (9.28%) in T2 at 30 days and digestible energy (2.41 Mcal / Kg) in T2 at 15 days. It is concluded that microbial inoculation allows to accelerate the process of conservation of corn silage.

Key Word: Bacteria, pH, temperature, sensory, bromatological, colony forming units.

INTRODUCCIÓN

Las características agroecológicas que posee la provincia de Manabí, permite a los pequeños y medianos agricultores desarrollar una actividad agrícola de gran diversidad de cultivos de ciclo corto, como el maíz, para contribuir como producto de consumo directo a la seguridad alimentaria del país, además, proveer materia prima a la agroindustria, lo que permite repercutir en forma positiva en la generación de empleo, y dinamizar la economía del sector productivo (Saltos, 2012).

De acuerdo con Castillo *et al.* (2009), elevar la productividad de los sistemas de alimentación de especies de interés zootécnico, implica, entre otras cosas, mantener los suministros de alimento durante todo el año, la conservación de los forrajes, para suplir durante estos periodos las demandas de alimento, por lo que, la práctica del ensilaje se convierte en una técnica que permite la conserva de alimentos por rango de tiempo determinado.

Las bacterias lácticas son residentes normales del tracto gastrointestinal que incluyen el género *Lactobacillus*, por lo que son las bacterias más utilizadas para mejorar el valor nutritivo de las dietas en los rumiantes, con esto se da el uso de ensilados de fermentación láctica con *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Saccharomyces lactis* o *Lactobacillus spp* que han sido alternativas importantes para la alimentación de los bovinos; aunque ha sido muy poco utilizada por los productores (Galina *et al.*, 2008).

Ruiz *et al.* (2009) mencionan que la calidad fermentativa de un ensilado depende de la naturaleza del forraje original y en el desarrollo de la técnica empleada, además del clima, la estación, el estado de madurez, la composición química y botánica, etc. Sin embargo, existen otros aspectos inherentes al propio forraje que limitan su aptitud para ser ensilado, como, por ejemplo: al agregar aditivos se presenta una mejor preservación del forraje ensilado, una alta concentración de azúcares solubles y una mayor degradabilidad ruminal.

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

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

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

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

Manejo del Experimento

Características de la cepa de *L. Plantarum*

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

Preparación de inóculo de *L. Plantarum*

A partir del crecimiento de la cepa bacteriana de *L. plantarum* en caldo MRS, se procedió a la multiplicación de la cepa bacteriana mediante la inoculación de 100ul de *L. plantarum* por cada 100 ml de caldo MRS. Posteriormente se ubicó en incubación a 37°C por 18 horas en condiciones de anaerobiosis.

Elaboración del ensilaje de maíz

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

Recolección de muestras de ensilaje de maíz

La recolección de muestras se inició mediante la apertura de los microsilos de los respectivos tratamientos, con la extracción de cuatro muestras de 1,5 kg de forraje en bolsas ziploc. Posteriormente se retiró manualmente el aire

excedente, teniendo al forraje bajo condición anaerobia; de allí se trasladó al laboratorio de Biología Molecular dentro de la carrera de Pecuaria y el laboratorio Química de alimentos en la carrera de Agroindustria, adscritos a la Escuela Superior Politécnica de Manabí (ESPAM, “MFL”).

Evaluación química del ensilaje de maíz

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

Evaluación sensorial del ensilaje de maíz

A cada uno de los jueces (10) se presentaron muestras de cada tratamiento (T0, T1, T2 y T3) con el fin de evaluar mediante una interpretación subjetiva de los sentidos las características organolépticas (olor, color y textura) presentes en el material ensilado, esta evaluación (Anexo 1) se realizó con un intervalo de 15 días correspondientes para los distintos tiempos de muestreo (15, 30 y 45 días), cabe mencionar que las personas seleccionadas (jueces no entrenados) laboran dentro del área del hato bovino de la carrera de Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.

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

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

Análisis bromatológico del ensilaje de maíz

Las muestras para el análisis bromatológico fueron enviadas al laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos perteneciente al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicado en el sitio Cutuglagua, en el cantón Mejía, provincia Pichincha, para la determinación de: Materia Seca, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas, Energía Digerible.

Diseño experimental y análisis estadístico

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

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Parámetros químicos (pH y temperatura) del ensilaje de maíz a distintos tiempos de aireación

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

pH

Las diferencias obtenidas para los tratamientos con respecto a los días de muestreo resultaron diferentes, siendo a los 15 y 30 días la mayor significancia ($p < 0,01$), mientras que para los 45 días de muestreo la confiabilidad resultó ser del 95%. Es relevante considerar que todos los tratamientos produjeron valores

de pH por debajo de 4,5 para una óptima conservación del forraje resultados que según Abdul *et al.* (2017) son aceptables.

Al considerar el tiempo de muestreo de manera específica, se observó que a los 30 días el pH disminuyó en comparación con los resultados obtenidos a los 15 días, esto se debe posiblemente a la producción de ácido láctico por parte de microorganismos homofermentadores como *Lactobacillus plantarum* (Filya, 2003a y Addah *et al.*, 2016) aspecto que refleja un adecuado proceso de ensilado (Jaimes *et al.*, 2009). Resultados similares son reportados por la literatura (Filya, 2003b; Jalč *et al.*, 2009; Corral-Luna *et al.*, 2011; Addah *et al.*, 2011; Addah *et al.*, 2016; Joo *et al.*, 2018).

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

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

Temperatura

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

Los valores obtenidos se pueden relacionar a los reportes presentados por Kung *et al.* (2001) y Villa *et al.* (2008) quienes demuestran que el crecimiento de las

bacterias homofermentadoras productoras de ácido láctico y la calidad del ensilaje, principalmente depende del grado de ensilabilidad del forraje, concentración de azúcares, capacidad buffer, humedad, y temperatura.

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

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

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

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

II. Composición Bromatológica del Ensilaje de Maíz en Distintos Tiempos de Muestreo

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

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

Lo anterior permite precisar, que los datos obtenidos de materia seca (%) a los 30 días son similares a los reportados por Filya, (2003) y Ferreira *et al.* (2007). resultados que, son inferiores en relación con los presentados por Freitas *et al.* (2006); Acosta, (2006); Corral-Luna *et al.* (2011); Silveira y Santos, (2017) y

Abdul *et al.* (2017) quienes obtuvieron porcentaje de 28,6; 37,8; 29,61 y 26,95 respectivamente.

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

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

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

Al analizar los valores obtenidos en el componente ceniza, se observa a los 30 días de evaluación el valor más alto (9,28%) cuando se incluyó la dosis de 10 ml (T2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Apráez-Guerrero *et al.* (2012) en ensilajes de avena más acacia y por Corral-Luna *et al.* (2011). Sin embargo, son inferiores con los reportados por Acosta (2006) en ensilajes de maíz; al igual que los reportados por Villa *et al.* (2010) quienes obtuvieron 7,09% en ensilajes de maíz y su evaluación microbiológica y calidad nutricional. Es importante destacar, que la ceniza en ensilajes es una característica deseable dentro de un alimento, debido al aporte de minerales que incorpora a la dieta.

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

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

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

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

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

Tiempos de muestreo (días)	Componentes bromatológicos	Tratamientos			
		T0	T1	T2	T3
15	M.S	21,35	23,07	22,43	23,65
	P.C	8,68	9,00	8,77	9,23
	E. E	1,44	1,48	1,47	1,41
	F.C	36,82	34,26	34,79	36,26
	C	9,69	8,65	4,99	9,06
	E. D	2,18	2,28	2,41	2,22
30	M.S	21,94	22,15	22,9	23,12
	P.C	9,68	10,16	10,71	9,87
	E. E	1,86	1,52	1,84	1,82
	F.C	37,28	34,61	33,73	34,67
	C	9,19	8,66	9,26	8,82
	E. D	2,22	2,28	2,30	2,29
45	M.S	19,72	21,44	23,14	23,28
	P.C	9,56	9,92	10,13	8,87
	E. E	1,96	2,36	1,91	1,60
	F.C	35,23	34,55	34,03	37,30
	C	8,86	8,49	9,11	8,17

E. D	2,28	2,34	2,30	2,23
T0: sin inoculo; T1: <i>L. plantarum</i> (5 ml); T2: <i>L. plantarum</i> (10 ml); T3: <i>L. plantarum</i> (15 ml);				
*M.S: materia seca; P.C: proteína cruda; E.E: extracto etéreo; F.C: fibra cruda; C: ceniza; E.D: energía digerible.				

Microorganismos en el ensilaje de maíz a distintos tiempos de muestreo

El análisis de varianza realizado para el número de microorganismos presente resulto no significativo ($p > 0,05$) para los tratamientos en cada uno de los tiempos de muestreo. El resumen descriptivo (Tabla 3) permite precisar un incremento a medida que transcurren los tiempos de muestreo, esto posiblemente se deba a una mayor conservación del material vegetativo.

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

Estadísticos	Tiempos de muestreo											
	15				30				45			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
MEDIA	1,60	1,60	1,60	1,60	5,36	5,36	5,36	5,36	6,36	6,36	6,36	6,36
DE	2,21	2,21	2,21	2,21	8,52	8,52	8,52	8,52	1,52	1,52	1,52	1,52
EE	5,54	5,54	5,54	5,54	2,13	2,13	2,13	2,13	3,81	3,81	3,81	3,81

Es importante resaltar que a mayores tiempos de muestreo se observa un incremento en los promedios de *L. plantarum*, que indica la actividad fermentativa. Steidlova *et al.* (2003) mencionan que estos microorganismos son homofermentadores, lo que hace que sean considerados benéficos.

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

predominancias de bacterias productoras de ácido láctico, permitiendo así la estabilidad de las propiedades nutricionales del forraje.

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

CONCLUSIONES

La inclusión de *L. plantarum* en el ensilaje de maíz resultó con pH, temperatura y componentes bromatológicos para el proceso de conservación del cultivo, a los 30 días de muestreo (T2), siendo una alternativa en la alimentación animal, principalmente en la época seca.

El proceso de conservación alcanzó el tiempo de muestreo máximo definido (45 días), corroborado por la presencia de *L. plantarum*, manteniendo la calidad del forraje de maíz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul, N., Abd, M. R., Mahawi, N., Hasnudin, H., Al-Obaidi, J. R., & Abdullah, N. (2017). Determination of the Use of *Lactobacillus plantarum* and Propionibacterium freudenreichii Application on Fermentation Profile and Chemical Composition of Corn Silage. BioMed Research International, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/2038062>
- Addah, W., Baah, J., & McAllister, T. A. (2016). Effects of an exogenous enzyme-containing inoculant on fermentation characteristics of barley silage and on growth performance of feedlot steers. Canadian Journal of Animal Science, 96(1), 1-10. <https://doi.org/10.1139/cjas-2015-0079>
- Addah, W., Baah, J., Groenewegen, P., Okine, E. K., & McAllister, T. A. (2011). Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. Canadian Journal of Animal Science, 91(1), 133-146. <https://doi.org/10.4141/CJAS10071>
- Apráez-Guerrero, J. E., Insuasty-Santacruz, E. G., Portilla-Melo, J. E., & Hernández-Vallejo, W. A. (2012). Composición nutritiva y aceptabilidad del ensilaje de avena forrajera (Avena sativa), enriquecido con arbustivas: acacia (*Acacia decurrens*), chilca (*Bracharis latifolia*) y sauco (*Sambucus nigra*) en ovinos. vet.zootec., 6(1), 25-35.
- Castillo, M; Rojas, A; WingChing, R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). Costa Rica, San José. Agronomía Costarricense, Vol. 33. núm. 1. p 134
- Castro, M. 2016. Rendimientos de maíz duro seco en invierno 2016. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/KSNRlf

- Cobos, M. 2014. Técnicas de ensilaje y construcción de silos forrajeros. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/rQYtZE
- Contreras, F. y Muck, R. 2006. Inoculantes Microbiales para ensilaje. Estados Unidos, WIS. Focus on Forage - Vol 8: No. 4. p 1.
- Corral-Luna, A. C., Domínguez-Díaz, D., Rodríguez-Almeida, F., Villalobos-Villalobos, G., Ortega-Gutiérrez, J., & Muro-Reyes, A. (2011). Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences, 6(1), 181-187. <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a973>
- Cubero, J; Rojas, A; WingChing, R. 2010. Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (*Zea mays*). Valor nutricional y fermentativo. Costa Rica, SAN JOSÉ. Agronomía Costarricense. Vol. 34. núm. 2. p 238.
- Demagnet, R. 2011. Uso de Aditivos Biológicos en Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/pkoNiQ
- Depetris, G; Santini, F; Gagliostro, G. 2006. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal – (Particularidades Nutricionales del grano de maíz en la alimentación de bovinos de carne - Particularidades Nutricionales del grano de maíz en la alimentación de vacas lecheras). (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/snYGW9
- Di Marco, O. y Aello, M. 2008. Calidad nutritiva de la planta de maíz para silaje. (En línea). Consultado, 25 de nov. 2017. Disponible en goo.gl/5uc1SU
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2001. Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. (En línea). Formato books. Disponible en: <https://books.google.com.ec>
- Ferrari, C. y Alarcón, A. 2015. Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/N3zF8Z
- Ferreira, D. A., Gonçalves, L. C., Molina, L. R., Castro Neto, A. G., & Tomich, T. R. (2007). Características de fermentação da silagem de cana-de-açúcar tratada com uréia, zeólita, inoculante bacteriano e inoculante bacteriano/enzimático. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 59(2), 423-433. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000200024>
- Filya, I. (2003a). The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminant Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. Journal of Dairy Science, 86(11), 3575-3581. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73963-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0)
- Filya, I. (2003b). The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminant degradability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology, 95(5), 1080-1086. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02081.x>
- Franco, L; Calero, D; Ávila, P. 2007. Evaluación de tecnologías por métodos participativos para la implementación de sistemas ganaderos sostenibles en el norte del departamento del Valle del Cauca. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/ReCxCi

- Freitas, A. W. de P., Pereira, J. C., Rocha, F. C., Costa, M. G., Leonel, F. de P., & Ribeiro, M. D. (2006). Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(1), 38-47. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000100005>
- Galina, M; Ortiz, M; Guerrero, M; Mondragón, D; Franco, N; Elías, A. 2008. Efecto de un ensilado de maíz solo o inoculado con un probiótico láctico y adicionado con un suplemento nitrogenado de lento consumo en ovinos. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/tr7PB6
- Gallardo, M. 2015. Concentrados y subproductos para la alimentación de rumiantes. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/k3J7UK
- Garcés, A; Berrio, L; Ruiz, S; Serna de León, J; Builes, A. 2015. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/sXXSHm
- García, R. y Ramos, R. 2011. Alimentación de vacas lecheras con dietas basadas en ensilado elaborado con mezcla de canavalia (*canavalia ensiformis*) y sorgo (*sorghum bicolor*) y su efecto en la producción, eficiencia en el uso de nutrientes y rentabilidad. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/yEVxct
- García, Y. y García, Y. 2015. Uso de aditivos en la alimentación animal: 50 años de experiencia en el Instituto de Ciencia Animal. Cuba, La Habana. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Vol. 49. núm. 2. p 173.
- Gómez, A. 2014. Fases del ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/awKSNF
- Hansen, C. y Milwaukee, W. 2014. Evaluando la Calidad del Ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/Az8Qvc
- Hazard, S., Morales, M., Butendieck, P. y Mardones, P. (2001). Evaluación de la mezcla de ensilaje de maíz con ensilaje de trébol rosado en diferentes proporciones en la alimentación invernal de vacas lecheras en la zona sur. *Agricultura Técnica*, 61(3): 306-318
- Hidalgo, F. y Serralde, T. 2016. El uso de la Planta de Maíz en la alimentación de Bovinos. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/eJwsTT
- Jaimes, J. J., Hernández, J., & Vargas, M. (2009). Efecto de tres niveles de carbohidratos sobre la calidad del ensilado. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas.*, 8, 10-17.
- Jalč, D., Lauková, A., Simonová, M. P., Váradyová, Z., & Homolka, P. (2009). Bacterial Inoculant Effects on Corn Silage Fermentation and Nutrient Composition. *Asian-Australas J Anim Sci*, 22(7), 977-983. <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80282>
- Joo, Y. H., Kim, D. H., Paradhita, D. H. V., Lee, H. J., Amanullah, S. M., Kim, S. B., ... Kim, S. C. (2018). Effect of microbial inoculants on fermentation quality and aerobic stability of sweet potato vine silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(12), 1897-1902. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0264>
- Jurado, H; Ramírez, C; Aguirre, D. 2013. Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Colombia, CAL. Veterinaria y Zootecnia*. Vol 7 No.2. p 38.

- Kung, L., & Ranjit, N. K. (2001). The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1149-1155. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74575-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4)
- Lopez, M. 2017. Características nutricionales y fermentativas de ensilados de pasto Camerún con plátano Pelipita. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UykMkWGm6EsJ:https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6173095.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>
- Martínez-Fernández, A., Soldado, A., & Vicente, F. (2010). Wilting and inoculation of *Lactobacillus buchneri* on intercropped triticale-fava silage: effects on nutritive, fermentative and aerobic stability characteristics. *Agricultural and Food Science*, 19(4), 302. <https://doi.org/10.2137/145960610794197597>
- Maza, L; Vergara, O; Paternina, E. 2011. Evaluación química y organoléptica del ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum sp.*) más yuca fresca (*Manihot esculenta*). Argentina, COR. Rev.MVZ Córdoba. Vol 16. No 2. p 2530.
- Mendoza, G. y Ricalde, R. 2016. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/Xhc1ou
- Mier, M. 2009. Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/seJdny
- Narvaez, D. 2013. Efecto de la aplicación de inoculantes sobre las características microbianas a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero (*zea mayz l*). mocache, ecuador 2013. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/LtbyZP
- Nishino, N., Wada, H., Yoshida, M., & Shiota, H. (2004). Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of dairy science*, 87(8), 2563-2570.
- Nooijen, M. y Zwieler, J. 2014. Planear para el éxito de ensilado. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/uzdHgL
- Paliwal, R. 2014. Usos del maíz. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Disponible en goo.gl/bJVP4T
- Parra, R. 2010. Review. Bacterias Acido Lácticas: Papel Funcional En Los Alimentos. Colombia, CAL. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol 8. No 1. p 95.
- Queiroz, O. 2015. Aditivos bacterianos para silajes. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/6s1dY8
- Ramírez, J; P Rosas, P; Velázquez, M; Ulloa, J; Arce, F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año 2*, No. 7. p 1.
- Robledo, J. 2006. Evaluación comparación nutricional y energética de cuatro Genotipos de maíz en forma natural y ensilado. (En línea). Consultado, 15 de Ene. 2019. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5950/T15369%20ROBLERO%20L%20D3PEZ,%20JUAN%20JOSE%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

- Rodríguez, S. 2010. El maíz en la dieta de vacas lecheras. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/AiB2LV
- Ruiz, B; Castillo, Y; Anchondo, A; Rodríguez, C; Beltrán, R; La O, O; Payán, J. 2009. Efectos de enzimas e inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. España, COR. Archivos de Zootecnia. Vol. 58. núm. 222. p 163-164.
- Ruiz, O; Beltrán, R; Salvador, F; Rubio, H; Grado, A; Castillo, Y. 2006. Valor nutritivo y rendimiento forrajero de híbridos de maíz para ensilaje. Cuba, HAB. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Vol. 40. núm. 1. p 91.
- Saltos, M. 2012. Buenas prácticas agrícolas en los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y maní (*Arachis hypogaea* L.), en el cantón Rocafuerte. (En línea). Consultado, 6 de oct. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/jrcV2h
- Sánchez, A; Lara, M; Sepúlveda, J. 2016. Conservación de forrajes a través del ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/giy9sB
- Serna, L. y Rodríguez, A. 2005. Producción biotecnológica de ácido láctico: estado del arte. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/3uzSfG
- Silveira, L. de P., & Santos, T. M. da C. (2017). Silagem de cana-de-açúcar acrescida com aditivos químicos e inoculante bacteriano. Pubvet, 11(5), 519-526. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v11n5.519-526>
- Suarez, R; Mejía, J; González, M; García, D.E y Perdon, D.A. 2011. Evaluación de ensilajes mixtos de *Saccharum officinarum* y *Gliricidia sepium* con la utilización de aditivos. (En línea). Consultado, 28 de ene. 2018. Formato PDF. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v34n1/pyf06111.pdf>
- Tobía, C. y Vargas, E. 2000. Inóculos bacterianos: una alternativa para mejorar el proceso fermentativo en los ensilajes tropical Res. Costa Rica, SAN JOSÉ. Nutrición Animal Tropical. Vol. 6. Nº 1. p 130-131.
- Urrutia, J. y Meraz, O. 2004. Elaboración de ensilaje de buena calidad. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/YmqPb6
- Villa, A.F., Meléndez, A.P., Carulla, J.E., Pabón, M.L., Cárdenas, E.A. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 23(1):65-77.
- Villa, A; Meléndez, A; Carulla, J; Pabón, M; Cárdenas, E. 2010. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. Colombia, MED. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol. 23. núm. 1. p 66.
- Wagner, V; Asencio, A; Caridad, J. 2015. Como preparar un reparar un buen ensilaje. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/6k3Mxe
- Waldir, E; Mojmír, R; Karel, M; Quillama, E; Egoavil, E. 2007. Production of lactic acid by *Lactobacillus plantarum* L10 on batch and continuous cultivation. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/9r8G6g
- Zapata, S; Muñoz, J; Ruiz, O; Montoya, O; Gutiérrez, P. 2009. Aislamiento de *Lactobacillus plantarum* lpbm10 y caracterización parcial de su bacteriocina. (En línea). Consultado, 8 de dic. 2017. Formato PDF. Disponible en goo.gl/tvFnhN