

INTRODUCCIÓN

El ensilamiento es un método antiguo usado para preservar el valor nutritivo de los forrajes a través del empacado y almacenamiento en condiciones limitadas de aire. La fermentación del ensilaje ocurre naturalmente bajo condiciones anaeróbicas (la ausencia de oxígeno). Las plantas contienen bacterias productoras de ácido láctico (BPAL) que son nativas, y cuando el ensilaje es colocado bajo condiciones anaeróbicas estas bacterias producen ácido láctico, disminuyendo el pH a un nivel en el cual otras bacterias no pueden sobrevivir. Sin embargo, BPAL no son los únicos microorganismos en las plantas. Bacterias como clostridia y enterobacteria, así también como levaduras y hongos, también están presentes en las plantas y compiten con BPAL por azúcares. Además, las poblaciones nativas de BPAL no son las mismas de un cultivo a otro. Las poblaciones nativas de BPAL son generalmente más bajas en alfalfa (*Medicago sativa* L., 10^5 unidades de colonias formadas (ucf)/g forraje fresco) y más grandes en pastos perennes (10^6 ucf/g forraje fresco), maíz (*Zea mays* L.), y sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench], 10^7 ucf/g forraje fresco) (Pahlow et al., 2003). Las condiciones ambientales también tienen un efecto en las poblaciones nativas de BPAL. Las bacterias son más abundantes en temperaturas cálidas que en temperaturas frías, con más altos niveles a ciertos estados de madurez (Pahlow et al., 2003). En alfalfa, BPAL nativas fueron en mayor número en temperaturas cálidas, después de un periodo largo de secado y cuando hubo lluvia durante el secado (Muck, 1989). Además, BPAL nativas son en bajo número cuando el cultivo está en pie, aumentando exponencialmente después de picado tanto en maíz como alfalfa (Lin et al., 1992).

Cuadro 1. Reacciones de fermentación producidas por bacterias productoras de ácido láctico (Muck, 2008)

| Tipo de Fermentación | Reacción |
|----------------------|--|
| Homofermentativa | 1 6-C azúcar → 2 ácido láctico |
| Heterofermentativa | 1 6-C azúcar → 1 ácido láctico + 1 ácido acético + CO ₂ |
| | 1 6-C azúcar → 1 ácido láctico + 1 etanol + CO ₂ |
| | 1 ácido láctico → 1 ácido acético + CO ₂ |

El uso de aditivos para ensilaje es recomendado para conservar el valor nutritivo del cultivo cuando ciertas circunstancias podrían poner en riesgo una adecuada fermentación (Contreras-Govea & Muck, 2006). Inoculantes microbiales para ensilaje son un tipo de aditivos disponibles y han sido clasificados como estimuladores de la fermentación (Kung et al., 2003). Estos inoculantes contienen BPAL que complementan la población nativa de BPAL, ayudando a tener una fermentación mejor (Muck, 2008; Contreras-Govea & Muck, 2006). El objetivo de esta publicación es proporcionar información acerca de inoculantes microbiales para ensilaje, como trabajan, y las condiciones bajo las cuales deben de ser aplicados para tener un mayor éxito en condiciones de clima caliente.

INOCULANTES MICROBIALES PARA ENSILAJE

Los inoculantes microbiales para ensilaje son seleccionadas BPAL que se aplican para dominar la fermentación natural del cultivo que está ocurriendo en el silo. Se dividen en dos grupos dependiendo

¹Respectivamente, Profesor Asistente y Agrónomo, Centro en Ciencias Agrícolas en Artesia; Extensionista Especialista en Agronomía, Centro en Ciencias Agrícolas en Clovis; y Profesor Asociado y Agrónomo en Forrajes, Centro en Ciencias Agrícolas en Tucumcari, todos de New Mexico State University.

de cómo fermentan los azúcares de la planta: BPAL homofermentativas y BPAL heterofermentativas (Cuadro 1). Las bacterias homofermentativas como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus* spp., y *Enterococcus* spp., producen principalmente ácido láctico. Las bacterias heterofermentativas como *Lactobacillus buchneri*, producen ácido láctico, ácido acético, etanol y bióxido de carbono (Cuadro 1). Generalmente ácido láctico es preferido en el silo porque es un ácido más fuerte que ácido acético (Muck, 2008). El ácido láctico baja el pH más rápido, en consecuencia disminuye la respiración de la planta y actividad enzimática, inhibiendo otras bacterias. Sin embargo, el ácido acético es un mayor inhibidor de levaduras y mantiene una mayor estabilidad aeróbica que el ácido láctico.

EFFECTO DE LAS BACTERIAS PRODUCTORAS DE ACIDO LÁCTICO HOMOFERMENTATIVAS EN LA CALIDAD DEL ENSILAJE

Las BPAL homofermentativas son los inoculantes más comunes en el mercado. Inicialmente, el objetivo principal de usar estos inoculantes fue preservar la calidad de las plantas ensiladas tan cerca a su estado original como fuera posible. Las bacterias homofermentativas logran este objetivo a través de bajar el pH, reduciendo las pérdidas de materia seca a un nivel mínimo (2–3%), disminuyendo proteólisis (el rompimiento de proteínas) y formación de amoníaco, y aumentando ácido láctico y digestibilidad de la materia seca (Muck & Kung, 1997). Una reducción rápida en el pH también puede inhibir bacterias de clostridia que producen ácido butírico, un producto de una mala fermentación que produce un mal olor. Además, bacterias homofermentativas tienen el potencial de mejorar el desempeño animal. Una revisión de estudios de investigación reporto que esos inoculantes mejoran la ganancia de peso en ganado de carne y la producción de leche de las vacas en lactación en el 50% de los estudios (Kung & Muck, 1997). Cuando el ensilaje inoculado tuvo un efecto positivo, el aumento promedio en ganancia de peso esperado fue de 5%, mientras la producción de leche aumento 3% (Kung & Muck, 1997). La causa de este mejoramiento en el desempeño no está claro. Estudios bajo condiciones in

vitro sugieren que los ensilajes inoculados mejoran el crecimiento de las bacterias ruminales, lo cual ha sido observado aun cuando los inoculantes tuvieron poco efecto en la fermentación del ensilaje (Muck, 2008). Sin embargo, los estudios in vitro también mostraron que no todos los inoculantes funcionan igual, lo cual podría indicar un efecto específico de ciertas cepas (Muck, 2008).

BACTERIAS PRODUCTORAS DE ACIDO LÁCTICO HETEROFERMENTATIVAS EFECTO EN LA CALIDAD DEL ENSILAJE

El principal propósito de los inoculantes heterofermentativos es mejorar la estabilidad aeróbica (la presencia de oxígeno) a través de reducir el nivel de levaduras en el ensilaje (un alto nivel de levaduras puede causar calentamiento). *Lactobacillus buchneri* es la principal BPAL heterofermentativa usada en cultivos forrajeros en U.S.A. (Muck, 2008). *Lactobacillus buchneri* produce más ácido acético que bacterias homofermentativas (Kleinschmit & Kung, 2006). Estas bacterias son más efectivas en maíz que en alfalfa o cereales de grano pequeño porque *L. buchneri* es menos abundante en maíz que en alfalfa (Lin et al., 1992). Debido al bajo nivel de *L. buchneri* y otras bacterias heterofermentativas en maíz, ácido acético, un inhibidor de levaduras, normalmente es más bajo en maíz que en alfalfa, haciendo el maíz más susceptible a problemas de estabilidad aeróbica, principalmente cuando el silo es abierto en el verano con temperaturas altas. Un problema con *L. buchneri* es que crece más lento que otras bacterias en el ensilaje; por tanto, las bacterias naturales homofermentativas promoverán la fermentación inicial, y más tarde *L. buchneri* convertirá el ácido láctico a ácido acético. Debido a esto, cuando *L. buchneri* es usado, se recomienda dejar un mínimo de 45–60 días antes de abrir el silo para asegurar una buena estabilidad aeróbica (Muck, 2008).

Recientemente, algunas BPAL heterofermentativas, tales como *L. buchneri*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, y *L. brevis*, se ha reportado que producen ferulate esterasas (Nsereko et al., 2008). Ferulate esterasas son enzimas que aumentan la degradación de la pared celular, liberando más carbohidratos soluble de las plantas para fermentación o uso de las bacterias del rumen. La ventaja de estas nuevas cepas

Cuadro 2. Características del ensilaje de maíz y sorgo fermentado con BPAL homofermentativas, BPAL heterofermentativas, o combinación de ambas (Filya, 2003)

| Cultivo | Tratamiento | pH | Acido Láctico (%) | Acido Acético (%) | Levaduras (log ₁₀ cfu/g) |
|---------|---|------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|
| Maíz | Sin inoculante | 3.72 | 4.04 | 1.27 | 3.86 |
| | <i>L. buchneri</i> (heterofermentativa) | 4.13 | 2.76 | 3.89 | < 2.00 |
| | <i>L. plantarum</i> (homofermentativa) | 3.64 | 7.94 | 0.33 | 4.45 |
| | Ambas | 3.80 | 5.55 | 3.17 | < 2.00 |
| Sorgo | Sin inoculante | 3.87 | 4.86 | 0.96 | 4.18 |
| | <i>L. buchneri</i> (heterofermentativa) | 4.26 | 2.54 | 4.30 | < 2.00 |
| | <i>L. plantarum</i> (homofermentativa) | 3.75 | 9.39 | 0.62 | 4.73 |
| | Ambas | 3.88 | 6.18 | 3.49 | < 2.00 |

de BPAL es que, además de mejorar la estabilidad aeróbica, aumentan la digestibilidad del ensilaje y —potencialmente— el desempeño animal (Nseriko et al., 2008). En este momento, más investigación es necesaria para soportar estos resultados acerca de estas nuevas cepas.

COMBINACIÓN DE INOCULANTES HOMOFERMENTATIVOS Y HETEROFERMENTATIVOS

La ventaja potencial de combinar ambos tipos de BPAL son el de tener una rápida reducción inicial en el pH controlada por las bacterias homofermentativas y más tarde una buena estabilidad aeróbica que es controlada por bacterias heterofermentativas produciendo más ácido acético. Pocos estudios de laboratorio se han realizado mezclando ambos tipos de bacterias. En un estudio, *L. plantarum*, *L. buchneri*, y la mezcla de ambas fue comparado con ensilaje sin inoculante en sorgo y maíz (Filya, 2003). La combinación de ambos tipos de BPAL tuvo un efecto complementario, produciendo más ácido láctico que bacterias heterofermentativas y más ácido acético que homofermentativas (Cuadro 2). Además, la población de levaduras fue más baja en la mezcla de ambas BPAL que en bacteria homofermentativas, lo cual potencialmente indicó una mayor estabilidad aeróbica.

Similar efectos fueron reportados por Kleinschmit y Kung (2006), quienes compararon ensilaje

de maíz sin inoculante con ensilaje inoculado con una combinación de *L. buchneri* y *Pediococcus pentosaceus*. En este estudio, las levaduras también estuvieron más bajas en el ensilaje de maíz inoculado y la estabilidad aeróbica fue mayor que el ensilaje sin inoculante.

PORQUE LOS INOCULANTES NO FUNCIONAN ALGUNAS VECES?

Hay varias razones potenciales de porque estos productos algunas veces no funcionan:

Población natural de bacterias. Se menciona en la introducción que las poblaciones naturales de BPAL son diferentes entre los cultivos. Generalmente, maíz y sorgo tienen mayores poblaciones nativas de bacterias que alfalfa. Para tener un impacto en la fermentación, la proporción de inoculante que se debe aplicar es al menos un 10% de la población nativa de BPAL.

Bajo contenido de azúcar en el cultivo. Los carbohidratos solubles en agua son la principal fuente de alimento de las BPAL. Cultivos con bajo contenido de azúcares, como alfalfa y pastos de clima cálido, son más difíciles para las BPAL de bajar el pH y lograr una buena fermentación. Se ha sugerido que en cultivos como alfalfa, el contenido de azúcar podría limitar el efecto de los inoculantes (Muck & Kung, 1997).

Contenido de material seco. Bacterias productoras de ácido láctico no tienen movimiento; necesitan agua para moverse y consumir los azúcares. Por lo tanto, un alto contenido de materia seca y baja humedad afectará la actividad tanto de las BPAL naturales como de los inoculantes. Por el contrario, plantas con alta humedad promoverá el crecimiento de bacterias nativas, afectando el impacto de los inoculantes en la fermentación.

Especificidad del cultivo. Algunas cepas de BPAL son específicas del cultivo. En otras palabras, crecen mejor en el cultivo del que fueron seleccionadas, como maíz, alfalfa, o sorgo. Algunas cepas de inoculante crecen bien en un amplio rango de cultivos.

EFECTO DE CLIMA CÁLIDO EN LOS INOCULANTES

La temperatura tiene un efecto en la planta y en los procesos bioquímicos antes y durante el ensilamiento (Muck et al., 2003). La mayoría de los estudios sobre inoculantes microbiales se han realizado en condiciones de clima templado donde las temperaturas son moderadas al momento de ensilar. Sin embargo, con temperaturas alrededor o arriba de 100°F (38°C) al momento de cosecha y ensilamiento, como en muchas aéreas de Nuevo México, algunos aspectos deben ser considerados al momento de que los inoculantes son aplicados. McDonald et al. (1966) reportó que ensilando pastos a una temperatura de 107°F (42°C) resultó en fermentación clostridial y más baja cantidad de ácido láctico que ensilando pastos a 68°F (20°C). Similarmente, Adesogan (2006), quien ensilo maíz en Florida, encontró que maíz ensilado a 107°F (42°C) tuvo menor concentración de ácidos láctico y acético y más alto pH y concentración de amoníaco que maíz ensilado a una temperatura más fría. Bajo estas condiciones de alta temperatura, la fermentación tiende a ser más heteroláctica que homoláctica. También reportó que las altas temperaturas disminuyeron las poblaciones de BPAL, pero aumentaron las bacterias clostridiales porque tienen una temperatura óptima de crecimiento más alta que BPAL. Por lo tanto, condiciones cálidas deben de ser más favorable para una fermentación clostridial (Muck et al., 2003). Las horas que los

inoculantes son expuestos a temperaturas altas también tienen un efecto en su viabilidad. En un estudio, seis inoculantes fueron incubados por seis horas a cuatro temperaturas diferentes que variaron de 85 (29°C)–115°F (46°C). La viabilidad de los inoculantes disminuyó con el aumento de temperaturas. Algunos inoculantes fueron más tolerantes a las altas temperaturas que otros (Mulrooney & Kung, 2008). Bajo condiciones de clima cálido, es importante almacenar los inoculantes a una temperatura razonable (alrededor 85°F, 29°C) antes del tiempo de aplicación. También es importante llenar, compactar, y sellar el silo tan rápido como sea posible para reducir la respiración y el calentamiento que esta produce, y rápidamente lograr un ambiente anaeróbico.

APLICACIÓN DE LOS INOCULANTES

Hay una cantidad mínima que se debe aplicar de los inoculantes para aumentar la probabilidad de impacto en la fermentación. Adesogan (2006) realizó un estudio con dos inoculantes comerciales para comparar el efecto de dos dosis de aplicación en la fermentación de maíz. Los inoculantes fueron aplicados a la dosis recomendada (1.0 x 10⁵ ucf/g forraje fresco) y el doble de la dosis recomendada (2.0 x 10⁵ ucf/g forraje fresco). Concluyo que no hubo beneficio en la fermentación cuando se aplicó el doble de la dosis recomendada. En alfalfa, una dosis de 100,000 ucf/g forraje fresco se recomendó cuanto la población de bacterias nativas fue más baja que 1.0 x 10⁶ ucf/g forraje fresco, una condición común en alfalfa (Muck, 2008).

Siempre se deben seguir las recomendaciones del fabricante del inoculante. Esto es importante para el almacenamiento del inoculante así como para su aplicación. Inoculantes secos o húmedos funcionan igualmente bien (Kung et al., 2003). Sin embargo, se debe tener en mente que los inoculantes secos necesitan humedecerse con los jugos de la planta en el silo antes de que las BPAL comiencen a crecer; un inoculante húmedo puede comenzar a trabajar más rápido cuando el cultivo es ensilado con baja humedad. Finalmente, estas bacterias no pueden moverse alrededor. Las bacterias dependen de que el productor haga un buen trabajo de mezclarlas con el cultivo (Muck, 2008).

SELECCIÓN DE INOCULANTES MICROBIALES

Hay muchos inoculantes en el mercado, y no todas las cepas de BPAL trabajan igual de bien. Algunas cepas de BPAL son cultivo-específicas, y por lo tanto se debe seleccionar un inoculante que es específico para el cultivo que desea ensilar. Si se quiere mejorar la calidad del ensilaje, BPAL homofermentativas son la mejor opción. Si se está buscando mejorar la estabilidad aeróbica, *L. buchneri* es una mejor opción que *L. plantarum*. Si se quiere ambas, calidad de ensilaje y estabilidad aeróbica, una combinación de ambas *L. buchneri* y *L. plantarum* podría ser la mejor opción. Siempre pregunte a los que producen los inoculantes o a los agentes de ventas por información que respalden el producto.

EN RESUME

Es claro que los inoculantes microbiales mejoran la fermentación del ensilaje a través de acelerar la disminución en el pH, aumentando la concentración de ácido láctico, y mejorando la estabilidad aeróbica y—potencialmente—el desempeño animal. Algunas veces los inoculantes microbiales no siempre mejoran la fermentación debido a la competencia con otros microbios, disponibilidad de azúcares, niveles de humedad, o especificidad del cultivo. Sin embargo, buenos inoculantes funcionaran la mayoría de las veces si se siguen las recomendaciones. Siempre tenga en mente, sin embargo, que los inoculantes microbiales no son la solución a errores cometidos durante el proceso de ensilamiento.

REFERENCIAS

- Adesogan, A. T. (2006). Factors affecting corn silage quality in hot and humid climates. In *17th Florida Ruminant Nutrition Symposium* (pp. 108–127). Gainesville: University of Florida.
- Contreras-Govea, F. E., & Muck, R. E. (2006). Microbial inoculants for silage. *Focus on Forage*, 8(4). Available from http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/Microbial_Inoculants-FOF.htm
- Filya, I. (2003). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3575–3581.
- Kleinschmit, D. H., & Kung, Jr., L. (2006). The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the fermentation of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3999–4004.
- Kung, Jr., L., & Muck, R. E. (1997). Animal response to silage additives. In *Silage: Field to Feedbunk* [NRAES-99] (pp. 200–210). Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service.
- Kung, Jr., L., Stokes, M. R., & Lin, C. J. (2003). Silage additives. In D. R. Buxton, R. E. Muck, & J. H. Harrison (Eds.), *Silage Science and Technology* (pp. 305–360). Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Lin, C., Bolsen, K. K., Brent, B. E., & Fung, D. Y. C. (1992). Epiphytic lactic acid bacteria succession during the pre-ensiling and ensiling periods of alfalfa and maize. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(5), 375–387.
- McDonald, P., Henderson, A. R., & Whittenbury, R. (1966). The effect of temperature on ensilage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 17(10), 476–480.
- Muck, R. E. (1989). Effects of inoculation level on alfalfa silage quality. *Transactions of the ASAE*, 32, 1153–1158.
- Muck, R. E. (2008). Improving alfalfa silage quality with inoculants and silo management. In *Proceedings of the 70th Annual Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers* (pp. 137–146). Syracuse, NY: Cornell University.
- Muck, R. E., & Kung, Jr., L. (1997). Effect of silage additives on ensiling. In *Silage: Field to Feedbunk* [NRAES-99] (pp. 187–199). Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service.
- Muck, R. E., Moser, L. E., & Pitt, R. E. (2003). Post-harvest factors affecting ensiling. In D. R. Buxton, R. E. Muck, & J. H. Harrison (Eds.), *Silage Science and Technology* (pp. 251–304). Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Mulrooney, C. N., & Kung, Jr., L. (2008). *Short Communication*: The effect of water temperature on the viability of silage inoculants. *Journal of Dairy Science*, 91(1), 236–240.
- Nsereko, V. L., Smiley, B. K., Rutherford, W. M., Spielbauer, A., Forrester, K. J., Hettlinger, G. H., et al. (2008). Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 122–135.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H., & Spoelstra, S. F. (2003). Microbiology of ensiling. In D. R. Buxton, R. E. Muck, & J. H. Harrison (Eds.), *Silage Science and Technology* (pp. 31–93). Madison, WI: American Society of Agronomy.

Notas

Notas

El contenido de las publicaciones se puede reproducir gratuitamente con fines educativos. Se reservan todos los demás derechos. Para obtener permiso para usar las publicaciones, comuníquese con pubs@nmsu.edu o con los autores que se mencionan en la primera página de la publicación.

La Universidad Estatal de Nuevo Mexico (NMSU) acata las pautas de acción afirmativa y de oportunidad equitativa en el empleo y en la educación. Este proyecto es una colaboración entre NMSU y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.