



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**EFFECTO DE METODOS DE CONSERVACION Y TIEMPO DE
ALMACENAMIENTO DE ENSILAJES EN DOS TIPOS DE PRADERAS SOBRE
SUS INDICADORES DE CALIDAD NUTRICIONAL**

TESIS DE MAGISTER

VERONICA ELIZABETH MACIAS CASTRO

VALDIVIA – CHILE

2011

**EFFECTO DE METODOS DE CONSERVACION Y TIEMPO DE
ALMACENAMIENTO DE ENSILAJES EN DOS TIPOS DE PRADERAS SOBRE
SUS INDICADORES DE CALIDAD NUTRICIONAL**

**Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de
Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al grado de Magister
en Ciencias, mención Producción Animal**

por

VERONICA ELIZABETH MACIAS CASTRO

Valdivia – Chile

2011

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE GRADUADOS

INFORME DE APROBACION TESIS MAGISTER

La Comisión Evaluadora de Tesis comunica al Director de la Escuela de Graduados de la
Facultad de Ciencias Agrarias que la tesis de Magister presentada por la candidata

VERONICA ELIZABETH MACIAS CASTRO

Ha sido aprobada en el examen de defensa de Tesis rendido el día 26 de Agosto del 2011, como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias, mención Producción Animal y, para que así conste para todos los efectos firman:

Profesor Patrocinante de Tesis:

Ximena Valderrama L.

Ing. Agr., M.Sc., Ph. D.

Instituto de Producción Animal

Comisión Evaluadora de Tesis:

Rodrigo Morales P.

Med. Vet., M.Sc., Ph. D.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

Alfredo Torres B.

Ing. Agr., M.Sc.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rodrigo Morales mi copatrocinante por su generosidad al brindarme la oportunidad de formar parte del presente estudio, a la paciencia y consejos durante todo el tiempo de la realización de mi trabajo de tesis.

A la Dra. Ximena Valderrama quien me brindo su ayuda incondicional en la búsqueda de tesis desde el primer día que me acerque a su oficina y su función como mi Patrocinante en el seguimiento continuo de mis avances.

A la Dra. Suzanne Hodgkinson, directora del Programa de Magister en Ciencias Mención Producción Animal por el recibimiento a este País y su interés en el progreso y finalización de metas de parte de los alumnos que integran el Magister.

Al Consorcio Tecnológico de la Leche SA.; Proyecto FIA FIC-CS-C-2004-1-P-001, quienes financiaron el presente trabajo de tesis.

Al apoyo de mis amigos extranjeros que he conocido en este País, en especial las personas de INIA, Ana mil gracias por tu gran paciencia en el laboratorio, Sara, Don Alfredo, Gonzalo, Ignacio mi ñaño, Evelyn la ella, Beatriz por su disponibilidad brindada. Por todas las experiencias compartidas no hubiera sido agradable y satisfactorio conocer estas tierras lejanas. Muchas gracias lo pase increíble.

Por el continuo apoyo incondicional y a miles de kilómetros les doy millón gracias a mi hermana Vanessa Macías y a mis amigos Tato y Bernardo otra vez muchas gracias chicos sin sus chistes, penas, alegrías y hasta carretes formados por la webcam dieron a estos años un gran fortalecimiento de esta amistad.

*Agradecida con Dios, en quien creó
infinitamente y dedicada a los seres que me enseñaron
su gran bondad Mis Padres: Jorge Macías y Ma.
Isabel Castro que por sus enseñanzas han dado a la
personalidad adquirida en mis años de vida.*

*“No basta dar pasos que puedan conducir
hasta la meta; sino que cada paso sea una meta, sin
dejar de ser un paso (Eckerman J. 1792 – 1854).*

INDICE DE MATERIAS

Capítulos		Página
	RESUMEN	viii
	SUMMARY	x
1.	INTRODUCCION	1
1.1	ANTECEDENTES GENERALES	1
1.2	HIPOTESIS	3
1.3	OBJETIVO GENERAL	3
1.3.1	Objetivos Específicos	3
1.4	PLANTEAMIENTO Y ESTRUCTURA GENERAL DEL TRABAJO	4
2.	REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1.	PRADERAS NATURALES, MEJORADAS Y SEMBRADAS DE CHILE	5
2.1.1	Distribución de las praderas naturales, mejoradas y sembradas a nivel nacional	6
2.1.2	Distribución de las praderas naturales, mejoradas y sembradas en las regiones de Los Ríos y Los Lagos	7
2.2	CONSERVACION DE FORRAJES	8
2.2.1	Ensilajes de praderas	9
2.2.2	Proceso del ensilaje	9
2.2.3	Composición nutricional de los ensilajes de praderas del sur de Chile	12
2.2.4	Especies ensiladas en el sur de Chile	14
2.2.5	Tiempo de rezago y estado fenológico de la pradera a ensilar	15
2.3	ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTOS EN EL ENSILAJE PARA MEJORAR LA CALIDAD	16

2.3.1	Aditivos	17
2.3.2	Premarchitamiento	19
2.4	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DEL ENSILAJE	21
2.5	INDICADORES DE CALIDAD BROMATOLOGICA EN ENSILAJES DE PRADERAS	22
2.5.1	Materia seca (MS)	23
2.5.2	Proteína Cruda (PC)	23
2.5.3	Carbohidratos Solubles (CHOS)	24
2.5.4	Fibra Detergente Neutro (FDN)	24
2.5.5	Fibra Detergente Ácida (FDA)	25
2.5.6	Ácidos Grasos de Cadena Larga	25
2.6	INDICADORES DE LA CALIDAD FERMENTATIVA EN ENSILAJES DE PRADERAS	27
2.6.1	pH	28
2.6.2	Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃)	29
2.6.3	Etanol	30
2.6.4	Ácidos grasos volátiles (AGV)	30
2.7	INDICADORES ORGANOLEPTICOS DEL ENSILAJE	33
2.9	BIBLIOGRAFIA	36
3.	INFLUENCIA DEL METODO DE CONSERVACIÓN Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LOS INDICADORES DE CALIDAD NUTRICIONAL EN ENSILAJE DE PRADERA	45
	RESUMEN	45
3.1	INTRODUCCION	46
3.2	MATERIALES Y METODOS	49
3.2.1	Condiciones de campo	49
3.2.2	Elaboración de los minisilos	50

3.2.3	Determinación de indicadores bromatológicos	51
3.2.4	Determinación de indicadores fermentativos	52
3.2.4.1	Nitrógeno amoniacal, pH y Ácidos grasos volátiles (AGV)	52
3.2.4.2	Ácido láctico	53
3.2.5	Diseño estadístico	53
3.3	RESULTADOS Y DISCUSION	54
3.3.1	Calidad bromatológica del ensilaje	54
3.3.2	Calidad fermentativa del ensilaje	60
3.4	CONCLUSIONES	67
3.5	BIBLIOGRAFIA	68
4.	INFLUENCIA DEL METODO DE CONSERVACION Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL PERFIL DE LOS ACIDOS GRASOS DE CADENA LARGA EN ENSILAJE DE PRADERA	76
	RESUMEN	76
4.1	INTRODUCCION	76
4.2	MATERIALES Y METODOS	78
4.2.1	Condiciones de campo	78
4.2.2	Elaboración de los minisilos	80
4.2.3	Determinación de extracto etéreo y ácidos grasos de cadena larga (AGCL)	81
4.2.4	Diseño estadístico	81
4.3	RESULTADOS Y DISCUSION	82
4.4	CONCLUSIONES	87
4.5	BIBLIOGRAFIA	88
5.	DISCUSION GENERAL	91
6.	CONCLUSIONES GENERALES	95
7.	ANEXOS	95

INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
2.1	Superficie con praderas sembradas, mejoradas y naturales que declaran existencia de bovinos en diferentes zonas de Chile 2007.	6
2.2	Superficie de praderas disponibles por tipo para la Regiones Los Ríos y Los Lagos.	7
2.3	Composición nutricional de ensilaje de pradera de corte directo del sur de Chile.	13
2.4	Calidad de ensilaje de pradera sembrada vs pradera mejorada INIA – Remehue.	15
2.5	Composición nutricional de ensilaje de pradera de corte directo vs premarchito del sur de Chile.	21
2.6	Relación del porcentaje de MS con el pH en ensilajes de pradera de corte directo y premarchito.	28
2.7	Apreciación del pH en ensilajes de praderas premarchitas.	29
2.8	Uso de Nitrógeno amoniacal en ensilaje de pradera como una guía para calidad fermentativa.	30
2.9	Caracterización organoléptica: color, olor, textura en ensilajes de pradera.	34
2.10	Características para diferenciar calidades de ensilajes de pradera.	35
3.1	Composición química (base materia seca) del material a ensilar.	50
3.2	Condiciones climáticas de fabricación de los mínisilos	51
3.3	Composición química (base materia seca) en indicadores bromatológicos del ensilaje por tipo de pradera.	56
3.4	Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes bromatológicos (base materia seca) en ensilaje de pradera sembrada.	58

3.5	Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes bromatológicos (base materia seca) en ensilaje de pradera mejorada.	59
3.6	Composición química (base materia seca) en indicadores fermentativos del ensilaje por tipo de pradera.	62
3.7	Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes fermentativos (base materia seca) en ensilaje de pradera sembrada.	63
3.8	Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes fermentativos (base materia seca) en ensilaje de pradera mejorada.	64
4.1	Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100g ácidos grasos) del material fresco antes de ensilar.	79
4.2	Condiciones climáticas de fabricación de los mínisilos.	80
4.3	Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje por tipo de pradera.	83
4.4	Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje de pradera sembrada.	85
4.5	Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje de pradera mejorada.	86

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Cambios producidos durante el proceso de ensilado	10
4.1	Análisis de componentes principales	65

INDICE DE ANEXOS

Anexos	Página
7.1	96
7.1.1	96
7.1.2	96
7.1.3	97
7.1.4	97
7.2	98
7.3	99
7.4	99
7.5	100
7.6	100
7.7	101
7.8	101

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de los métodos de conservación y tiempo de almacenamiento en dos tipos de praderas sobre los indicadores de calidad de ensilaje de pradera. Se evaluaron tres métodos de conservación: corte directo (CD), corte directo más aditivo (CDA) y premarchito (PM) y tres diferentes tiempos de almacenamiento (240, 270 y 300 días) y sus interacciones (tiempo de almacenamiento \times método de conservación). Este trabajo se realizó en las instalaciones de INIA Remehue, Región de los Lagos, al sur de Chile y se utilizaron dos praderas diferentes: Sembrada y mejorada.

Se evaluaron indicadores bromatológicos: materia seca, energía metabolizable, digestibilidad *in vitro*, proteína cruda, fibra detergente neutra, carbohidratos solubles, cenizas y extracto etéreo; estos se determinaron por análisis químico y además se evaluó el perfil de ácidos de cadena larga por cromatografía de gases. Los indicadores fermentativos: pH, nitrógeno amoniacal, ácido láctico se determinaron por análisis químico mientras que los ácidos grasos volátiles se obtuvieron por cromatografía de gases. Los atributos organolépticos evaluados fueron color, olor y humedad aparente y se determinaron a través de análisis sensorial.

Los indicadores evaluados en conjunto (bromatológico y fermentativo) en ensilajes de pradera entregaron una evaluación global del producto. El efecto del método PM mostró una mejor calidad bromatológica, mientras que el método de CDA en la calidad fermentativa, superó al método de CD y PM. Por lo tanto la combinación de ambos métodos permitiría obtener ensilajes de pradera de buena calidad nutricional. En relación al

tiempo, debido a la existencia de cambios en los indicadores bromatológicos y fermentativos a prolongados tiempos de almacenamiento se concluye que no sólo la fase fermentativa y otros factores (métodos, maquinaria, etc.) afectan a la materia prima utilizada, también largos tiempos de almacenamiento causaran daños detrimentales en la calidad nutritiva del ensilaje de pradera. No se encontraron interacciones relevantes en los factores estudiados.

SUMMARY

The aim of the present study was to evaluate preserving method and storage time on the quality parameters of silage pasture. Three silage preserving methods: direct cutting (DC), direct cutting plus additive (DCA) and cutting plus wilted (WC) and three different storage times (240, 270 and 300 days) and their interaction (storage time \times preserving method) were evaluated in a laboratory silages (vacuum-packed mini-silos). This work was carried out in the facilities of INIA Remehue, Región de Los Lagos, south of Chile and two kind of pasture were used: sown pasture and permanent improving pasture.

Bromatologicals parameters were evaluated: dry matter, metabolizable energy, *in vitro* digestibility, crude protein, neutral detergent fiber, soluble carbohydrates, ash and ether extract, they were evaluated by chemical analysis whereas long chain fatty acids profile was performed by gas chromatography. Fermentative indicators: pH, ammonia nitrogen, lactic acid were measured by chemical analysis and volatile fatty acids were obtained by gas chromatography. The organoleptic attributes used were: color, odor and moisture apparent and they were evaluated by sensory analysis.

The parameters evaluated on the whole (bromatological and fermentatives) in pasture silage provided a global evaluation of product. PM method exhibited a better bromatological quality whereas CDA method showed a superior fermentative quality. Therefore, The combination of PM and CDA could result in pasture silage of good nutritional quality. Concerning storage time, it is possible to conclude that no only

fermentative phase and others factors (methods, machines, etc.) affect raw material used, long storage time also cause detrimental damage in nutritive quality of pasture silage. Relevant interactions for factors studied were no found.

1. INTRODUCCION

1.1 ANTECEDENTES GENERALES

El sector bovino a nivel nacional cuenta con un total de 5.757.231 ha de praderas. En las regiones de Los Lagos y Los Ríos son utilizados entre un 70 y 80% de las praderas para la alimentación de la ganadería (carne y leche). En estas regiones, las praderas se distribuyen de la siguiente forma: Para praderas naturales 515.904 ha (44%), praderas mejoradas 561.694 ha (48%) y praderas sembradas 99.726 ha (8%).

La pradera es el principal recurso alimenticio para los bovinos, sin embargo, la curva de producción anual de las praderas es inconstante presentando condiciones restrictivas de calidad y disponibilidad en determinadas épocas del año. Las regiones del sur, en especial Los Lagos y Los Ríos, comparten la misma zona climática caracterizada por presentar altas precipitaciones, con temperaturas bajas desde mediados de otoño hasta inicios de primavera conllevando a temporadas de escasez de alimento con periodos de 100 a 150 días. Tales épocas críticas pueden ser enfrentadas con una previa conservación de praderas como es el ensilaje para así poder aprovechar el excedente de producción de materia seca en las praderas que se da en primavera y verano.

El ensilaje es una buena alternativa de conservación, siendo la forma más segura y eficiente de aprovechar el excedente de pradera. Por tal razón este recurso en temporada de escasez de alimento es una excelente opción en ganadería de leche, como de carne. Por otra parte la composición nutricional del ensilaje se encuentra determinada en función del forraje inicial, de los métodos de recolección y conservación del producto. Por tanto, el

forraje inicial va depender del tipo de especie a ensilar, calidad química de la pradera, estado fenológico de la pradera y del manejo de rezago; además de tener alternativas para mejorar la calidad del producto como el premarchito y el uso de aditivos, compactación del silo y modo de utilización del silo una vez abierto. Debido a estos factores y posibles interacciones entre ellos, van a intervenir en la calidad nutricional del ensilaje. En este sentido, la utilización de silos de laboratorio permite estudiar algunas de estos factores a la vez, puesto que los minisilos tienen la ventaja de ser de menor tamaño, prácticos, económicos, fáciles de confeccionar y posibilitan disponer de un gran número de repeticiones. Asimismo, con su uso se pueden hacer ensayos preliminares para su posterior validación en silos de campo.

Los distintos componentes que conforman el ensilaje nos pueden dar un enfoque de la evaluación global del producto obtenido. Siendo así que tales componentes puedan ser tomados como indicadores de la calidad de los ensilajes; como aquella composición bromatológica, fermentativa y organoléptica. Por otra parte los ácidos grasos de cadena larga quienes forman parte de la composición de los alimentos, y ser tomados como parte de la calidad nutricional del ensilaje, debido que actualmente han cobrado importancia en la producción por sus efectos benéficos en la salud humana; aumentando su interés por la industria cárnica y láctea dadas las implicancias tecnológicas, nutricionales y sensoriales que se derivan de su composición en los productos finales.

A nivel nacional no se han realizado estudios en el perfil de ácidos grasos de cadena larga en ensilajes y que debido a los mismos rubros ganaderos por su intensificación de tecnologías y por alcanzar con las exigencias industriales llevan este estudio a un aporte significativo en conocer el perfil de ácidos grasos y sus indicadores de calidad nutricional con el tipo de pradera más estudiadas, con los métodos más comunes utilizados en el país para después ver su implicancia a nivel productivo.

1.2 HIPOTESIS

El método premarchito en el ensilaje de pradera contribuye a mejorar los indicadores de calidad nutricional del ensilaje en comparación con los métodos de corte directo y corte directo más aditivo, independiente del tiempo de almacenamiento.

1.3 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de los métodos y del tiempo de almacenamiento, sobre los indicadores de calidad del ensilaje de pradera.

1.3.1 Objetivos Específicos

1. Determinar los indicadores bromatológicos (tradicionales y perfil de ácidos grasos de cadena larga), fermentativos (tradicionales y ácidos grasos volátiles), y organolépticos en ensilajes de pradera.
2. Comparar el efecto de los métodos de conservación de ensilaje sobre los indicadores bromatológicos, fermentativos y organolépticos en ensilajes de pradera.
3. Comparar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre los indicadores bromatológicos, fermentativos y organolépticos en ensilajes de pradera.
4. Evaluar la interacción de métodos y tiempo de almacenamiento en los ensilajes de pradera.

1.4 PLANTEAMIENTO Y ESTRUCTURA GENERAL DEL TRABAJO

En el presente estudio se analizaron indicadores de calidad nutricional y fermentativa en ensilajes de praderas, que por la magnitud de resultados, se exponen en dos capítulos (III y IV). El experimento se realizó en las instalaciones del Centro Regional Remehue, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), situado en Osorno y en el laboratorio de Nutricional Animal de Instituto de Producción Animal de la Universidad Austral de Chile, situado en Valdivia.

Los Capítulos III y IV consistieron en la evaluación del efecto de tres métodos de conservación y tres tiempos de almacenamiento para dos tipos de praderas sobre los indicadores bromatológicos y fermentativos en ensilaje de laboratorio (minisilos). En el capítulo III se evaluaron los indicadores bromatológicos y fermentativos del ensilaje mientras que en el capítulo IV se entregan los resultados de los ácidos grasos de cadena larga.

Los minisilos fueron fabricados en la temporada primaveral del año 2009 y tres tiempos de almacenamiento se hicieron coincidir en la época invernal (año 2010) que es cuando se produce escasez de forraje verde y donde hay una alta demanda del producto en los predios del sur de Chile. Además se analizaron indicadores sensoriales como: Olor, Color, Humedad y Calificación general de los minisilos. Estos resultados no se encuentran disponibles en los capítulos III y IV pero forman parte de la discusión general (Capítulo V) de la presente tesis.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 PRADERAS NATURALES, MEJORADAS Y SEMBRADAS DE CHILE

Las praderas naturales son aquellas tierras que se ocupan para pastoreo directo, aprovechando la vegetación espontánea; existiendo una gran variedad de especies en ella. Generalmente estas praderas son utilizadas mediante pastoreo directo y no se someten a fertilización u otra labor de cultivo (INE, 2007). Sin embargo cuando las praderas naturales son sometidas a algún tipo de labor o manejo, tales como desmalezamiento, apotreramiento, fertilización entre otros; con el fin de aumentar su productividad se denominan praderas mejoradas (INE, 2007). Estas praderas mejoradas en general son sembradas con mezclas de gramíneas y leguminosas perennes de alto valor forrajero y fertilizadas periódicamente (Dubois *et al.*, 2009).

De acuerdo a Balocchi y Anrique (1988) las praderas mejoradas permanentes (clasificación de acuerdo a su tiempo) corresponden aquel cultivo con 10 años o más desde su implantación. La composición botánica característica de este tipo de pradera son: Gramíneas (Pasto miel, Chépica, Ballica, Pasto oவில்), Leguminosas (Trébol blanco, Alfalfa chilota), Especies de hoja ancha (Chinilla, Pasto del chanco, Siete venas). Sin embargo, estas praderas están constituidas en más de un 80% por gramíneas, como contribución en peso seco. Según Navarro (1990), constituye el recurso forrajero más importante en la Región de los Lagos, debido a su abundancia y bajo costo. Considerada como la fuente más barata de proteína y energía para la alimentación del ganado.

Las praderas sembradas son todas las tierras que se utilizan con cultivos de especies forrajeras permanentes no mayores a diez años. Son praderas en la que existen poca variedad de especies e incluso una sola. Estas praderas se dividen en: rotación corta aquellas que duran no más de 2 años (ejemplos: trébol rosado, ballicas bianuales). Rotación larga son las que duran más de 2 años (ejemplos: alfalfa, trébol subterráneo, trébol blanco, ballica inglesa, pasto ovilla, festuca, falaris). (Paladines y Muñoz, 1982 citados por Gómez, 2009).

2.1.1 Distribución de las praderas naturales, mejoradas y sembradas a nivel nacional

La masa bovina de manera porcentual, el 74% de la masa bovina se encuentra en las regiones del sur entre las regiones del Bio Bio y Los Lagos. En estas regiones se concentran el 38,5% de las praderas nacionales para la producción bovina de acuerdo al censo del 2007.

Tabla 2.1 Superficie con praderas sembradas, mejoradas y naturales que declaran existencia de bovinos en diferentes zonas de Chile 2007.

ZONA	Hectáreas de praderas			
	Total	Sembradas	Mejoradas	Naturales
Norte	730.765 (12,69%)	42.976 (5,88%)	7.147 (0,98%)	680.641 (93,14%)
Centro	882.673 (15,33%)	51.488 (5,83%)	110.091 (12,47%)	721.095 (81,69%)
Sur	2.214.537 (38,47%)	206.136 (9,31%)	746.068 (33,69%)	1.262.333 (57,00%)
Austral	1.929.256 (33,51%)	18.049 (0,94%)	70.306 (3,64%)	1.840.902 (95,42%)
TOTAL	5.757.231 (100%)	318.649 (5,53)	933.612 (16,22%)	4.504.971 (78,25%)

Fuente: INE (2007)

En la tabla 2.1 se presenta la distribución de las praderas a nivel nacional, correspondiendo 78,25% a las praderas naturales, el 16,22% a mejoradas y el 5,53% restante a sembradas. Las regiones del sur poseen el 57,00% de las praderas naturalizadas, 33,69% de las praderas mejoradas y en praderas sembradas con un 9,31%.

2.1.2 Distribución de las praderas naturales, mejoradas y sembradas en las regiones de Los Ríos y Los Lagos

El sector bovino de las regiones de los Lagos y Los Ríos se basa en la utilización de praderas de las cuales: el 70% al 80% son destinadas para la producción de ganadera de carne y leche (INE, 2007).

Tabla 2.2 Superficie de praderas disponibles por tipo para la Regiones Los Ríos y Los Lagos.

REGION	Hectáreas de praderas			
	Total	Sembradas	Mejoradas	Naturales
Los Ríos	381.429 (32,33%)	46.338 (12,11%)	169.797 (44,37%)	165.294 (43,19%)
Los Lagos	795.925 (67,60%)	53.388 (6,70%)	391.897 (49,17%)	350.640 (44,0%)
TOTAL	1.177.354 (100%)	99.726 (8,47%)	561.694 (47,70%)	515.934 (43,81%)

Fuente: INE (2007).

Las praderas mejoradas de estas regiones (tabla 2.2), son las que más predominan representando un 47,70% del total, las cuales poseen una mayor productividad y son capaces de soportar mayores cargas animales. Su predominio estaría influenciado por la intensificación de los sistemas productivos pastoriles y la necesidad de aumentar la

productividad de la pradera. Las praderas naturales le sigue con un aporte 43,81% y por último las sembradas con 8,47%; estas últimas, a pesar de poseer características de alta disponibilidad y calidad, no han tenido incrementos en los últimos años decreciendo su utilización en el medio.

2.2 CONSERVACION DE FORRAJES

Los sistemas de producción de leche y carne en Chile se basan principalmente, en la utilización de forrajes suministrados en todo el año; sin embargo, por factores climáticos, hay limitantes en la disponibilidad del cultivo. Se presenta así la conservación de forrajes como la forma más económica y relativamente fácil de resolver esta limitante y que permite diferir el momento de la cosecha del forraje, hasta el momento de su utilización (Dysli, 1974; Balocchi, 1999; Palomino *et al.*, 2004; Fulgueira *et al.*, 2007;). Entre los métodos más utilizados para la conservación son la henificación y el ensilado (Dysli, 1974; Riveros, 1993; Fulgueira *et al.*, 2007).

El heno es el sistema de conservación más popular en Latinoamérica y el método de conservación más económico, debido a las mínimas necesidades de maquinaria que ocupa (González, 2000 y Palomino *et al.*, 2004). En las regiones centrales de Chile, el heno de mejor calidad es de leguminosas como la alfalfa, con un alto contenido de proteína cruda (PC) de aproximadamente 16 a 18%; siguiéndole en calidad las Ballicas. En el sur de Chile, las praderas mixtas (Gramíneas con leguminosas) para heno suelen contener menor contenido de proteína de 8 a 10% por tal razón no suele ser la principal opción de conservación de tal región (González, 2000).

La zona sur de Chile posee un rango de pluviometría de 1500 a 2400 mm, se puede considerar que el ensilaje es la forma preferente de conservación por su mayor

independencia de las condiciones climáticas, por tanto los estudios tienen una mayor inclinación hacia los ensilajes y muy poca para la henificación (Balocchi y Anrique, 1988).

Por otra parte Elizalde *et al.* (1996), indica que hasta el momento no existe forma de conservación de forraje que permita garantizar una calidad del producto final, superior que la pradera utilizada como materia prima.

2.2.1 Ensilajes de praderas

El ensilaje es el producto obtenido del proceso fermentativo de algún cultivo. Durante tal proceso y bajo condiciones anaerobias, ocurren una serie de cambios químicos y bioquímicos destacándose la fermentación parcial de los carbohidratos solubles presentes en vegetales ricos en humedad, disminución y estabilidad del pH, logrando minimizar las pérdidas de nutrientes y la conservación del producto por largos periodos. (McDonald *et al.*, 1991; Cañequé y Sánchez, 1998; Fulgueira *et al.*, 2007).

El principal objetivo en la conservación de cualquier cultivo es para preservarlo en su estado óptimo y ser usado en épocas del año cuando la disponibilidad de forraje es baja (McDonald *et al.*, 1991).

2.2.2 Proceso del ensilaje

El proceso de confección del ensilaje empieza desde el corte del forraje, aquel forraje cortado puede premarchitarse o llevarlo directamente a ensilar. Para ensilar el material, se realiza primero el corte de la pradera para luego picarlo, recolectarlo, y depositarlo en contenedores denominados silos y/o cubrirlo con membranas plásticas. Es muy importante durante la confección, que el forraje sea bien compactado con el fin de

evitar la entrada de aire y minimizar pérdidas de nutrientes (Palomino *et al.*, 2004; Flores, 2004 y Jhair *et al.*, 2008).

El objetivo de la técnica a ensilar es el descenso rápido del pH del producto mediante la fermentación láctica y mantención de las condiciones anaerobias (Mc Donald, 1991 citado por Flores, 2004). Por tanto, los cambios bioquímicos del producto empiezan desde el corte del forraje y los cuales pueden ser descritos en las siguientes fases: Fase aeróbica, Fase anaerobia, Fase estable y Fase de alimentación o vaciado (Fig. 1) (Sánchez *et al.*, 2002 y Kaiser *et al.*, 2004).

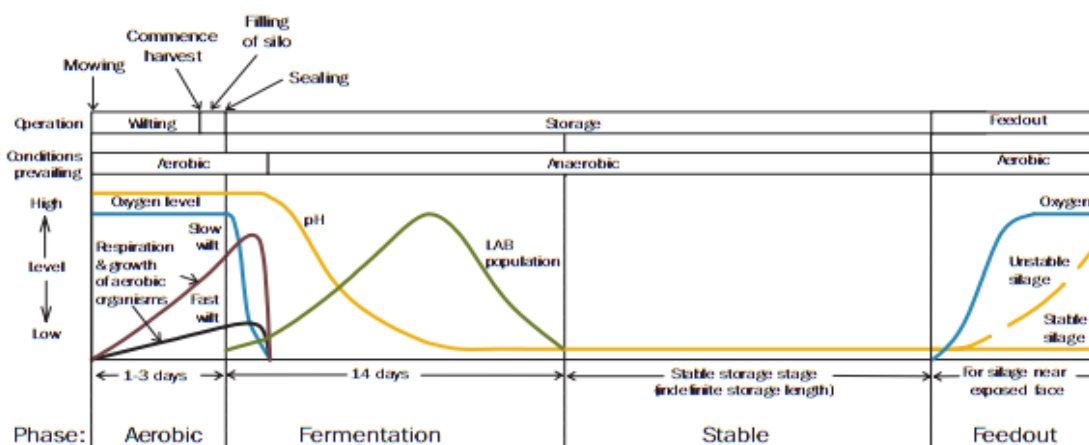


Fig. 2.1 Cambios producidos durante el proceso de ensilado (tomado de Kaiser *et al.*, 2004)

Fase aerobia.- Se inicia luego del corte del cultivo suspendiéndose la fotosíntesis; sin embargo, continúa la respiración de las células vegetales y las enzimas de las plantas se encuentran activas hasta agotarse el oxígeno. Durante esta fase; las enzimas degradan los componentes del cultivo provocando pérdidas de materia seca, energía metabolizable y carbohidratos solubles siendo estos últimos requeridos por las bacterias lácticas para la fermentación. También se produce proteólisis enzimática que, en casos de tener exceso de oxígeno, puede provocarse una extensa degradación proteica, una elevación de temperatura

y el desarrollo de microorganismos aeróbicos (levaduras y mohos), llevando a disminuir la digestibilidad y a ejercer efectos negativos en la estabilidad aeróbica del ensilaje una vez abierto (Sánchez, 2002 y Kaiser *et al.*, 2004).

Es inevitable la fase de respiración y la degradación de sus nutrientes pero minimizar este tiempo se lo puede lograr alcanzando mejores labores de cosecha, el reducir el tamaño de partícula alcanzando un grado alto de compactación y sellado, para así alcanzar la máxima calidad del producto (Flores, 2004).

Fase anaerobia.- Esta fase se inicia cuando se ha agotado el oxígeno produciendo la fermentación propiamente tal, con el crecimiento inicial de coliformes, los cuales producen ácidos orgánicos, alcohol y gas carbónico. De tal manera, disminuye el pH provocando el incremento de microorganismos como son las bacterias lácticas siendo las homofermentativas las más deseables, cuya producción de ácido láctico conlleva a la rápida caída del pH asegurando así el éxito del proceso. Esta fase continúa hasta cuando el pH sea lo suficientemente bajo para inhibir el crecimiento potencial de microorganismos, estabilizando el proceso, lo cual puede ser alcanzado de 10 a 21 días (Sánchez *et al.*, 2002).

Fase Estable.- Una vez que la fase de fermentación se ha completado, el ensilaje luego entra en una fase de estabilidad anaeróbica. A condición que el oxígeno este excluido, habrá poco o ningún cambio en el producto conservado. (Kaiser *et al.*, 2004).

Fase de vaciado o Apertura del silo.- Esta fase se la denomina también como fase de deterioro aeróbico y se inicia con la apertura del silo al ser nuevamente expuesto al oxígeno; se originan pérdidas consideradas del material pero la magnitud de aquellas van a depender de las fases anteriores (Sánchez *et al.*, 2002).

2.2.3 Composición nutricional de los ensilajes de praderas del sur de Chile

El valor nutricional, ya sean energéticos, nitrogenados o digestibilidad, son determinados en función de la especie a ensilar, tiempo de rezago y al estado de madurez de la planta al momento de su recolección y de las alteraciones producidas durante el proceso del ensilaje, ligadas a las técnicas de recolección y de conservación (Cañeque y Sánchez, 1998 y Flores, 2004). Como resultado de estos últimos factores, el forraje inicial y el producto ensilado difieren fundamentalmente de dos aspectos:

En primer lugar, el ensilaje contiene menos hidratos de carbonos solubles que el forraje fresco, debido a que éstos son utilizados por la flora microbiana como sustrato en los procesos de fermentación, produciendo una gran variedad de compuestos y ácidos orgánicos que, en ensilados normales de las fermentaciones, no tienen un gran efecto sobre el valor nutritivo dado que son productos normales de las fermentaciones ruminales (Cañeque y Sánchez, 1998).

En segundo lugar, a pesar que el contenido de proteína bruta sea similar para ambos alimentos, una alta proporción de la proteína del forraje es degradada en el silo a nitrógeno no proteico, en forma de amoníaco, aminoácidos libres y aminas, estos subproductos poseen menor valor nutritivo y, las aminas en particular, pueden producir efectos tóxicos, además de afectar la digestibilidad del alimento (Cañeque y Sánchez, 1998).

A través del tiempo ha incrementado el interés en conocer la composición nutricional de los ensilajes en Chile. Berndt (2002) realizó un estudio recopilando muestras analizadas en ensilajes desde 1980 al 2000; como resultado de su análisis observó un importante incremento en la utilización del uso de laboratorio en el tiempo para análisis de los ensilajes de praderas, lo cual puede deberse a que: la pradera es el recurso forrajero más abundante en la mayoría de los predios, la confección de ensilaje es parte de una estrategia de manejo racional de la pradera, el costo del ensilaje de praderas es inferior a

otros, y su valor nutritivo suele ser alto cuando el manejo y época de corte son óptimos (Cuevas, 1987 y Balocchi, 1999).

Tabla 2.3 Composición química de ensilaje de pradera de corte directo del sur de Chile.

FRACCIONES NUTRICIONALES	Ensilaje de Pradera corte directo
Materia Seca (%)	20,35
Cenizas Totales (%)	8,05
Proteína Cruda (%)	11,38
Fibra Cruda (%)	32,39
Fibra Detergente Acida (%)	40,14
Fibra Detergente Neutra (%)	59,41
Energía Metabolizable (Mcal/kg)	2,34
Nitrógeno Amoniacal (%N total)	9,87
pH	4,13
Ca (%)	0,57
P (%)	0,25
Mg (%)	0,20
K (%)	1,50

Fuente: Berndt (2002)

De acuerdo a la (Tabla 2.3) Berndt (2002), llega a la conclusión de que los ensilajes de la zona sur están bajo el potencial nutricional que es posible obtener y que se puede realizar un esfuerzo a nivel de investigación y transferencia de tecnología para que

los productores reciban, en forma clara y precisa, los conocimientos que le permita entender y mejorar la técnica del manejo de las praderas y posterior confección de ensilajes.

2.2.4 Especies ensiladas en el sur de Chile

Existen diversos cultivos forrajeros opcionales, como alfalfa, avena, ballicas de rotación, maíz, siendo la pradera permanente el recurso más utilizado. Los ensilajes provienen de manera mayoritaria (67%) de praderas, debido que se consideran como el recurso más abundante, de menor costo y alto valor nutricional (Torres, 1994).

Debido que la pradera es el recurso más utilizado, se puede describir que la especie forrajera ideal para ensilar debe poseer, un alto nivel de carbohidratos solubles, baja capacidad de tampón (baja resistencia al cambio de pH), y un contenido de materia seca mínima de 20%. Además de una estructura física adecuada (tamaño de partícula) que permita una buena compactación del silo (Balocchi y Anrique, 1988 y Torres, 1994). Y si no cumplen con aquellas características descritas, existen métodos como, el premarchito para alcanzar la materia seca deseada, uso de aditivos para obtener buena fermentación, también el uso de maquinarias para la compactación y picado del material y así alcanzar buena calidad nutricional del ensilaje de pradera (Torres, 1994).

En este mismo sentido, las especies que pueden cumplir con las características apropiadas y alcanzar una buena preservación del producto son: Ballicas anuales y Ballicas perennes, siguiéndoles la Festuca y finalmente el Pasto Ovillo, las cuales provienen de praderas de sembradas (Torres, 1994). No obstante, en la zona sur de Chile, la introducción de este tipo de pradera es mínima, sólo cuentan con un 9,31% del total de las praderas existentes (Echaverri, 2009).

Siebold (2001), en la revisión de mejoramiento de praderas y conservación de forraje, realiza la observación de una alta respuesta de las praderas naturalizadas mejoradas, en volumen y en calidad, si son cosechadas en el momento oportuno y con las técnicas adecuadas. En la tabla 2.4, muestra la no existencia de diferencias significativas en indicador fermentativo, bromatológico y de producción al comparar praderas mejoradas vs praderas sembradas.

Tabla 2.4 Calidad de ensilaje de pradera sembrada vs pradera mejorada INIA – Remehue.

Pradera	Composición botánica (%)	Valor D	pH	Ganancia de peso (Kg/día)	
Sembrada 2 años	Ballicas	63	67	3,91	0,73
	Trébol Blanco	8			
	Otras gramíneas	13			
	Malezas	11			
	Material muerto	5			
Mejorada	Ballicas	30	67 – 71	3,90	0,77 - 0,83
	Trébol Blanco	5			
	Otras gramíneas	52			
	Malezas	12			

Valor D: Cantidad de materia orgánica digerible expresada % de materia seca

Fuente: Siebold (2001).

2.2.5 Tiempo de rezago y estado fenológico de la pradera a ensilar

El tiempo de rezago comprende el descanso de la pradera; y el estado fenológico, a las diferentes etapas de desarrollo de las plantas, desde la germinación de la semilla hasta la formación de órganos reproductivos y producción de semillas (Canseco *et al.*, 2007).

La realización de un buen manejo de rezago, significa la obtención de una buena cantidad de forraje, sin descuidar la calidad nutritiva y el menor daño posible a la pradera. Lo cual puede lograrse con rezagos de corta duración (dependiente del tipo de especies de la pradera), cortes apropiados para no perjudicar a la pradera y finalmente proceder a la devolución total de los nutrientes extraídos. Estados fenológicos han sido estudiados por Teuber y Balocchi (2003) indicando que para obtener un ensilaje de buena calidad debería poseer un adecuado contenido de materia seca (17,4 % - 19,1%), buena relación de proteína total (13,9% - 16,3%) y energía metabolizable (2,44 – 2,58 Mcal/kg) lo cual ocurre en rezago de 54 y 63 días. En este mismo sentido, Dumont (2006) comenta que una buena calidad se obtiene ensilando pastos con muchas hojas, con rezagos cortos no superior a 45 días; cosechar entre estados de bota e inicio de espigadura.

Teniendo lo suficientemente claro que en estados de rezagos muy avanzados es posible obtener alta cantidad de materia seca, pero no calidad nutritiva y que en estado de bota e inicio de emergencia de la espiga, se logran las mejores concentraciones de proteína cruda, energía metabolizable, digestibilidad, entre otras, es decir un equilibrio entre rendimiento de materia seca y sus nutrientes que se llevaran a conservar. Por lo tanto, es muy importante definir claramente los estados fenológicos, tiempo de rezago y corte apropiado en los distintos tipos de praderas, cultivares que actualmente están siendo introducidos para la obtención de un ensilaje de buena calidad nutricional (Elizalde *et al.*, 1992; Torres, 1994 y Teuber y Balocchi, 2003).

2.3 ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTOS EN EL ENSILAJE PARA MEJORAR LA CALIDAD

Para poder llegar a obtener un ensilaje de buena calidad se utilizan diversas técnicas, entre ellas se encuentra el uso de aditivos y el premarchitamiento. Estas técnicas son actualmente muy difundidas en el medio agropecuario nacional.

2.3.1 Aditivos

Se considera aditivo por aquel compuesto que se agregan durante la confección del ensilaje dentro del silo (Elizalde *et al.*, 1996). Estos compuestos han sido desarrollados para disminuir los riesgos del proceso de ensilaje y para mejorar su valor nutritivo. Idealmente, un aditivo debe ser seguro de manejar, reducir las pérdidas de materia seca, mejorar la calidad fermentativa del ensilado, limitar fermentaciones secundarias, incrementar el valor nutritivo aumentando la eficiencia de utilización del ensilado y proporcionarle al productor un retorno mayor que el costo del aditivo (Henderson, 1993 citado por Cárdenas *et al.*, 2004). Actualmente se dispone de una amplia gama de aditivos. Según McDonald *et al.* (1991) presenta una clasificación de 5 categorías:

1. **Inhibidores de Fermentación.-** Los inhibidores restringen la actividad bacteriana por acidificación o esterilizando parcialmente el forraje (Wilkinson, 1990). Entre los más comunes: Acido Fórmico, Acido Láctico, Acido Benzoico, Acido glicólico, Acido cítrico, Acido sórbico, Formaldehido, Nitrito de sodio, Antibióticos, entre otros (McDonald *et al.*, 1991).
2. **Estimulantes de Fermentación.-** Prestan o producen sustrato fermentable adicional para aumentar la producción de ácido láctico, o estimulantes que se presentan como cepas especiales de bacterias ácido lácticas diseñadas para dominar el proceso de fermentación y mejorar su eficiencia (Wilkinson, 1990). Como ejemplos de los sustratos: Glucosa, melaza, cereales, suero de leche; y entre las cepas de uso más común: Bacterias Lácticas (McDonald *et al.*, 1991).
3. **Inhibidores del deterioro aeróbica.-** Controlan el daño causado por aire cuando el ensilaje se abre y queda expuesto (González, 1992), presentando ejemplos de lo más

comunes: Bacteria ácido lácticas, Acido propiónico, ácido sórbico, Pimaricin, Amonio (McDonald *et al.*, 1991).

4. **Absorbentes.-** Están diseñados para reducir el flujo de efluentes desde el silo. Como la misma palabra lo dice el fin es absorber el efluente producido y de esta manera se reduce la pérdida de nutrientes y riesgo de polución (Wilkinson, 1990; Offer y al-Rwidah citado por González, 1992). Presentando ejemplos: Cebada, Paja, Pulpa de remolacha azucarera, Polímeros, Bentonita (McDonald *et al.*, 1991).
5. **Nutrientes.-** Aquellas sustancias que se añade al ensilado, contribuyendo significativamente a las necesidades nutricionales de los animales que lo consumen. Aditivos descritos anteriormente como estimulantes de la fermentación, como la melaza, cereales, suero de leche, pulpa de remolacha, pulpa de cítricos, también pueden incluirse en la partida de los nutrientes; sin embargo, se utilizan con el fin de mejorar el valor nutricional del ensilaje y, normalmente, no tienen papel beneficioso en mejorar la fermentación. Presentando ejemplos: Urea, Amonio y minerales (McDonald *et al.*, 1991).

El uso de aditivos para ensilajes de praderas está recomendado para condiciones climáticas adversas con exceso de humedad ambiental, forraje muy tierno, con baja materia seca y en especies con bajo contenido de carbohidratos solubles (González, 1992).

En caso de elegir un aditivo se recomienda los tipos biológicos más empleados en Europa y E.E.U.U. Dicha tendencia se debe a resultados positivos en sus estudios más recientes y a la importancia que el producto ofrezca como la facilidad de manejo, no corroer el equipo ensilador, no agresión al medio ambiente, seguridad de manejo, y baja producción de efluentes (González, 1992 y Henderson, 1987 citado por Flores, 2004).

A nivel nacional existe una baja tendencia a la utilización de los aditivos en ensilajes de praderas, lo cual puede deberse a un bajo nivel de difusión y aprovechamiento experimentado considerándose mínimo su uso (Berndt, 2002).

2.3.2 Premarchitamiento

Esta técnica consiste en cortar el forraje y dejarlo secar por un tiempo determinado (24 a 72 horas), para luego recolectarlo y ensilarlo. Existen varios objetivos en la utilización de esta técnica entre ellos; aumentar el contenido de materia seca del forraje, lo cual se suele realizar en praderas ensiladas en estado de bota o inicio de espigadura, y disminuir la intensidad de la fermentación, con lo que se lograría un mayor consumo voluntario por parte del ganado (UACH, 1985 y Klein, 1991).

Se obtiene un menor impacto ambiental, es decir, una menor producción de efluentes (Dumont, 1988). La producción de efluentes del ensilaje es la fase líquida contenida al interior de las células vegetales, la cual es liberada por efecto del daño mecánico y la presión ejercida en el proceso de elaboración del ensilaje. Este líquido se encuentra constituido por los nutrientes solubles que están presentes en el citoplasma tales como: azúcares, minerales, compuestos nitrogenados solubles y en algunos casos hasta los ácidos orgánicos (Pichard y Cussen, 1995). A mayor contenido de materia seca del forraje a ensilar, menor producción de efluentes; también estudios han llegado a determinar que a un rango de materia seca entre 25% y 30% ya no se producen estos líquidos (Dumont, 1988 y Pichard y Cussen, 1995).

Algunos estudios de ensilajes premarchitos han logrado obtener alto consumo en comparación con ensilajes de corte directo. Así muestra Lanuza *et al.* (1983) un consumo 19% mayor de ensilaje marchito frente a ensilaje de corte directo. También se han

encontrado mayor concentración de azúcares y aumento de estabilidad, debido a una mayor presión osmótica que suprime el crecimiento de clostridios (Vallejo, 1995).

La efectividad de alcanzar aquellas ventajas se encuentran relacionadas directamente a las condiciones climáticas. En días soleados se puede lograr un adecuado premarchitamiento y así, más el uso de maquinaria adecuada y por la ejecución de las tareas en tiempos oportunos, es posible alcanzar los beneficios de aquella técnica (Pichard y Cussen, 1995).

Debe tenerse en cuenta que esta tecnología se puede lograr una mayor concentración de sus nutrientes, aumentando el consumo por los animales. Con la técnica del premarchitamiento en producción de carne se han logrado: mayor consumo e incrementos en la ganancia de peso a diferencia de aquellos ensilajes de corte directo (González, 1992). En cambio en producción de leche, Wilkins (1984); Castle y Watson (1984) citado por González (1992) no encontraron efecto en producción de leche en vacas lecheras con ensilaje premarchito comparado con ensilaje de corte directo.

La utilización de esta técnica en ensilajes de praderas ha presentado una mayor tendencia que el uso de aditivos (Berndt, 2002). La utilización de la técnica del premarchitamiento presenta un incremento más positivo que el uso de aditivos, teniendo resultados entre 1995 y 2000 con valores de 39% para ballicas de rotación y 18% para praderas; dicho autor también considera un bajo incremento en ensilajes de ballicas de rotación, sobre todo en praderas. En este mismo sentido Berndt (2002), en la recopilación de datos de laboratorios, realiza comparación de ensilajes de corte directo vs ensilajes con premachitamiento exponiéndolos en la tabla 2.5, observándose un mejor composición bromatológica el ensilaje premarchito que el corte directo.

Tabla 2.5 Composición nutricional de ensilaje de pradera de corte directo vs marchito del sur de Chile.

FRACCIONES NUTRICIONALES	Ensilaje de pradera corte directo	Ensilaje de pradera premarchito
Materia Seca (%)	20,35	31,50
Proteína Cruda (%)	11,38	12,12
Fibra Detergente Acida (%)	40,14	35,08
Fibra Detergente Neutra (%)	59,41	53,39
Energía Metabolizable (Mcal/kg)	2,34	2,47
Nitrógeno Amoniacal (% de N)	9,87	7,76
pH	4,13	4,18
Ca (%)	0,57	0,58
P (%)	0,25	0,26
Mg (%)	0,20	0,20
K (%)	1,50	1,77

FUENTE: Berndt (2002) Modificado.

2.4 TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DEL ENSILAJE

Desde el momento del corte de la pradera se describen fases muy bien marcadas y descritas a la obtención del ensilaje como tal, las cuales son: Fase aerobia, Fase anaerobia, Fase estable, Fase de vaciado. (Sánchez *et al.*, 2002 y Kaiser *et al.*, 2004). Se han realizado muchos estudios en cada una de las fases mencionadas, a excepción de la fase de estabilidad anaerobia puesto que se asume que en esta fase ya no se realizan procesos fermentativos hasta el momento de su apertura o la continuación de procesos pero a muy baja escala (Jaurena *et al.*, Limin *et al.*, 2010).

Estudios han demostrado la existencia de la continuidad de los cambios en los productos finales de fermentación, incluso después de varios meses de almacenamiento de ensilaje, debido a la actividad microbiana la cual es persistente hasta con pH bajos dando ejemplo de la actividad microbiana en el tiempo, como las cepas de *Lactobacillus plantarum* quienes tienen la capacidad de convertir ácido láctico a ácido acético en la ausencia de azúcares fermentables a través del sistema piruvato formato liasa (Lindgren *et al.*, 1990 citado por Kung, 2010). El *Lactobacillus buchneri* también parece ser bastante activo en largos periodos de almacenamiento en ensilajes de maíz y que, en condiciones anaerobias y pH bajo, tal microorganismo es capaz de convertir el ácido láctico en ácido acético, etanol y 1,2 propanodiol. (Oude-Elferink *et al.*, 2001 Kleinschmit *et al.*, 2006 citado por Kung, 2010).

En estudios de ensilajes de praderas naturales en minisilos realizando apertura en 4 tiempos distintos (111, 150, 236 y 447 días) encontraron aumento en la concentración de cenizas y lignina, decrecimiento en la PC, hemicelulosa y energía metabolizable e incrementos en la parte fermentativa (acético, nitrógeno amoniacal), disminución de los carbohidratos solubles (Morrison, 1979; Yahara *et al.*, 2001 y Jaurena *et al.*, 2010). También se han encontrado cambios en tiempo de ensilaje de maíz a los 361 días con incremento lineal del nitrógeno amoniacal (Filya, 2003).

2.5 INDICADORES DE CALIDAD BROMATOLOGICA EN ENSILAJES DE PRADERAS

Anteriormente se mencionó que la composición nutricional de los ensilajes está determinada en función de la composición de los forrajes iniciales de donde provienen. Es posible considerar a la composición química del ensilaje como indicadores bromatológicos del producto, obteniéndose valores de aquellos indicadores para luego determinar la calidad

que posee aquel producto ensilado. Puesto así, entre los parámetros más comunes en la parte bromatológica, son los siguientes:

2.5.1 Materia seca (MS)

El contenido de MS del material antes de ensilar influye en la estabilidad del material de manera directa durante el periodo de confección y almacenamiento, por tanto su contenido va depender de la especie a ensilar, del estado fenológico en que sea cosechado el material a ensilar, estación y de las técnicas tomadas para la confección del ensilaje (Ojeda, 1986 y Muck, 1988 citados por Vallejo, 1995; Chaverra y Bernal, 2000 y Fulgueira, 2007).

De acuerdo a tablas de composición de alimentos para ensilajes de praderas de corte directo la MS puede oscilar entre 19,3% - 29,7%. Para ensilajes de praderas premarchitas dentro de un rango de 24,3% - 37,2% (Anrique *et al.*, 2008 y Berndt, 2002). Literatura en general puede estimarse que el óptimo estaría entre 30 y 35%, valores que deben obtenerse mediante el premarchitamiento y no a expensas de la maduración o envejecimiento de las plantas (Torres, 1994 y Chaverra y Bernal, 2000).

2.5.2 Proteína Cruda (PC)

Ésta se determina a partir de nitrógeno total ($N * 6,25$). El contenido del ensilaje se relaciona principalmente con el contenido de PC del forraje inicial; en donde tal fracción va ser menor en ensilajes debido a las pérdidas de nutrientes principalmente por la producción de efluentes (Fulgueira *et al.*, 2007). En ensilajes de praderas de corte directo se encuentran rangos de PC con 13,3% - 20,7% y en ensilajes de pradera premarchita PC 9,49% - 19,2% (Anrique *et al.*, 2008 y Berndt, 2002). El objetivo de mostrar esta fracción es mostrar si existe la suficiente proteína disponible para el rumen de microorganismos. También es importante considerar que la PC no nos dice nada acerca de la calidad que

puede tener para su efecto posterior en el rendimiento de los animales (Fulgueira *et al.*, 2007).

2.5.3 Carbohidratos Solubles (CHOS)

Dentro de los nutrientes afectados durante el proceso del ensilado, los CHOS son los primeros en sufrir alteraciones por razones sencillas de ser tomados como sustratos durante la fase de fermentación (Chaverra y Bernal, 2000). Las gramíneas se caracterizan por presentar mayor contenido de CHOS que las leguminosas. Las gramíneas y leguminosas de clima templado acumulan más carbohidratos solubles que las gramíneas tropicales. El nivel apropiado de CHOS en agua para obtener por fermentación un ensilado estable con bajo pH y ácido láctico dominante, bien conservado es del 3% del peso en forraje fresco como mínimo; sin embargo, lo ideal es buscar cultivos con altos contenidos de azúcares, considerándose gramíneas con concentración normal de CHOS puede oscilar entre 6 – 14% (Minson, 1981). Si el nivel de esos CHOS es inferior al 2%, hay posibilidad de la presencia de una fermentación secundaria lo cual conlleva, como consecuencia, la baja calidad del producto (Cañeque y Sánchez, 1998; Chaverra y Bernal, 2000 y Cárdenas *et al.*, 2004).

2.5.4 Fibra Detergente Neutro (FDN)

Estima el contenido de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina) La cantidad de FDN va depender de la especie de pradera y del estado de madurez de la planta tanto para forraje fresco como ensilajes. La cantidad promedio que se espera en gramíneas templadas en FDN se encuentra alrededor de un 35% pero en ensilajes, estas cantidades suelen ser superiores lo cual hay que tener precaución ya que niveles demasiado altos pasando un 50% en ensilajes conllevan a bajar el consumo y bajar el rendimiento productivo. (Cárdenas *et al.*, 2004 y Fulgueira *et al.*, 2007). La FDN en ensilajes praderas

de corte directo del sur de Chile presentan rango de 50% - 55%; y ensilajes de ballicas de corte directo con rangos de 43% - 69% y ensilajes de ballicas premarchitas de 33% - 65% (Berndt, 2002).

2.5.5 Fibra Detergente Ácida (FDA)

Determina la concentración de celulosa y lignina. Un alto contenido de esta fracción conlleva a efectos negativos en la producción teniendo varios factores que pueden influir en ese contenido alto, tales como: estado fenológico de la planta a ensilar, daños por exceso de lluvia, altas temperaturas y malezas. (Fulgueira *et al.*, 2007). La FDA en ensilajes praderas de corte directo del sur de Chile presentan rango de 33% - 37%; y ensilajes de ballicas de corte directo con rangos de 28% - 50% y ensilajes de ballicas premarchitas de 26% - 44% (Berndt, 2002).

2.5.6 Ácidos Grasos de Cadena Larga (AGCL)

Los ácidos grasos de cadena larga forman parte de la composición de los alimentos y debido a la importancia que han adquirido de sus efectos benéficos en la salud humana a partir de productos lácteos y cárnicos; es que son estudiados para ver sus implicancias en nutrición animal, industrial y sensorial que se derivan de la composición de aquellos ácidos grasos en la grasa intramuscular y en la grasa láctea. (Sédébio y Christie, 1998; Nicolau y Kokotos, 2004 y Livisay *et al.*, 2000 citados por García y Díaz, 2005).

Se han realizado algunos estudios de la concentración de ácidos grasos de cadena larga en los productos cárnicos y lácteos en Chile (Melo, 2005; Morales *et al.*, 2010 y Flores, 2010), muy pocos estudios en el alimento suministrado al ganado (Morales *et al.*, 2010). Como anteriormente se mencionó, se cuenta con los análisis bromatológicos tradicionales (MS, PB, EM, FDA, FDN, etc), en composición fermentativa (pH, ácidos grasos volátiles, láctico, etanol, nitrógeno amoniacal). A nivel internacional se ha puesto

mucha atención en el estudio de estos AGCL y el impacto que tiene actualmente con beneficios hacia la salud humana, concentraciones de ácidos grasos de cadena larga en los ensilajes y sus efectos en los productos finales han sido también estudiados (Dhiman *et al.*, 1999; French *et al.*, 2000; García y Díaz, 2005 y Angulo *et al.*, 2009).

Dewhurst *et al.* (2001) encontró diferencias entre especies con un mismo manejo y cortes en diferentes estaciones, concluyendo la existencia de una fuerte influencia genética y estacional en los perfiles de ácidos grasos de cadena larga. En este mismo estudio han sido encontrado que el ácido linolénico (C18:3 *n*-3) para la especie de *Lolium multiflorum* es muy alto en otoño y decrece fuertemente en épocas de verano; sin embargo, el *Lolium perenne* presentó una baja concentración del C18:3 *n*-3 comparada con la *L. multiflorum* en otoño, pero esta última presentó ligeros incrementos en verano.

Trabajos con el método premarchito, Dewhurst y King (1998) han concluido que el premarchito da lugar a pérdidas importantes de ácido linolénico, y que las pérdidas se detienen con la compactación del ensilaje. Diferencias en la concentración en los principales ácidos grasos de cadena larga (ácido esteárico, palmítico, oléico, linoléico y linolénico) se han encontrado en ensilajes con inoculantes biológicos (*Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, *Pediococcus pentasaceus*, *Enterococcus faecium*), sin embargo al comparar ensilajes de inoculantes con ensilajes control, éste último ha sido inferior sobre todo en los ácidos linoléico y linolénico (Jalc *et al.*, 2009; 2010).

En estudios de la composición de ácidos grasos en grasa intramuscular de novillos con ofrecimiento de varias dietas, entre ellas a base de ensilaje, se han encontrado perfiles de ácidos grasos similares en dietas a base de praderas como en los ensilajes, conteniendo baja proporción de ácidos grasos saturados y alta proporción en ácidos grasos insaturados en los pastos (Dhiman *et al.*, 1999; French *et al.*, 2000 y Melo, 2005). Sin embargo, al obtener resultados en la grasa intramuscular tuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$), teniendo mayor concentración sobre todo en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en

dietas a base de praderas, concluyendo que la composición de la carne puede ser mejorada desde la perspectiva de la salud humana por la inclusión de praderas en la dieta (French *et al.*, 2000). Otros estudios similares pero en la grasa láctea presentaron una baja concentración del ácido linolénico conjugado (CLA) con la dieta a base de ensilajes en comparación de la dieta a base de pradera (Dhiman *et al.*, 1999 y Melo, 2005). La razón de este efecto negativo por parte del ensilaje se debe por el decrecimiento de azúcares y fibra soluble durante el proceso de ensilar; y esto repercutiría afectando a los microorganismos ruminales con énfasis a la *Butyrivibrio fibrisolvens*, disminuyendo su crecimiento por falta de tales azúcares, a diferencia de la pradera que favorece al crecimiento de dicha bacteria promoviendo la producción de CLA por el rumen (Dhiman *et al.*, 1999).

De acuerdo a tales estudios y algunos contradictorios y el no tener disponibilidad de información de la concentración y calidad de ácidos grasos de cadena larga a nivel nacional es que se realizará la siguiente investigación como un aporte al campo de la nutrición.

2.6 INDICADORES DE LA CALIDAD FERMENTATIVA EN ENSILAJES DE PRADERAS

Desde el momento del corte de la pradera, y sobre todo durante la fase fermentativa del ensilado se producen cambios en los compuestos orgánicos presentes en el producto (Vallejo, 1995).

Después del contenido de la energía metabolizable, la calidad fermentativa es la medida más importante de la calidad de ensilaje influenciando resultados fuertemente en la producción animal. Una pobre fermentación lo convierten en un producto no palatable aunque el contenido de la energía metabolizable y proteína cruda sean altos, logrando como resultado un consumo y baja producción baja en aquellos ensilajes con mala fermentación. Por lo tanto, para una evaluación adecuada de la calidad fermentativa es necesario un análisis completo de los productos de la fermentación. Entre las evaluaciones que se

incluyen están el ácido láctico, ácidos grasos volátiles, alcoholes y nitrógeno amoniacal (Kaiser *et al.*, 2004).

2.6.1 pH

Este indicador es uno de los mejores parámetros para definir la calidad fermentativa del ensilaje, porque cuando esta es buena disminuye hasta el momento que se detiene la actividad de las bacterias butíricas y el de las enzimas proteolíticas, dando lugar a una estabilización del producto fermentado. El pH se encuentra estrechamente relacionado con el contenido de MS y los carbohidratos solubles del forraje a ensilar (Cañeque y Sánchez, 1998 y Fulgueira *et al.*, 2007), como se puede indicar a continuación:

Tabla 2.6 Relación del porcentaje de MS con el pH en ensilajes de pradera de corte directo y marchito.

% de MS	pH de estabilidad
15-20	4
20-25	4,0 – 4,2
25-30	4,2 - 4,4
30-35	4,4 – 4,6
35-40	4,6 - 4,8

Fuente: Cañeque y Sánchez (1998)

En general cuanto más bajo sea el pH la calidad es mejor, ya que nos indica que se ha producido una fermentación de tipo láctico; sin embargo, el pH estable para ensilajes marchitos no será el mismo que para los no marchitos (Cañeque y Sánchez, 1998). En los marchitos, la relación entre el pH y la calidad será la siguiente:

Tabla 2.7 Apreciación del pH en ensilajes de praderas marchitas.

pH	Apreciación de la calidad
3,5 – 4,1	Muy buena
4,2 – 4,5	Buena
4,5 – 5,0	Media
5,1 – 5,6	Mala
5,6 o mayor	Muy mala

Fuente: Cañeque y Sánchez. (1998)

2.6.2 Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

Este indicador nos muestra la degradación de proteína a amoniacado durante el ensilado y es considerado como un buen indicador de fermentación y de la estabilidad del ensilaje (Cañeque y Sánchez, 1998 y Kaiser, 2004).

El nitrógeno amoniacal puede ser usado como guía de calidad de fermentación. En la tabla 2.8, los ensilajes bien preservados son aquellos menores o iguales al 5% de nitrógeno amoniacal en base a materia seca. En ensilajes mal preservados, el nitrógeno amoniacal será alto llegando a superar al 15% incluso es posible que a un 50% del total de nitrógeno causando total deterioración del producto e inhibiendo totalmente el consumo. (Wilkinson, 1990).

Tabla 2.8 Uso de Nitrógeno amoniacal en ensilaje de pradera como una guía para calidad fermentativa.

Nitrógeno Amoniacal (% del N total)	Calidad fermentativa del ensilaje
< 5	Excelente
5 – 10	Bueno
10 – 15	Moderado
> 15	Pobre

Fuente: Wilkinson (1990)

A pesar que la concentración de nitrógeno amoniacal es tomada usualmente como criterio del nivel de degradación proteica, no son suficientes para medir el valor nitrogenado del ensilaje, siendo las aminas y otros productos de decarboxilación índices más adecuados para una evaluación más completa del valor nitrogenado del ensilaje (Thomas y Thomas (1985) citado por Flores, (2004).

2.6.3 Etanol

La producción de este indicador en el ensilaje de pradera debería ser baja hasta un 2% es aceptable, debido a que está asociado con el crecimiento indeseable de levaduras. Las levaduras en los ensilajes en ausencia de oxígeno fermentan los azúcares disponibles en etanol y CO₂; la producción de etanol no solamente disminuye el contenido en azúcares disponible para la fermentación láctica, sino que incrementa las pérdidas de materia seca (Woolford, 1990 citado por Flores, 2004).

2.6.4 Ácidos grasos volátiles (AGV)

Cuando éstos se presentan en altas cantidades son indicadores de pobre fermentación (Cañeque y Sánchez, 1998). Su estudio se hace más relevante de manera

individual de los 4 ácidos grasos volátiles teniendo como los más representativo: Acético, Butírico, Isobutírico y Propiónico, realizando a continuación su descripción de manera individual:

El ácido acético es un constituyente normal del ensilaje que procede de las fermentaciones producidas por las bacterias coliformes, butíricas y lácticas heterofermentativas. Los valores son aceptables de 2 a 3% en base a la MS. La concentración del ácido acético afecta la palatabilidad del conservado. Un alto contenido disminuye la palatabilidad del ensilaje y se lo considera mayor inhibidor de levaduras y mejor estabilizante aeróbico que el ácido láctico (Contreras *et al.*, 2009).

El ácido butírico producido por las bacterias butíricas es un buen indicador, tanto de calidad del producto conservado como de su estabilidad anaerobia. Este ácido puede ser producido bajo condiciones anaerobias debido a una variedad de factores, entre ellos los que se incluyen: la alta contaminación con suelo, baja tasa de fermentación, la baja cantidad de materia seca. Lo ideal es que no aparezca en los análisis o sólo trazas del mismo (0 – 1% en base a MS) dando un buen indicador de un producto de buena calidad (Wilkinson, 1990). **El ácido isobutírico** debe ser inferior a 0,1% en base a materia seca en ensilajes. Las investigaciones no han llegado a un consenso sobre el efecto de este ácido, pero muchos han concluido que tiene efectos similares al ácido butírico (Kaiser *et al.*, 2004).

La concentración de **ácido propiónico** es de menor interés que los dos anteriores al encontrarse, por lo general, en menor proporción en los ensilados (0,1 a 2 g/kg de MS). Su presencia es indicador de la degradación que han sufrido los compuestos nitrogenados, siendo valores cercanos a 15g/kg de MS los que indican mala calidad del producto (Wilkinson, 1990 y Kaiser *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que la concentración de AGV en el rumen se incrementa a una tasa mucho mayor, con dietas a base de ensilaje que con dietas en base a pastos frescos o

heno. Esto se debe a que tales ácidos son cuantitativamente más altos en el producto ensilado y además, que a mayores concentraciones de tales ácidos hay una relación negativa con el consumo voluntario (Elizalde *et al.*, 1991).

Lanuzza *et al.* (1983), estudiando diferencia de ensilaje en corte directo y premarchito obtuvo diferencias significativas con el ácido acético, butírico con bajas concentraciones para el premarchito y alto para el láctico.

En estudios del efecto de aditivos biológicos en ensilajes sobre los ácidos grasos volátiles son distintas, obteniendo de bacterias heterofermentativas mayores concentraciones del ácido acético se lo realiza con el fin de prevenir la inestabilidad aeróbica cuando se realiza la apertura del silo, debido que el acético es capaz de inhibir a las levaduras (Conaghan *et al.*, 2002; 2003; 2010 y Jalc *et al.*, 2010). Ensilajes con inoculantes de bacterias homofermentativas tienen su mayor efecto sobre otros indicadores fermentativos, bajas concentraciones del pH y nitrógeno amoniacal, y altas concentraciones de ácido láctico (Siebald *et al.*, 2000; Clavero y Razz, 2002 y Anrique, 2011).

Acido Láctico.- Según Cañeque y Sánchez (1998), considera que el ácido láctico no se lo debe tomar como verdadero criterio para determinar la calidad de conservación pero si su importancia en tomarlo como indicador de la intensidad de las fermentaciones y la riqueza inicial del alimento en azúcares solubles. Este ácido es producido casi exclusivamente por lactobacillus; típicamente en ensilajes de pradera contienen de 60 a 150 g/kg/MS (6% – 15% en base MS) (Contreras *et al.*, 2009) y Wilkinson (1990) señala con 4,5% en base a la materia seca como valores mínimos aceptables. Altos valores sugieren fermentaciones rápidas, mejor preservación de las proteínas y menor posibilidad de reducir el consumo por productos fermentativos. Cuando en el ensilado se desarrolla los fermentos butíricos, puede producirse una disminución en el contenido del ácido láctico a lo largo de la conservación.

Estudios nacionales han obtenido concentraciones de ácido láctico relativamente bajas de acuerdo a la literatura descrita, Lanuza *et al.* (1983) 2,71 vs 4,07 (% base materia seca) en ensilajes corte directo y premarchito; y Elizalde *et al.* (1991) 1,1 – 2 (% base materia seca) en ensilajes de corte directo. Trabajos actualizados en Chile con estos métodos de conservación y otros sobre el ácido láctico no se han encontrado, lo cual es importante debido que es un indicador clave de la calidad fermentativa.

2.7 INDICADORES ORGANOLEPTICOS DEL ENSILAJE

Los forrajes tradicionalmente han sido evaluados de acuerdo a parámetros tales como: color, madurez, olor, textura, observaciones en palatabilidad, entre otros. Aunque estos parámetros son importantes para determinar la calidad del forraje, puede haber algunas limitaciones respecto de la evaluación, ya que sigue siendo altamente subjetivo y difícil de estandarizar. (Schroeder 2004 citado por Fulgueira *et al.*, 2007).

Según Chaverra y Bernal (2000), los ensilajes pueden evaluarse cualitativamente mediante indicadores nombrados anteriormente, y que el patrón de fermentación del material ensilado imparte al producto final con aquellos indicadores

Chaverra y Bernal (2000) proporciona una tabla guía (tabla 2.9) para diferenciar el tipo de fermentación que se ha obtenido en ensilajes. Al igual Pamio (2010), ofrece una guía (Tabla 2.10) para lograr diferenciar la calidad del ensilaje por medio de los atributos sensoriales.

Tabla 2.9 Caracterización organoléptica: color, olor, textura en ensilajes de pradera.

INDICADOR		PATRON DE FERMENTACION	CALIDAD
COLOR	Verde aceituna o amarillo oscuro	Fermentación láctica Temperatura entre 25 y 30°C	Excelente
OLOR	A miel o azucarado de fruta madura		
TEXTURA	El forraje conserva sus contornos continuos, bien definidos. Las hojas permanecen unidas a los tallos.		
COLOR	Verde amarillento	Fermentación láctica	Buena
OLOR	Agradable, con ligero olor a vinagre		
TEXTURA	El forraje conserva sus contornos continuos, bien definidos. Las hojas permanecen unidas a los tallos.		
COLOR	Verde oscuro	Acética	Regular
OLOR	Fuerte, ácido, semejante al vinagre		
TEXTURA	Las hojas se separan fácilmente de los tallos. Las hojas tienden a ser transparentes y los vasos venosos muy amarillos.		
COLOR	Marrón oscuro, casi negro o negro	Butírica Temperaturas altas	Mala
OLOR	Desagradable, a mantequilla rancia		
TEXTURA	No se aprecia diferencia entre hojas y tallos, masa amorfa, jabonosa al tacto, húmeda y brillante		

Fuente: Chaverra y Bernal (2010)

Tabla 2.10 Características para diferenciar calidades de ensilajes de pradera.

Características	Silo bien fermentado	Ensilaje butírico	Ensilaje pútrico	Ensilaje sobre – calentado	Ensilaje excesivamente sobrecalentado	Ensilaje mohoso
Color	Verde amarillento o castaño claro verdoso	Verde oliva pardo o azulado. Amarronado	Verde oscuro a negro	Castaño	Castaño a marrón intenso	Castaño o negro con manchones blancos
Olor	Agradable (generalmente a vinagre)	Desagradable, rancio persistente	Muy ofensivo similar a estiércol	Agradable y dulce similar a caramelo o tabaco	Agradable y dulce similar a caramelo o tabaco	Mohoso añejo rancio
Textura	Firme. Tejido suave de la hoja no fácilmente separable de la fibra	Viscosa. Mucosa. Se separa fácilmente	Muy viscoso. Mucosa. Mojado. Se separa fácilmente	Bastante seco, se quiebra fácilmente	Bastante seco, se quiebra fácilmente	Casi seco, se quiebra fácilmente
Palatabilidad	Buena	Aceptable a escasa	Rechazado generalmente por la hacienda	Buena	Buena	Muy pobre, rechazado por la hacienda.

Fuente: Pamio (2010)

De todas las características organolépticas se puede exponer que el indicador más importante debe ser la palatabilidad, el cual indica la aceptación directa del producto por los animales, siguiendo el orden de importancia para olor, color y textura. Aquellos atributos son alternativas de evaluación más utilizados en el campo.

2.8 BIBLIOGRAFIA

- ANGULO J., MAHECHA L. y OLIVERA M. 2009. Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: Un nutriente valioso para la salud humana. *Rev. MVX Córdoba* 14 (3) 1856 – 1866.
- ANRIQUE R., FUSCHSLOCHER R., IRAIRA S. Y SALDAÑA R. 2008. Composición de alimentos para ganado bovino. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Remehue. Consorcio Tecnológico de la Leche (FIC – CS – C – 2004 – 1 – P – 001).
- ANRIQUE R. 2011. Momento óptimo de cosecha en relación al estado fenológico de la pradera y la calidad final del ensilaje. In: Conferencia Simposio Proyecta 23 junio. <http://simposioprojecta.cl/antiores/projecta2011.php>.
- BALOCCHI O. y ANRIQUE R. 1988. Análisis comparativo de ensilajes y henos a nivel de agricultor en la zona sur de Chile. In Puignau, J. (ed). *Conservación de forrajes*. Montevideo, Uruguay. pp: 142 – 146.
- BALOCCHI O. 1999. Recursos forrajeros utilizados en producción de leche. In: Anrique R., Latrille L., Balocchi O., Alomar D., Moreira V., Smith R., Pinochet D., Vargas G., *Competitividad de la producción lechera nacional (tomo I)*. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 29-74.
- BERNDT S. 2002. Composición nutricional y calidad de ensilajes de la zona sur. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 114 p.

- CANSECO C., ABARZUA A., PARGA J., TEUBER N., BALOCCHI O., LOPETEGUI J. DEMANET R. y ANWANDTER V., (2007). Calidad Nutritiva de las Praderas. En Manejo del Pastoreo Cap. 4, 55 – 61.
- CAÑEQUE V. y SANCHEZ J. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. 1ra. ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 259 p.
- CARDENAS J., SOLORIO F. y SANDOVAL C. 2004. Ensilajes de forrajes: Alternativas para la alimentación de rumiantes en el trópico. Vol. 5. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Merida, México. 55 p.
- CHAVERRA H. y BERNAL J. 2000. El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 1ra ed. Bogotá, Colombia. 153 p.
- CLAVERO T. y RAZZ R. 2002. Efectos de aditivos biológicos sobre la composición de ensilaje de pasto elefante enano cv. Mott y el rendimiento animal. Revista científica, FCV – LUZ / Vol. 12, N° 4, 313 – 316.
- CONAGHAN P., O'KIELY P. y O'MARA O. 2002. Fermentation and aerobic stability of perennial for high water – soluble carbohydrate concentration ensiled unwilted or wilted and with various additive treatments. Proceeding of 13th International Silage Conference, Scottish Agricultural College, Auchincruive. pp: 390 -391.
- CONAGHAN P., KIELY P., MARA F. 2003. Autumn conservation of perennial ryegrasses selected for high WSC concentration with different additives applied. Proceedings of the Agricultural Research Forum, 118 p.

- CONAGHAN P., KIELY P. AND MARAT P. 2010. Conservation characteristics of wilted perennial ryegrass silage made using biological or chemical additives. *J. Dairy Sci.* 93, 628 – 643.
- CONTRERAS F., MARSALLS A. y LAURLAULT M. 2009. Inoculantes microbiales para ensilaje: Su uso en condiciones de clima cálido. *Centros en Ciencias Agrícolas en Tucumcari, New Mexico State University. Circular 642.* 5p.
- CUEVAS E., 1987. Las praderas como recurso para conservación de forraje en la zona sur: In: Latrille, L. y Balocchi, O. (eds). *Conservación de forrajes.* Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-12. Valdivia, Chile. pp: 1-18.
- DEWHURST J. y KING J. 1998. Effects of extended wilting, shanding and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass and Forage Science*, 53, 219 – 224.
- DEWHURST J., SCOLLAN D., YOEELL J., TWEED S. y HUMPHREYS O. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science*, 56, 68-74.
- DHIMAN R., ANAND R., SATTER D. y PARIZA V. (1999). Acid content of milk from cows fed different diets. *J Dairy Sci* 82, 2146-2156.
- DYSLI R. 1974. *Curso Nacional sobre producción animal y utilización de forrajes.* Departamento de Diversificación, ANACAFE. Serie 12. Guatemala, Guatemala. 141 p.

- DUBOIS D., LABRA E., DE LA BARRA R., HOLMBERG G., SIEBALD E., FIMOT V. y VENEGAS C. 2009. Manejo sostenible de praderas. Su flora y vegetación. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura. ODEPA. 189 p.
- DUMONT J. 1988. Conservación de forrajes en la décima región de Chile. In Puignau, J. (ed). Conservación de forrajes. Montevideo, Uruguay. pp: 23 – 35.
- DUMONT J. 2006. Conservación de Forrajes. En: Manual de Producción de Leche para pequeños y medianos productores. Boletín INIA N° 148. pp: 79 – 90.
- ECHAVERRI E. (2009). Descripción de las explotaciones con ganado bovino. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias – ODEPA, Ministerio de Agricultura – Chile. 12 p.
- ELIZALDE H., GONZALES M., HARGREAVES A., DUMONT J., LANUZA F., CATRILEO A., MANSILLA A., KLEIN F. y HIRIART M. 1991. Prospección sobre la calidad de los forrajes conservados como ensilaje en la zona sur de Chile. Agricultura Técnica (Chile) 50 (1), pp: 83 – 88.
- ELIZALDE H., TEUBER N., HARGREAVES B., LANUZA F. y SCHOLZ A. 1992. Efecto del estado fenológico, al corte de una pradera de ballica perenne con trébol blanco, sobre el rendimiento de materia seca, la capacidad fermentativa y la calidad del ensilaje. Agricultura Técnica (Chile) 52 (1), 38 – 47.
- ELIZALDE H., HARGREAVES A. y WERNLI C. 1996. Conservación de forraje. En: Ruiz, I. (ed.) Pradera para Chile. 2da. Ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. pp: 395 – 428.

- 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 silage. J. Dairy Sci. 86, 3575 – 3781.
- FLORES G. 2004. Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Dr. Agr. Madrid. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Dpto de Producción Animal. pp: 30 – 34.
- FLORES P. 2010. Incorporación de bellota (*Quercus robur*) en la alimentación de Jabalí (*Sus scrofa scrofa*) DE CRIADERO Y SU EFECTO SOBRE LOS ÁCIDOS GRASOS Y CARACTERISTICAS DE LA CARNE. Tesis Msc. Ciencias Veterinarias, Mención Higiene y Tecnología de los alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. 54 p.
- FRENCH P., STANTON C., LAWLESS F., O'RIODAN G., MONAHAN J., CAFFREY J., y MOLONEY P. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. J Anim Sci 78, 2849 - 2855.
- FULGUEIRA C., AMIGOT S., GAGGIOTTI M., ROMERO L. y BASILICO J., 2007. Forage quality: Technique for testing. Global Science Books. Fresh Produce 1 (2), 121 – 131.
- GARCIA J. y DIAZ I. 2005. Nuevas tendencias en el análisis de ácidos grasos. IRTA. Centro de Tecnología de la Carne y Eurocarne, N° 147. 1- 6 p.
- GOMEZ J. 2009. Efecto de la fertilización sobre la composición botánica y producción de tres tipos de praderas en la Provincia Húmeda de verano Fresco o Valdiviano al cuarto

- año de establecimiento. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 60 p.
- GONZALEZ M. 1992. Métodos para mejorar la calidad de los ensilajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigaciones Remehue. Serie Remehue N° 52. 23 p.
- GONZALEZ M. 2000. Conservación de forrajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación La Platina . Serie Remehue 5. 17 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS. 2007. Cambios estructurales en la agricultura Chilena. Análisis intercensal 1976-1997-2007. pp: 41 – 44.
- JALC D., LAUKOVA A., VARADYOVA Z., HOMOLKA P. y KOUKOLOVA V. 2009. Effect of inoculated grass silages on rumen fermentation and lipid metabolism in an artificial rumen (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology* 151, 55 – 64.
- JALC D., LAUKOVA A. y KISIDAYOVA S. 2010. Effect of inoculants on fermentation parameters and chemical composition of grass and corn silages. *Slovak J. Anim. Sci.*, 43, 141 – 146.
- JAURENA G., LIVRAGHI E., ALVAREZ D., CECCALDI E. y MOLINA R. 2010. Ensiling natural meadow forage in <Tierra del Fuego>, Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2010 8 (3), 722-728.
- JHAIR M., MEDINA J. y QUINTEROS H. 2008. Diseño de máquina para empaque de forraje de maíz para ensilaje: Dosificado y compactado. Universidad Tecnológica de Pereira *Scientia et Technica*. N° 40. ISSN 0122 - 1701.

- KAISER A., PILTZ J., BURNS H. y GRIFFITHS N. 2004. Successful silage. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries. pp: 331 - 419.
- KLEIN F. 1991. Utilización de ensilajes para vacas lecheras. Suplementación de raciones base ensilaje para producción de leche. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N° 52. 13 p.
- KUNG L. y MICHELLE D. 2010. Effect of time of storage on changes in nutrient composition and value of silages. <http://www.das.psu.edu/research-extension/dairy/nutrition/pdf/kung-storage-effects-silage-composition-2010.pdf>.
- LANUZA F., DUMONT J., NAVARRO H. 1983. Comparación de ensilaje de pradera permanente convencional y premarchito para alimentación de vacas lecheras. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N°62. 5 p.
- McDONALD P., HENDERSON A., HERON S. 1991. The biochemistry of silage. 2da ed. Chalcombe Publications. Marlow, United Kingdom. pp: 184 – 185.
- MELO R. 2005. Concentración de ácido linoleico conjugado (CLA) en grasa láctea en función del consumo de ensilaje de pradera. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 103 p.
- MINSON, D.J. 1981. Forage in Ruminant Nutrition. Ed. 2da. Academic Press, San Diego, USA, 483 p.
- MORALES R., FOLCH C., DELGADO N. y FLORES P. 2010. Atributos de la carne bovina generada en sistemas pastoriles de la zona sur de Chile. Instituto de

- Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N° 92. 20 p.
- MORRISON I. 1979. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effects of various additives on these changes. *J. Agri. Sci. Technol.* 38, 11 – 24.
- NAVARRO H., 1990. Aspectos económicos del mejoramiento de praderas permanentes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N° 31. 19 p.
- PALOMINO S., BLANCO E. y ROBAYO D. 2004. Manuel de la granja autosuficiente. Ed. 1. IBALPE. Bogotá – Colombia. 304 p.
- PAMIO J. 2010. Fundamentos de producción ganadera. 1ra. ed. Orientación gráfica. Buenos Aires, Argentina. 321 p.
- PICHARD G. y CUSSEN R., 1995. Evaluación de las pérdidas en el proceso de ensilaje y manejo de efluentes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N° 52. 20 p.
- RIVEROS E. 1993. Reservas de forraje para predios lecheros. *El campesino (Chile)*. 124 (11), pp: 46-57.
- SANCHEZ L., MEJIA S., JIMENEZ F., y JARAMILLO J. 2002. Conservación de forrajes en sistemas de producción bovina del trópico bajo. En: Alternativas tecnológicas para la producción competitiva de leche y carne en el trópico bajo. Plan de modernización de la ganadería bovina Colombiana. CORPOICA, MADR, FEDEGAN, Fondo Nacional del ganado. pp: 19 - 20.
- SIEBALD E., GOIC L. y MATZNER M. 2000-. Aditivos biológicos en el ensilaje de praderas. En: *Tierra Adentro* N° 5. pp: 42 – 45.

- SIEBALD E. 2001. Mejoramiento de praderas y conservación de forrajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Actas N° 13. 6 p.
- TEUBER N. y BALOCCHI O. 2003. Recursos forrajeros en producción de leche. I. Balance alimenticio con los recursos del sur 3- 11 p. Seminario Hagamos de la lechería un mejor negocio. Osorno, Chile 2 de septiembre del 2003. Instituto de Investigaciones Agropecuaria de Chile. Serie Acta INIA – N° 24 pp: 13 – 19.
- TORRES A. 1994. Praderas destinadas a ensilaje. In: González, M y Bortolameolli, G. (eds.) II Seminario “Producción y utilización de ensilajes de pradera para agricultores de la zona sur”. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Remehue n° 52. pp: 119 – 143.
- UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE (UACH), 1985. Composición de los alimentos para el ganado en la Zona Sur, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal, Valdivia, Chile. 45 p.
- VALLEJO M. 1995. Efecto del premarchitado y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropical. Tesis Mg. Sc. Universidad de Costa Rica pp: 12.
- WILKINSON M. 1990. Silage UK. 6ta. ed. Marlow, United Kingdom. pp: 29 – 31.
- YAHARA M., KIMURA J., HARAI H., NGUYEN M., KAWAI J., TAKAHASHI J., MATSUOKA S. 2001. Effect of length of ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of Lucerne and orchardgrass. Anim. Feed Sci. Technol. 92, 141 – 148.

3. INFLUENCIA DEL METODO DE CONSERVACIÓN Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LOS INDICADORES DE CALIDAD NUTRICIONAL EN ENSILAJE DE PRADERA

RESUMEN

El ensilaje es la forma más común de conservación de forrajes de excedentes de primavera de las praderas del sur de Chile. Sin embargo, poca información existe disponible donde se evalué en forma conjunta el efecto de factores como el método de conservación y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad del ensilaje de pradera. El objetivo del trabajo fue evaluar la influencia del método de conservación, el tiempo de almacenamiento y sus posibles interacciones sobre los indicadores bromatológicos y fermentativos de praderas en silos de laboratorio. Para ello, se estudiaron 3 métodos de conservación: corte directo (CD), corte directo más aditivo (CDA) y premarchito (PM); y 3 tiempos de almacenamiento: 240 días, 270 días y 300 días; en dos tipos de praderas: sembrada monofítica y mejorada polifítica. El método de conservación PM presentó una mejor calidad bromatológica en las 2 praderas aportando mayor contenido de materia seca, digestibilidad *in vitro* y energía metabolizable, no obstante, su calidad fermentativa fue inferior al método de conservación de CDA. El método de CDA presentó concentraciones bajas de AGV, N-NH₃ y alta relación de Láctico:Acético, para los 2 tipos de praderas. El método de PM presentó una mejor calidad bromatológica, mientras que el método de CDA presentó superior calidad fermentativa en los dos tipos de praderas ensiladas. En relación al tiempo de almacenamiento, se observaron cambios en algunos componentes lo cual indica la continuación de procesos bioquímicos a baja escala; sin embargo el presente estudio se llevo a cabo en silos de laboratorio lo cual nos da una aproximación de lo que puede suceder a grandes proporciones que se dan el campo.

Palabras claves: Pradera; Ensilaje; Premarchito; Aditivo; Ácidos grasos volátiles; Láctico,

3.1 INTRODUCCION

La pradera es el recurso más utilizado en los sistemas de producción bovina en el sur de Chile. En este sentido, según las cifras entregadas por el último censo nacional agropecuario del 2007, las regiones de Los Lagos y Los Ríos aportan, aproximadamente 70% de la leche y 50% de la carne producida en el país en sistemas asociados a pastoreo (INE, 2007). No obstante, el crecimiento de praderas en estas regiones es fuertemente estacional, concentrándose entre 40% a 50% de la producción anual de forraje en los meses de primavera y apenas un 10% o menos en la época invernal (Parga y Lanuza, 2006). Por tanto, la conservación de forrajes es muy importante para suplir los requerimientos de los animales durante los periodos críticos, en que existe baja disponibilidad del producto (Dysli, 1974; Balocchi, 1999; Palomino *et al.*, 2004 y Fulgueira *et al.*, 2007).

El ensilaje y el heno son las formas más comunes de conservación de forrajes de excedentes de primavera (Dysli, 1974; Riveros, 1993; y Fulgueira *et al.*, 2007). Sin embargo, para las regiones del sur de Chile, el ensilaje es de superior calidad nutritiva en comparación al heno, puesto que éste se cosecha más temprano y se obtiene mejor valor nutricional (Dumont, 1988).

El ensilaje es el producto obtenido de un proceso fermentativo y su calidad está influenciada por distintos factores, e.g., especie forrajera, calidad bromatológica de la pradera, tiempo de rezago, método de conservación del ensilaje, compactación del silo, características del silo, modo de utilización del ensilaje una vez abierto, entre otros (Cañeque y Sánchez, 1998; Flores, 2004 y Frey *et al.*, 2004). Es decir, el ensilaje es un producto complejo donde muchos factores y las interacciones de estos afectan la calidad. En este sentido, la utilización de silos de laboratorio permiten estudiar algunas de estas

variables en forma conjunta, además los minisilos son de menor tamaño, prácticos, económicos, fáciles de confeccionar y posibilitan la disponibilidad de un gran número de repeticiones. Asimismo, con su uso se pueden hacer ensayos preliminares para su posterior validación en silos de campo (Ruiz *et al.*, 1990 y Cherney *et al.*, 2004).

En relación a la especie forrajera para ensilar, debe poseer un nivel alto de carbohidratos solubles, baja capacidad tampón, materia seca de al menos 20% y una estructura física que le permita buena compactación en el silo (Balocchi y Anrique, 1988 y Torres., 1994). Torres (1994) menciona que praderas sembradas como la ballica bianual de rotación con trébol rosado entregan un ensilaje de alta calidad nutritiva frente a ensilajes con otro tipo de praderas. Por otra parte Siebald (2001), indica que praderas naturalizadas mejoradas entregan un buen balance de nutrientes, menor incidencia de plagas y mayor resistencia a condiciones adversas al clima, asimismo señala que en ensilajes con este tipo de praderas, es posible obtener alta respuesta en volumen y calidad con un buen manejo y cosecha oportuna, no encontrando diferencias entre el ensilaje de pradera naturalizada y sembrada.

Respecto a los métodos de conservación, con el premarchitamiento, se aumenta la materia seca, se incrementa el consumo y la ganancia de peso vivo en el ganado bovino (Ojeda *et al.*, 1993 y González, 1992). Lanuza *et al.* (1983) y Elizalde *et al.* (2005) reportan incremento en el consumo, no observando un aumento en la producción de leche y una mayor ganancia de peso. Por otro lado, Anrique *et al.* (2008) reporta que un ensilaje premarchito es más equilibrado en proteína y energía, mientras que un ensilaje de corte directo presenta mayor humedad, produciéndose una fermentación más larga y obteniendo un recurso muy fibroso y más desequilibrado. Por otra parte, el premarchitamiento presenta la ventaja de producir menos efluentes y lograr menores pérdidas de nutrientes lo cual es beneficioso para la obtención de ensilajes de buena calidad nutritiva (Dumont, 1988 y Pichard y Cussen, 1995). Los aditivos mejoran la calidad fermentativa, logrando reducir pérdidas de nutrientes y logrando mejorar la estabilidad del ensilaje. En la actualidad se

usan inoculantes para mejorar la producción e incluso en ensilajes mal preservados sin aditivos (Kaiser *et al.*, 2004). Wendeell y Henderson (1990) y Kaiser *et al.* (1998) reportan que el ensilaje con aditivo (inoculantes biológicos) mejoró la calidad fermentativa, y a nivel productivo presentó un mayor consumo, mayor digestibilidad, altas ganancias de peso vivo e incrementos en la producción láctea en comparación con ensilajes de corte directo sin tratamiento. González (1992) solo observó pH bajos ($< 4,0$) en ensilajes con aditivos (inoculantes), concluyendo que no justifica su uso si la pradera y las condiciones climáticas son las adecuadas.

Desde el momento del corte de la pradera se describen fases muy bien marcadas y descritas a la obtención del ensilaje como tal, las cuales son: Fase aerobia, fase anaerobia, fase estable y fase de vaciado. (Sánchez, 2002; Kaiser *et al.*, 2004). Se han realizado muchos estudios en cada una de las fases mencionadas, a excepción de la fase de estabilidad puesto que se asume que en esta fase cesan todos procesos fermentativos. Sin embargo, algunos autores han descrito alteraciones de la calidad nutritiva de los ensilajes durante el tiempo de almacenamiento. Jaurena *et al.* (2010) en ensilajes de praderas reporta un incremento de cenizas totales (CT) y Lignina, disminución en la proteína cruda (PC) y Energía Metabolizable (EM) e incrementos en el ácido acético y nitrógeno amoniacal. Filya (2003) en estudios de ensilajes de maíz reporto incremento de N-NH₃ a los 361 días, por otra parte Morrison (1979) y Yahara *et al.* (2001) encontraron en ensilajes de pradera decrecimiento de la hemicelulosa con disminución de los carbohidratos solubles a los 150 días de almacenamiento.

En Chile poca información existe disponible donde se estudie en forma conjunta el efecto de los factores antes mencionados sobre la calidad nutritiva del ensilaje de pradera. En este sentido, se planteó evaluar en dos tipos de pradera (Sembrada y Mejorada) a similar tiempo de rezago, el efecto de tres métodos de conservación comúnmente utilizados en el país y distintos tiempos de almacenamiento, y sus posibles interacciones sobre los indicadores bromatológicos y fermentativos en silos de laboratorio.

3.2 MATERIALES Y METODOS

3.2.1 Condiciones de campo

El estudio se realizó en el Centro Regional de Investigación Remehue, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), situado en el km 8 de la ciudad de Osorno, región de Los Lagos, Chile, con coordenadas de 40° 52' S, 73° 04' O, con una altitud de 65 msnm, que corresponde a un clima templado lluvioso con una temperatura anual promedio de 8 a 10°C y precipitación de 1300 a 1800 mm.

Se utilizaron dos tipos de praderas: Sembrada monofítica y Mejorada polifítica; las cuales fueron fertilizadas en el otoño y primavera del 2009 (67,5 kg de N ha⁻¹, 57 kg de P₂O₅ por ha⁻¹, 60 kg de K₂O ha⁻¹, 14 kg de S por ha⁻¹) y al inicio del periodo de rezago con 45 kg de N ha⁻¹. La determinación de la composición botánica se realizó al azar y de forma manual, separando cada especie que conformaba la muestra, para luego secarlas y determinar el porcentaje de cada especie en base a materia seca del total de la muestra. Por tanto la pradera Mejorada, fue una pradera permanente y estuvo compuesta por: *Lolium perenne* (55,16%), seguido de *Poa pratensis* (27,13%), *Bromo valdivianus* (11,76%), *Leontodon nudicaulis* (3%), *Ranunculus repens* (2%), *Trifolium repens* (1%) y *Plantago lanceolata* (0,14%). La pradera Sembrada, la cual es una pradera de rotación corta con un periodo de 2 años al momento de la cosecha, esta pradera consistió de *Lolium hybridum*, de los cultivares Maverick 60% y Belinda 40% (Nutrapack Activa plus), ambos cultivares de floración intermedia. Las praderas se cosecharon en diciembre 2 del 2009 con 39 días de rezago. El estado fenológico de la pradera al momento de la cosecha de acuerdo a Zadoks *et al.* (1974) fue, estado 1 (Bota) para la pradera mejorada y en estado 2 (Inicio de espiga) para la pradera sembrada. Se obtuvieron muestras de praderas para el análisis químico que se realizó en el laboratorio de nutrición animal y medio ambiente de INIA Remehue (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Composición química (base materia seca) del material a ensilar.

	Corte directo		Premarchito	
	PSM	PMP	PSM	PMP
Materia seca, (%)	16,03 ± 0,23	14,03 ± 0,57	25,10 ± 1,47	19,57 ± 0,23
Proteína cruda, (%)	16,57 ± 0,90	20,43 ± 0,57	16,46 ± 0,95	19,07 ± 0,50
Digestibilidad <i>in vitro</i>, (%)	80,10 ± 1,25	82,53 ± 0,90	78,88 ± 1,11	82,33 ± 0,67
Energía metabolizable, (Mcal/kg)	2,61 ± 0,02	2,66 ± 0,04	2,60 ± 0,03	2,65 ± 0,03
Fibra detergente neutra, (%)	49,00 ± 0,98	48,33 ± 1,16	50,40 ± 0,92	49,10 ± 1,25
Cenizas totales, (%)	10,30 ± 0,36	9,30 ± 0,26	8,97 ± 0,32	9,93 ± 0,06
Carbohidratos solubles, (%)	14,60 ± 0,79	10,30 ± 0,36	14,13 ± 0,58	11,00 ± 0,44

PSM: Pradera sembrada monofítica

PMP: Pradera mejorada polifítica

3.2.2 Elaboración de los minisilos

El proceso de elaboración de los minisilos comenzó con el corte de la pradera el cual se realizó por medio de una segadora (Gravely); posteriormente, el material cortado se llevó al laboratorio de campo donde se procedió al picado de forma manual con tijera, con una longitud de 3 a 6 cm, tomando 2000 g del material a ensilar en bolsas de polietileno transparentes de 38 x 28 cm (Permeabilidad al oxígeno 50 cm³ mq⁻¹ – 24 h-bar), adicionando un papel absorbente en el interior de la bolsa. El vacío y sellado del minisilo se logró con una envasadora doméstica (Food Saber, Oster®, USA). Posteriormente los minisilos se guardaron a temperatura ambiente y protegidos de la intemperie y luminosidad.

Se definieron 3 métodos de conservación: Corte directo (CD), corte directo más aditivo (CDA) y premarchito (PM). En el CD el material fue picado y envasado inmediatamente al vacío. El CDA fue similar al corte directo, sólo se agregó un inoculante multipropósito microbiano para ensilaje (BIOMAX MP®, Bayer®, USA, 2006)

a base de bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentasaceus*. Se aplicaron 0,2 g del producto diluidos en 7,57 ml de agua no clorada con atomizador manual en cada minisilo, de acuerdo a las condiciones descritas por el fabricante (100 g en 3,79 L de agua no clorada para 1 ton). El PM luego del corte fue expuesto en el campo por un periodo de 24 h, posteriormente se realizó el picado y envasado. Las condiciones climáticas en la cosecha de la pradera para los ensilajes de CD, CDA y PM fueron (Tabla 3.2):

Tabla 3.2 Condiciones climáticas de fabricación de los minisilos

	DIA 1 CD - CDA	DIA 2 PM
Temperatura superficie suelo °C min - max	0,2 - 18,8	1,9 - 22,8
Temperatura atmosférica °C min - max	4,0 - 13,6	4,6 - 19,1
Precipitación	< 0,1	< 0,1
Evaporación	2,5	4,4

Mín: mínima **Max:** máxima

Se tomaron muestras de las praderas, del material fresco y premarchito para determinar la composición química del producto sin fermentar (Tabla 3.1). También se definieron 3 tiempos de apertura por cada tratamiento, siendo de 240, 270 y 300 días. Cada tratamiento se realizó en triplicado obteniendo un total de 54 minisilos para este estudio.

3.2.3 Determinación de indicadores bromatológicos

Al momento de la apertura de los minisilos, el material se homogenizó y se tomaron 200 g para los análisis correspondientes. Los componentes nutricionales determinados químicamente fueron tomados como indicadores bromatológicos para la evaluación de calidad nutricional del ensilaje. La determinación de la materia seca (MS) de los ensilajes se efectuó en un horno de ventilación forzada a 60°C por 24 horas y en estufa a 105°C por 12 horas (Harris, 1970). La fibra detergente neutra (FDN) se determinó de acuerdo al procedimiento de Van Soest (1991) y AOAC (1996). El contenido de proteína

cruda (PC), fue calculado como el contenido de nitrógeno, N x 6.25, se determinó por el método Kjeldahl, adicionando K₂SO₄ (93%) y Cu₂SO₄ (7%) como catalizador (Bateman, 1970). La digestibilidad *in vitro* (DIV) se determinó por la metodología de Tilley y Terry (1963). La energía metabolizable (EM) se estimó por regresión a partir del valor D (materia orgánica digestible/MS x 100) por la relación $EM = 0,0325 D\% + 0,279$ (Garrido y Mann, 1981). Los Carbohidratos Solubles (CHOS) fueron determinados por el método espectrofotometría (MAFF, 1986). Y las Cenizas Totales (CT) se obtuvieron mediante calcinación en mufla a 550 – 600°C por 5 horas (Bateman, 1970; AOAC, 1996).

3.2.4 Determinación de indicadores fermentativos

Al momento de la apertura de los minisilos, el material se homogenizó y se tomaron 200 g para los análisis correspondientes. Los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico e isobutírico), pH, nitrógeno amoniacal, ácido láctico fueron determinados químicamente y tomados como indicadores fermentativos para la evaluación de calidad fermentativa del ensilaje.

3.2.4.1 Nitrógeno amoniacal (N-NH₃) pH y ácidos grasos volátiles (AGV)

El contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y el pH se determinaron en material fresco según MAFF (1986).

La obtención de la muestra del jugo de ensilaje fue lograda tomando 100 g del material fermentado previamente triturado y adicionando 150 ml de agua destilada. La muestra se maceró a temperatura ambiente por una hora, posteriormente se filtró y se estrujó manualmente en 2 láminas de estopilla, adaptado a metodología de Madrid *et al.* (1999). El extracto fue centrifugado a 3000 rpm, por 15 min a 4°C, según el método de Wilson (1971). En un tubo de ensayo se colocó una alícuota de 5 ml del sobrenadante y se adicionó 1 ml de ácido fórmico (PA 98 - 100%). Posteriormente se filtraron 2 ml de la solución en filtros de jeringas (filtro millex de 0,45 µm de tamaños de poro). Luego se

inyectó 1 μL del filtrado en un Cromatógrafo de gases Perkin Elmer modelo Clarus 600, con detector FID. Usando como gas portador Helio y una columna de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm (DB-FFAP Agilent).

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: la temperatura del horno se mantuvo por 7 min a 185°C, posteriormente aumentando a 210°C, con una velocidad de 12,5 ml min⁻¹, con un tiempo total de análisis de 10 min. La temperatura de inyección fue de 180°C. El flujo de la columna fue de 0,5 ml min⁻¹, con un Split de 50 ml min⁻¹. La temperatura del detector fue de 250°C, con un flujo del H₂ y Aire de 45 y 450 ml min⁻¹, respectivamente. Como estándar externo se utilizó una mezcla de ácidos volátiles (Supelco Catálogo 46975-U EEUU). Los resultados fueron expresados en porcentajes en base a materia seca.

3.2.4.2 Ácido láctico

Se tomaron 2 ml del extracto obtenido por la metodología de Madrid *et al.* (1999), y fue centrifugado a 12000 rpm, por 15 min a 4°C. Se filtró 1 ml del sobrenadante (filtro millex de 0,45 μm de tamaño de poro), se le agregó 5 ml de agua destilada y 0,5 ml de FeCl₃ al 1% (solución recién preparada). La mezcla se dejó reposar por 15 min, de acuerdo a la metodología de Harper y Randolph (1960). Las muestras fueron leídas a 470 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro UV/VIS, marca JASCO modelo V-530.

3.2.5 Diseño estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por medio del programa estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El análisis se realizó de forma separada para cada tipo de pradera, la distribución de los tratamientos fueron completamente al azar, con un arreglo factorial de los tratamientos (tres métodos de conservación x tres tiempos de almacenamiento) con sus posibles interacciones, obteniendo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk} .$$

Y_{ijk} = La observación de respuestas de las variables. Las variables a evaluar son los indicadores bromatológicos y los indicadores fermentativos, de los 3 métodos de conservación, y los 3 tiempos de almacenamiento para ensilaje de pradera; μ = El efecto medio global; α_i = Efecto del i -ésimo nivel de los métodos de conservación (Factor A); β_j = Efecto del j -ésimo de los tiempo de almacenamiento (Factor B); $(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre α_i y β_j (Interacción entre Factor A y Factor B); ϵ_{ijk} = Componente del error experimental. Previo a esto se comprobó la normalidad y homocedasticidad de los datos con la prueba de Shapiro & Wills y Cochran respectivamente. Además se realizó un Análisis de Componentes Principales por el programa XLSTAT 2011.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSION

De manera visual, todos los minisilos presentaron buena compactación, sin presencia de aire, ni hongos, con un color verde oscuro en todas las bolsas y buen sellado en el momento de su apertura. El olor para el método de corte directo (CD) y el método de corte directo más aditivo (CDA) fue más fuerte y ligeramente con olor a vinagre, mientras que el método de premarchitamiento (PM) presentó un olor dulce. Sin embargo, el absorbente (toalla nova) que se puso con la finalidad de sorber los efluentes producidos por la fermentación del producto no fue suficiente, ya que se encontró mucho líquido; lo cual es un aspecto a mejorar en este tipo de silos de laboratorio. La utilización de absorbentes universales, los cuales poseen amplia capacidad de absorción, sin daños en los componentes en el producto pueden ser una recomendación opcional para mejorar el aspecto de los efluentes y así obtener una mejor aproximación de la realidad.

3.3.1 Calidad bromatológica del ensilaje

Ambas praderas ensiladas entregaron excelentes condiciones en Energía Metabolizable (EM), Fibra Detergente Neutra (FDN) y Proteína Cruda (PC) (Tabla 3.3),

estos resultados fueron similares a la composición nutritiva de ensilajes de pradera para el ganado bovino en los cuales el rango (% base MS) para PC (15,81 – 20,17), (16,31 - 17,89); FDN (44,83 - 61,55), (50,41 - 56,79); y EM (2,27 – 2,69), (2,38 – 2,62) en ensilajes de praderas permanentes y bianuales respectivamente (Anrique *et al.*, 2008). Al respecto, se observó tendencia de mejor concentración en PC, Digestibilidad *in vitro* (DIV), EM, Cenizas Totales (CT) y FDN en la pradera mejorada ensilada, estos resultados fue debido al estado fenológico más temprano en que fue cosechada. Sin embargo, el ensilaje de pradera sembrada mostró tendencia a una mayor concentración de MS y CHOS residuales (Tabla 3.3); tales observaciones es por el mayor estado fenológico para la pradera sembrada obteniéndose mayor MS y además que el material a ensilar de la pradera sembrada entrego mayor concentración de CHOS que la pradera mejorada, por tanto el producto ensilado obtuvo CHOS residuales de 1,59% y 0,9% para pradera sembrada y mejorada de manera respectiva.

Tabla 3.3 Composición química (base materia seca) en indicadores bromatológicos del ensilaje por tipo de pradera.

Variables	Pradera ensilada	
	PSM	PMP
Materia seca (%)	17,74	15,95
Proteína cruda (%)	16,37	18,67
Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	76,95	80,91
Energía metabolizable (Mcal/kg)	2,55	2,63
Fibra detergente neutra (%)	46,62	44,22
Cenizas totales (%)	9,20	10,04
Carbohidratos solubles residuales (%)	1,59	0,90

PSM: pradera sembrada monofítica.

PMP: pradera mejorada polifítica.

En las tablas 3.4 y 3.5, se presentan los resultados de la calidad bromatológica por método de conservación y tiempo de almacenamiento de la pradera sembrada y mejorada. Se observó interacción de Método x Tiempo (M x T) para PC ($p < 0,05$) en ambas praderas.

Los resultados obtenidos de PC, EM y FDN estuvieron dentro del rango en ensilajes de corte directo (CD) y premarchito (PM) que han sido estudiados en el sur de Chile (Berndt, 2002). Sin embargo, la MS fue inferior a las concentraciones de ensilajes de CD (19% – 30%) y PM (24% – 37%) en el sur de Chile (Berndt, 2002), esto se debió primero por el estado fenológico en que fueron cosechadas las praderas y se observó en el material fresco mayor concentración de MS en comparación con el material ensilado de CD y PM. Por otra parte, de los tres métodos de conservación, el PM presentó mejor calidad bromatológica para las praderas evaluadas (Tabla 3.4 y 3.5). El método PM presentó mayor MS, ($p < 0,001$) lo cual era de esperarse ya que el objetivo del PM es incrementar el contenido MS, el método PM también presentó mayor DIV ($p < 0,05$) y EM ($p < 0,01$) en ambas praderas (Tabla 3.4 y 3.5). Estos resultados bromatológicos son similares a los encontrados en ensilajes premarchitos del sur de Chile; en los cuales al presentar mayor concentración de MS se han obtenidos mejores concentraciones en sus demás componentes (PC, EM) obteniendo consumos superiores que ensilajes de corte directo (Anrique, 1987; Sánchez, y Berndt, 2002). La pradera sembrada con el método PM presentó menor concentración de cenizas totales (CT) ($p < 0,001$) lo que puede indicar menos daño hacia la pared celular, en el estudio de Jaurena *et al.* (2010) obtuvo una relación positiva del incremento de CT, lignina detergente ácida (LDA) y FDA con bajas porcentajes de FDN; indicando mayores pérdidas de materia seca, y la existencia de mayor daño hacia la pared celular con inferior hemicelulosa. La concentración para CHOS residuales fueron mínimas a pesar de poseer concentraciones altas de 10 a 14% en el material fresco, indicando que han sido tomados como sustratos para el proceso fermentativo en los tres métodos de conservación. En este mismo sentido, la pradera mejorada con el método PM presentó

menor concentración de CHOS ($p < 0,01$) y con mayor concentración de CHOS se obtuvo con el método de CDA. (Tabla 3.4 y 3.5).

Tabla 3.4 Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes bromatológicos (base materia seca) en ensilaje de pradera sembrada.

Variables	Métodos			Tiempos			RMSE	Interacción MxT
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Materia seca (%)	15,76 b	15,59 b	21,87 a	17,13 a	18,24 a	17,84 a	1,44	NS
Proteína cruda (%)	16,27 a	16,93 a	15,92 a	16,63 a	15,80 a	16,69 a	0,79	*
Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	76,44 b	76,26 b	78,14 a	78,37 a	75,73 b	76,74 b	1,61	NS
Energía metabolizable (Mcal/kg)	2,52 b	2,52 b	2,60 a	2,58 a	2,51 a	2,55 a	0,05	NS
Fibra detergente neutro (%)	45,32 a	48,09 a	46,44 a	46,47 a	46,70 a	46,69 a	2,15	NS
Cenizas totales (%)	9,44 a	9,57 a	8,61 b	9,13 a	9,10 a	9,39 a	0,42	NS
Carbohidratos solubles residuales (%)	2,00 a	1,20 a	1,57 a	1,30 a	2,03 a	1,43 a	1,10	NS

Métodos: CD Corte directo, CDA Corte directo más aditivo y PM Premarchito. **d** días. Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **RSME** Raíz media de los errores cuadrados. **MxT** Método por tiempo. * (p<0,05) Nivel de significancia. NS no significativo

Tabla 3.5 Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes bromatológicos (base materia seca) en ensilaje de pradera mejorada.

Variables	Método			Tiempo			RMSE	Interacción MxT
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Materia seca (%)	14,16 b	14,23 b	19,45 a	16,06 a	15,99 a	15,80 a	1,80	NS
Proteína cruda (%)	18,67 a	18,21 a	18,98 a	18,38 a	18,53 a	18,94 a	0,76	*
Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	80,37 b	80,78 b	81,59 a	81,72 a	80,30 b	80,71 b	0,95	NS
Energía metabolizable (Mcal kg/MS)	2,61 c	2,63 b	2,65 a	2,66 a	2,61 a	2,63 a	0,34	NS
Fibra detergente neutra (%)	44,49 a	44,02 a	44,16 a	44,74 a	43,96 a	43,97 a	1,27	NS
Cenizas totales (%)	10,01 a	9,91 a	10,20 a	9,81 a	10,10 b	10,21 c	0,31	NS
Carbohidratos solubles residuales (%)	0,99 b	1,08 a	0,64 c	0,89 a	0,85 a	0,97 a	0,17	NS

Métodos: **CD** Corte directo, **CDA** Corte directo más aditivo y **PM** Premarchito. **d** días. Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **RSME** Raíz media de los errores cuadrados. **MxT** Método por tiempo. * (p<0,05) Nivel de significancia. **NS** no significativo.

En cuanto a los cambios en el tiempo en los indicadores bromatológicos (Tabla 3.4 y 3.5) sólo se observó disminución de la DIV ($p < 0,05$) en ambas praderas. La pradera mejorada en el tiempo presentó incremento de CT ($p < 0,05$). Jaurena *et al.* (2010) reporta un aumento significativo de las CT y PC y una disminución de la EM. Coincidentemente, en el presente estudio se observó un aumento significativo de CT para la pradera mejorada. El aumento significativo de CT podría ser debido a una desestructuración de la pared celular como se lo indico anteriormente, lo cual puede ser provocado por los procesos fermentativos que ocurren a baja escala (Jaurena *et al.*, 2010).

3.3.2 Calidad fermentativa del ensilaje

En la tabla 3.6 se observan los resultados de la calidad fermentativa por tipo de pradera ensilada. Se observó tendencias a tener mayores concentraciones del ácido acético, isobutírico y N-NH₃, pH y propiónico para la pradera mejorada siendo superior a la pradera sembrada. Los ácidos grasos volátiles reportados para ensilaje de pradera, en base a MS son: para el acético < 2 – 3%, butírico < 1%, el isobutírico < 0,1% y el propiónico < 0,1 – 2%. El ácido láctico de 6 – 15% en base a MS, la relación de ácido láctico:acético 3:1 entre más alto sea el láctico mejor será la calidad fermentativa del ensilaje. El N-NH₃ el óptimo menor al 5% y lo aceptable hasta 10% (Wilkinson, 1990; Kaiser *et al.*, 2004 y Contreras *et al.*, 2009). Los resultados del presente estudio se mostraron dentro del rango de la literatura descrita para las dos tipos praderas evaluadas.

Tabla 3.6 Composición química (base materia seca) en indicadores fermentativos del ensilaje por tipo de pradera.

Variables	Pradera ensilada	
	Sembrada	Mejorada
Acético (%)	1,12	1,27
Propiónico (%)	0,08	0,14
Isobutírico (%)	0,02	0,09
Butírico (%)	ND	ND
pH	3,84	3,89
N-NH₃ (% N total)	6,94	8,33
AGV totales (%)	1,22	1,49
Láctico (%)	8,43	8,94
Láctico : Acético (%)	8:1	7:1

N-NH₃: Nitrógeno amoniacal.

ND no detectado.

En relación con los métodos evaluados, el ácido acético, isobutírico y N-NH₃ fue mayor con el método PM, además se observó una menor relación láctico : acético mientras que el método de CDA presentó menores valores de acético, isobutírico, N-NH₃ ($p < 0,001$) y mayor relación del láctico : acético ($p < 0,001$), este resultado fue observado en ambas praderas (Tabla 3.7 y 3.8); y el ácido propiónico fue mayor con método PM ($p < 0,001$) solo en la pradera mejorada. Similares resultados obtuvieron Driehuis *et al.* (2001), Jaurena *et al.* (2009) y Jalc *et al.* (2010) quienes observaron en diferentes ensilajes con aditivos biológicos, bajas concentraciones de acético, N-NH₃ y la no presencia de isobutírico, ni butírico. Las mayores concentraciones de ácido propiónico ($p < 0,001$) se observan en PM y CDA, mientras que CD muestra valores inferiores (Tabla 3.8) en la pradera mejorada. El ácido láctico presentó alta concentración para los tres métodos evaluados en las dos praderas ensiladas, puesto que el mínimo descrito en la literatura para un ensilaje de buena calidad

fermentativa es de 4% base materia seca. La relación de láctico: acético para CDA se observaron los valores más altos para las dos praderas (Tablas 3.7 y 3.8) mientras que el PM se encontraron los valores más bajos (4:1 y 3:1), el CD se observaron valores intermedios.

En el presente estudio sólo se encontró ácido isobutírico en PM en ambas praderas y el ácido butírico no fue detectado en ningún método de conservación, similares resultados son descritos por Pieretti (2009), quien encontró ácido isobutírico en métodos de CD y PM. El ácido butírico como el isobutírico son una indicación de pobre fermentación del ensilaje; por otra parte, las concentraciones del isobutírico no superaron al 0,1% que la literatura estima como aceptable. Así también, en el método PM se encontró mayor valor de los AGV totales ($p < 0,001$), seguido del método de CD con valor intermedio y el menor valor se obtuvo con el CDA para las dos praderas. Diferentes autores han observado que a mayor AGV totales en los ensilajes, disminuye la palatabilidad y por ende un bajo consumo, reportándose además disminución de la producción láctea y cárnica. (Steen *et al.*, 1988 y Huhtanen *et al.*, 2001; 2002).

El nitrógeno amoniacal es un indicador de la calidad proteica y de la cantidad de proteína verdadera preservada en el ensilaje, en general valores altos de N-NH₃ indican una pobre calidad de la proteína y menor consumo de ensilaje por los animales. En el presente estudio, sólo el CDA se acerca al óptimo ($\leq 5\%$), mientras que CD y PM están dentro del rango intermedio (5 – 10%) en la pradera sembrada; pero en la pradera mejorada el PM superó al 10% del N-NH₃ que se considera aceptable (Tabla 3.7 y 3.8).

Estudios bajo el método de PM presentaron altas concentraciones en N-NH₃, y AGV, en comparación con ensilajes de corte directo y con el uso de aditivos (Gordon, 1979; 1980; 1996 y Castle y Watson, 1982; 1984). Esto indica que el método de PM no tiene la capacidad por si sola de proteger la Proteína verdadera del ensilaje y asegurar los requerimientos del bovino que necesita para la producción láctea o cárnica.

Tabla 3.7 Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes fermentativos (base materia seca) en ensilaje de pradera sembrada.

Variables	Método			Tiempo			RMSE	Interacción MxT
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Acético (%)	0,93 b	0,60 c	1,83 a	1,16 a	1,08 a	1,13 a	0,11	NS
Propiónico (%)	0,09 a	0,07 a	0,07 a	0,19 a	0,02 b	0,01 b	0,08	NS
Isobutírico (%)	0,00 b	0,00 b	0,07 a	0,00 b	0,07 a	0,00 b	0,02	***
Butírico (%)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,00	ND
pH	3,86 a	3,73 a	3,94 a	3,84 a	3,81 a	3,87 a	0,11	NS
N-NH₃ (% N total)	7,37 b	5,03 c	8,42 a	6,98 a	6,92 a	6,91 a	1,53	NS
AGV totales (%)	1,03 b	0,67 c	1,95 a	1,33 a	1,17 b	1,17 b	0,09	NS
Láctico (%)	7,74 a	7,46 a	6,91 a	7,02 a	7,33 a	7,76 a	0,75	NS
Láctico : Acético (%)	8:1 b	13:1 a	3:1 c	7:1 a	8:1 a	8:1 a	1,37	NS

N-NH₃: Nitrógeno Amoniacal. **Método**: **CD** Corte directo, **CDA** Corte directo más aditivo, **PM** Premarchito. **d** días.

*** (p<0,001) nivel de significancia. **RSME** Raíz media de los errores cuadrados. **MxT**: Método por Tiempo. Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **ND** no detectado. **NS** no significativo.

Tabla 3.8 Efecto del método de conservación y tiempo de almacenamiento sobre componentes fermentativos (base materia seca) en ensilaje de pradera mejorada.

Variables	Método			Tiempo			RMSE	Interacción TxM
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Acético (%)	1,09 b	0,87 c	1,87 a	1,22 a	1,23 a	1,17 a	0,24	NS
Propiónico (%)	0,04 c	0,13 b	0,25 a	0,16 a	0,11 b	0,05 c	0,12	NS
Isobutírico (%)	0,00 b	0,00 b	0,26 a	0,09 a	0,11 a	0,07 a	0,06	NS
Butírico (%)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,00	ND
pH	3,84 b	3,76 b	4,08 a	3,88 a	3,87 a	3,93 a	0,11	NS
N-NH₃ (% N total)	7,64 b	5,96 c	11,40 a	8,15 a	8,61 a	8,24 a	2,05	NS
AGV totales (%)	1,01 b	1,12 b	2,35 a	1,45 a	1,53 a	1,29 b	1,29	NS
Láctico (%)	7,50 a	7,31 a	7,81 a	7,26 a	7,65 a	7,71 a	1,40	NS
Láctico : Acético (%)	7:1 b	8:1 a	4:1 c	7:1 a	6:1 a	7:1 a	1,39	NS

N-NH₃: Nitrógeno Amoniacal. **Método**: **CD** Corte directo, **CDA** Corte directo más aditivo, **PM** Premarchito. **NS**: no significativo **ND**: no detectado. Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **RSME**: raíz media de los errores cuadrados.

En relación al tiempo de almacenamiento, el ácido propiónico presentó una disminución lineal en el tiempo en las praderas evaluadas ($p < 0,001$), esto podría deberse a la utilización del ácido propiónico por los microorganismos capaces de tolerar pH bajos que lo toman a este sustrato para su propio metabolismo. Y el Isobutírico estuvo presente a los 270 días en la pradera sembrada, sin embargo, en la pradera mejorada se presentó en los tres tiempos pero sin efecto significativo (Tabla 3.7 y 3.8).

En la Figura 3.1 se presentan una síntesis del comportamiento de los cincuenta y cuatro minisilos que fueron estudiados, observándose la relación entre los indicadores de calidad fermentativa y bromatológica en un análisis de componentes principales.

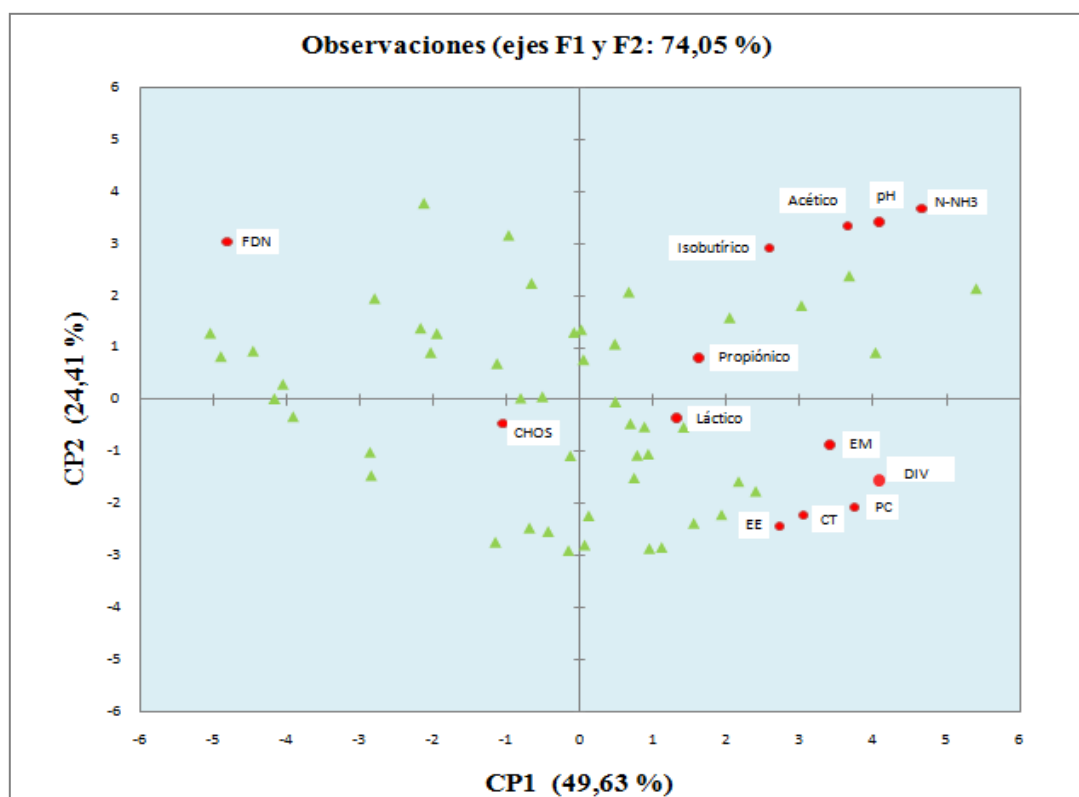


Fig. 3.1 Análisis de Componentes Principales.

 **Minisilos**

Las muestras de los minisilos y los indicadores son graficadas en el componente principal 1 (CP1) y CP2. El CP1 representó un 49,63% mientras que CP2 un 24,41%. En el cuadrante derecho superior se encuentran correlacionadas positivamente pH, N-NH₃, acético e isobutírico, estos indicadores están relacionados con baja calidad fermentativa del ensilaje. Por otra parte en el cuadrante derecho inferior la EM y PC están correlacionas y éstas se encuentran inversamente correlacionadas al FDN, lo cual puede explicarse desde un punto de vista nutricional, puesto que a mayor nivel de PC se espera mayor EM y una baja concentración de FDN y, por ende, alta digestibilidad del ensilaje.

La complementación de los métodos PM y el uso de aditivo en el ensilaje conlleva a la obtención de ensilajes de alta calidad nutricional. Coincidentemente, Anrique *et al.*, (2011) obtuvo una mayor disminución del pH en combinación del PM con aditivo biológico, sin embargo ese estudio no se realizaron otros análisis. En estudios internacionales, con el método PM con aditivos biológicos (bacterias homofermentativas) se obtienen ensilajes de excelente calidad bromatológica y fermentativa (Conahnan *et al.*, 2010). Por tanto, es recomendable la complementación de tales métodos.

El efecto del tiempo demostró la existencia de la continuación de procesos a baja escala. En futuros estudios se sugiere considerar como factor a evaluar la parte microbiológica, con el objetivo de analizar la actividad de microorganismos durante la fase de estabilidad anaerobia y sus efectos sobre los indicadores nutricionales de la calidad en el ensilaje. Además se sugiere realizar estudios en otros tiempos distintos de almacenamiento, debido que los tiempos estudiados en el presente estudio son pocos y ser flexibles en las decisiones de apertura y utilización del ensilaje en producción animal. Además sería de importancia poder analizar en la estación de verano, y realizarse así mismo en el invierno para obtener mejor aproximación de lo que sucede en el campo.

3.4 CONCLUSIONES

El método premarchito mostró una mejor calidad bromatológica, mientras que el método de corte directo más aditivo presentó una superior calidad fermentativa en los dos tipos de praderas evaluadas. Por lo tanto la combinación de ambos métodos permitiría obtener ensilajes de pradera de buena calidad nutricional.

Debido a la existencia de cambios en los indicadores bromatológicos y fermentativos a prolongados tiempos de almacenamiento se concluye que no sólo la fase fermentativa y otros factores (métodos, maquinarias, etc.) afectan a la materia prima utilizada, también largos tiempos de almacenamiento causaran daños detrimentales en la calidad nutritiva del ensilaje de pradera.

Agradecimientos

Al apoyo financiero por el Consorcio Tecnológico de la Leche SA.; Proyecto FIA FIC-CS-C-2004-1-P-001.

Los autores agradecen a los Técnicos de Laboratorios Ana Aguiar, Sara Hube y al Técnico de Campo Gonzalo Santana, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Remehue.

3.5 BIBLIOGRAFIA

- ANRIQUE R. 1987. Predicción del valor nutritivo y henos en la zona sur. In: Latrille, L. y Balocchi O. (eds). Conservación de forrajes. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-12. Valdivia, Chile. pp: 235-240.
- ANRIQUE R., FUSCHSLOCHER R., IRAIRA S. Y SALDAÑA R. 2008. Composición de alimentos para ganado bovino. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Remehue. Consorcio Tecnológico de la Leche (FIC – CS – C – 2004 – 1 – P – 001).
- ANRIQUE R. 2011. Momento óptimo de cosecha en relación al estado fenológico de la pradera y la calidad final del ensilaje. In: Conferencia Simposio Proyecta 23 junio. <http://simposioprojecta.cl/antecedentes/proyecta2011.php>.
- AOAC 1996. Official methods of analysis. Vol. 1, p. 38. In W. Windham (ed.) 16 th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.
- BALOCCHI O. y ANRIQUE R. 1988. Análisis comparativo de ensilajes y henos a nivel de agricultor en la zona sur de Chile. In Puignau, J. (ed). Conservación de forrajes. Montevideo, Uruguay. pp: 142 – 146.
- BALOCCHI O. 1999. Recursos forrajeros utilizados en producción de leche. In: Anrique R, Latrille L, Balocchi O., Alomar D, Moreira V., Smith R., Pinochet D., y Vargas G. Competitividad de la producción lechería nacional (tomo I). Universidad austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 29 – 74.

- BATEMAN R. 1970. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food Agric.* 17 : 264 – 268.
- BERNDT S. 2002. Composición nutricional y calidad de ensilajes de la zona sur. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. pp: 5 – 20.
- CAÑEQUE V. y SANCHEZ J. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. pp: 125 – 126.
- CASTLE M. y WATSON J. 1982. Silage and milk production: Comparisons between unwilted and wilted grass silages made with different additives. *Grass For. Sci.* 37, 235 – 241.
- CASTLE M., WATSON J. 1984. Silage and milk production: A comparison between unwilted and wilted grass silages. *Grass For. Sci.* 39, 187 – 193.
- CHERNEY D., CHERNEY J. y COX W. 2004. Fermentation Characteristics of Corn Forage Ensiled in Mini-Silos. *J. Dairy Sci.* 87, 4238-4246.
- CONAGHAN P., KIELY P. y MARAT P. 2010. Conservation characteristics of wilted perennial ryegrass silage made using biological or chemical additives. *J. Dairy Sci.* 93, 628 – 643.
- CONTRERAS F., MARSALLS A. y LAURLAULT M. 2009. Inoculantes microbiales para ensilaje: Su uso en condiciones de clima cálido. *Centros en Ciencias Agícolas en Tucumcari, New Mexico State University. Circular 642.* 5p.

- DRIEHUIS F., Oude S. y VAN P. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56, 330 – 343.
- DYSLI R. 1974. Curso Nacional sobre producción animal y utilización de forrajes. Departamento de Diversificación, ANACAFE. Serie 12. Guatemala, Guatemala. pp: 55 – 56.
- DUMONT J. 1988. Conservación de forrajes en la décima región de Chile. In Puignau, J. (ed). Conservación de forrajes. Montevideo, Uruguay. pp: 23 – 35.
- DUMONT J. 2006. Conservación de Forrajes. En: Manual de Producción de Leche para pequeños y medianos productores. Boletín INIA N° 148. pp: 79 – 90.
- ELIZALDE H., GOIC L. y PINNINGHOFF J. 2005. Efectos del sistema de cosecha de ensilaje de pradera sobre el comportamiento productivo de toretes en crecimiento. *Agri. Téc.* vol. 65 (3), 278 - 283.
- 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 silage. *J. Dairy Sci.* 86, 575 – 3781.
- FLORES G. 2004. Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Dr. Agr. Madrid. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Dpto de Producción Animal. pp: 28 – 29.

- FREY T., COORS J., DHAVER D., LAUER J. y EILERT P. 2004. Selection for silage quality in the Wisconsin quality synthetic and related maize populations. *Crop Science*. 44, 1200 – 1208.
- FULGUEIRA C., AMIGOT S., GAGGIOTTI M., ROMERO L., y BASILICO J. 2007. Forage quality: Technique for testing. *Global Science Books. Fresh Produce 1 (2)*, 121 – 131.
- GARRIDO O. y MANN E. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente de pastoreo a través del año. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 63 p.
- GONZALEZ M. 1992. Métodos para mejorar la calidad de los ensilajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigaciones Remehue. Serie Remehue N° 52. 23 p.
- GORDON F. 1979. The effect of protein content of the supplement for dairy cows with access ad libitum to high digestibility, wilted grass silage. *Anim. Prod.* 28, 183 – 189.
- GORDON F. 1980. The effect of silage type on the performance of lactating cows and the response to high levels of protein in the supplement. *Anim. Prod.* 30, 29 – 37.
- GORDON F. 1996. Effect of silage additives and wilting on animal performance. In: Garnsworthy, P.C., Cole, D.J. (Eds.), *Recent Developments in Ruminant Nutrition 3*, Nottingham University Press, pp: 229 – 243.
- HARPER W. y RANDOLPH H. 1960. Study suggests posible relationship between flavor and lactic acid in cottage cheese. *American milk review* 22 – 23.

- HARRIS L. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Vol. 1. New York, United States. 125 p.
- HUHTANEN P., KHALILI H., NOUSIAINEN J., RINNE M., JAAKKOLA S., HEIKKILA T. y NOUSIAINEN J. 2001. Prediction of the relative intake potential of grass silage by dairy cows. *Livestock Production Science* 73, 111 – 130.
- HUHTANEN P., NOUSIAINEN J., KHALILI H., JAAKKOLA S., y HEIKKILA T. 2002. Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. *Livestock Production Science* 81, 53 – 73.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS. 2007. Cambios estructurales en la agricultura Chilena. Análisis intercensal 1976-1997-2007. pp: 41 – 44.
- JALC D., LAUKOVA A., VARADYOVA Z., HOMOLKA P. y KOUKOLOVA V. 2009. Effect of inoculated grass silages on rumen fermentation and lipid metabolism in an artificial rumen (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology* 151, 55 – 64.
- JALC D., LAUKOVA A. y KISIDAYOVA S. 2010. Effect of inoculants on fermentation parameters and chemical composition of grass and corn silages. *Slovak J. Anim. Sci.*, 43, 141 – 146.
- JAURENA G., LIVRAGHI E., ALVAREZ D., CECCALDI E. AND MOLINA R. 2010. Ensiling natural meadow forage in <Tierra del Fuego>, Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2010 8(3), 722-728.
- KAISER G., PILTZ J. 1998. Proceeding of beef – the path forward, 1ra Ed. J. Wilkins and W. Mckiernan, (NSW Agriculture: Orange) Sidney, Australia. 58 p.

- KAISER G., PILTZ J., BURNS H. y GRIFFITHS N. 2004. Successful silage. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries. 2da. Ed. National Library of Australia Cataloguing – in – Publication. Sidney, Australia. 419 p.
- LANUZA F., DUMONT J., NAVARRO H. 1983. Comparación de ensilaje de pradera permanente convencional y premarchito para alimentación de vacas lecheras. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N°62. 5 p.
- MADRID J., MEGIAS M. y HERNANDEZ F. 1999. Determination of short chain volatile fatty acids in silages from artichoke and orange by-products by capillary gas chromatography. J. Sci. Food Agric. 79: 580 – 584.
- MAFF, 1986. The analysis of agricultural materials. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF). Agricultural Development and Advisory Service. 3ra Ed. HMSO. London, United King. 239 p.
- MORRISON I. 1979. Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effects of various additives on these changes. J. Agri. Sci. Technol. 38, 11 – 24.
- OJEDA F., LUIS L. y RUZ F. (1993). Evaluación de tres ensilajes para la producción de leche. Pastos y Forrajes. Matanzas – Cuba. 16 (1), 81 – 92.
- PALOMINO S., BLANCO E. y ROBAYO D. 2004. Manuel de la granja autosuficiente. Ed. 1. IBALPE. Bogotá – Colombia. 304 p.
- PARGA J. y LANUZA F. 2006. Suplementación de vacas lecheras a pastoreo. En: Manual de Producción de Leche para pequeños y medianos productores. Boletín INIA N° 148. pp: 48 – 59.

- PICHARD G. y CUSSEN R. 1995. Evaluación de las pérdidas en el proceso de ensilaje y manejo de efluentes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue N° 52. 20 p.
- PIERETTI P. 2009. Ensilability Characteristics and Silage Fermentation of Galega (*Galega officinalis* L.) *Agricultural Journal* 4 (1), 41 – 45.
- RIVEROS E. 1993. Reservas de forraje para predios lecheros. *El campesino* (Chile). 124 (11), 46-57.
- RUIZ M. y RUIZ A. 1990. Nutrición de rumiantes. Ed 1. IICA – RISPAL. San José - Costa Rica. 344 p.
- SANCHEZ L., MEJIA S., JIMENEZ F., y JARAMILLO J. 2002. Conservación de forrajes en sistemas de producción bovina del trópico bajo. En: Alternativas tecnológicas para la producción competitiva de leche y carne en el trópico bajo. Plan de modernización de la ganadería bovina Colombiana. CORPOICA, MADR, FEDEGAN, Fondo Nacional del ganado. pp: 19 - 20.
- SIEBALD E. 2001. Mejoramiento de praderas y conservación de forrajes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Actas N° 13. 6 p.
- STEEN R. 1988. Factors affecting the utilization o grass silage for beef production. P. 129 – 139. Occasional Symposium N° 22. In J. Frame (ed.). Efficient beef production from grass. Br. Grassl. Soc. Peeble, UK.
- TEUBER K. NOLBERTO T. y BALOCCHI O. 2003. Recursos forrajeros en producción de leche. I. Balance alimenticio con los recursos del sur 3- 11 p. Seminario Hagamos de

- la lechería un mejor negocio. Osorno, Chile 2 de septiembre del 2003. Instituto de Investigaciones Agropecuaria de Chile. Serie Acta INIA – N° 24 pp: 13 – 19.
- TILLEY J. y TERRY R. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. 18 : 104 – 111.
- TORRES A. 1994. Praderas destinadas a ensilaje. In: González, M y Bortolameolli, G. (eds.) II Seminario “Producción y utilización de ensilajes de pradera para agricultores de la zona sur”. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Remehue. N° 52. pp: 119 – 143
- VAN SOEST P., ROBERTSON J. y LEWIS B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polisacarides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583 – 3597.
- WEDELL J. y HENDERSON A. 1990. Silage additives. *Scottish Agricultural Colleges*. Technical Note T. 213.
- WILKINSON M. 1990. Silage UK. 6ta. ed. Marlow, United Kingdom. pp: 29 – 31.
- WYLKINS P. y LOVATT A. 2004. Recent gains from forage Grass breeding. *Iger Innovations*. pp: 18 - 21.
- YAHARA M., KIMURA J., HARAI H., NGUYEN M., KAWAI J., TAKAHASHI J. y MATSUOKA S. 2001. Effect of length of ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of Lucerne and orchardgrass. *Anim. Feed Sci. Technol.* 92, 141 – 148.
- ZADOKS J., CHANG T. y KONZAK C., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14 (6): 415 – 421.

4. INFLUENCIA DEL METODO DE CONSERVACION Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL PERFIL DE LOS ACIDOS GRASOS DE CADENA LARGA EN ENSILAJE DE PRADERA

RESUMEN

A nivel nacional existen pocos estudios en el perfil de ácidos grasos de cadena larga (AGCL) en praderas y ensilajes. En este sentido el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de tres métodos de conservación: corte directo (CD), corte directo más aditivo (CDA) y premarchito (PM) y tres diferentes tiempos de almacenamiento sobre el perfil de los ácidos grasos y extracto etéreo (EE) en dos tipos praderas (Sembrada y Mejorada), de la región de Los Lagos comúnmente utilizadas para la elaboración de los ensilajes. No se observaron efectos significativos de los métodos y tiempo de conservación para la pradera sembrada, pero la pradera mejorada presentó efecto del método de PM y CDA con decrecimientos en C18:2 y sin alteraciones en el tiempo. No hubo efecto de los métodos de conservación sobre el EE y AGCL. Tampoco se encontró efecto del tiempo de almacenaje sobre los AGCL.

Palabras claves: Pradera; Ensilaje; Premarchito; Aditivo; Extracto etéreo; Ácidos grasos de cadena larga.

4.1 INTRODUCCION

Los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) pueden considerarse como indicadores de calidad nutricional en ensilajes debido a la importancia que han adquirido en la producción animal y su influencia en la salud humana. En este sentido, los productos (leche y carne) saludables son un aspecto prioritario para la competitividad de la ganadería,

teniendo cada vez mayor interés para los consumidores los aspectos tecnológicos, nutricionales y sensoriales de los cuales derivan la composición y concentración de los ácidos grasos en los productos finales (García y Díaz, 2005 y Angulo *et al.*, 2009).

Los ácidos grasos saturados están asociados con una mayor prevalencia de enfermedades cardíacas y cáncer (OMS). Los productos cárnicos y lácteos son una fuente de ácidos grasos saturados, sin embargo, estos productos también son fuente en ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido graso linoléico (C18:3 *n*-3) y ácido linoléico conjugado (CLA) los cuales tienen efecto beneficiosos para la salud humana. El ácido linoléico conjugado (CLA) es un ácido graso esencial que lo produce la flora intestinal de los rumiantes, a partir del ácido graso linoleico (C18: 2 *n*-6) y linoléico (C18:3 *n*-3) (Wood y Enser, 1997). Está demostrado que la producción del CLA aumenta cuando el animal es alimentado mediante el pastoreo, puesto que la pradera es la fuente más importante en este aporte de C18:3 *n*-3 (Whetsell *et al.*, 2003). En el forraje fresco, el C18:3 *n*-3 es el más abundante de los ácidos grasos totales aportando entre un 50% y 75% (Hawke, 1963; McDonald *et al.*, 1988 y Van Soest, 1994).

La concentración de los AGCL en la pradera puede variar de acuerdo a la etapa de madurez, variación genética, fertilización, estación, intensidad de luz, mientras que en los ensilajes, los procesos fermentativos y los métodos de preservación (Premarchitamiento y uso de aditivos) también pueden influenciar en la concentración de los AGCL (Dewhurst and King, 1998; Elgersma *et al.*, 2003, y Arvidsson, 2009).

Dewhurst *et al.* (2001) encontró diferencias entre especies con un mismo manejo y cortes en diferentes estaciones, concluyendo que existe de una fuerte influencia genética y estacional en los perfiles de ácidos grasos de cadena larga. En este mismo estudio, el C18:3 fue muy alto en primavera y otoño pero decrece fuertemente en épocas de verano.

Efectos en los método de preservación, Dewhurst y King, (1998) utilizaron el premarchitamiento (PM) con 68 h de exposición del producto en el campo, concluyendo

que el PM da lugar a pérdidas importantes de ácido linolénico, y que las pérdidas se detienen con la compactación del ensilaje. Sin embargo, Chow *et al.* (2003) utilizó el método del PM con 52 h, no encontrando efecto del PM sobre los ácidos grasos, y que los cambios se debieron principalmente por la lipólisis producida durante la fase de fermentación del ensilaje.

A nivel nacional no se han realizado estudios en el perfil de ácidos grasos de cadena larga en praderas, ni el efecto de diferentes tratamientos en el ensilaje sobre este perfil, por lo que este estudio se realizó para conocer el efecto de tres métodos de conservación (corte directo, corte directo más aditivo y premarchitamiento) con diferentes tiempos de almacenamiento sobre el perfil de los ácidos grasos en dos tipos praderas comúnmente utilizadas para la elaboración de los ensilajes.

4.2 MATERIALES Y METODOS

4.2.1 Condiciones de campo

El estudio se realizó en el Centro Regional de Investigación Remehue, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), situado en el km 8 de la ciudad de Osorno, región de Los Lagos, Chile, con coordenadas de 40° 52' S, 73° 04' O, con una altitud de 65 msnm, que corresponde a un clima templado lluvioso con una temperatura anual promedio de 8 a 10°C y precipitación de 1300 a 1800 mm.

Se utilizaron dos tipos de praderas: Sembrada monofítica y Mejorada polifítica; las cuales fueron fertilizadas en el otoño y primavera del 2009 (67,5 kg de N ha⁻¹., 57 kg de P₂O₅ por ha⁻¹., 60 kg de K₂O ha⁻¹., 14 kg de S por ha⁻¹) y al inicio del periodo de rezago con 45 kg de N ha⁻¹. La determinación de la composición botánica se realizó al azar y de forma manual, separando cada especie que conformaba la muestra, para luego secarlas y determinar el porcentaje de cada especie en base a materia seca del total de la muestra. Por

tanto la pradera Mejorada, fue una pradera permanente y estuvo compuesta por: *Lolium perenne* (55,16%), seguido de *Poa pratensis* (27,13%), *Bromo valdivianus* (11,76%), *Leontodon nudicaulis* (3%), *Ranunculus repens* (2%), *Trifolium repens* (1%) y *Plantago lanceolata* (0,14%). La pradera Sembrada, la cual es una pradera de rotación corta con un periodo de 2 años al momento de la cosecha, esta pradera consistió de *Lolium hybridum*, de los cultivares Maverick 60% y Belinda 40% (Nutrapack Activa plus), ambos cultivares de floración intermedia. Las praderas se cosecharon en diciembre 2 del 2009 con 39 días de rezago. El estado fenológico de la pradera al momento de la cosecha de acuerdo a Zadoks *et al.* (1974) fue, estado 1 (Bota) para la pradera mejorada y en estado 2 (Inicio de espiga) para la pradera sembrada. Se obtuvieron muestras de praderas para el análisis químico que se realizó en el laboratorio de nutrición animal y medio ambiente de INIA Remehue (tabla 4.1).

Tabla 4.1 Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100g ácidos grasos) del material fresco antes de ensilar.

Variables	Corte directo		Premarchito	
	PSM	PMP	PSM	PMP
Extracto etéreo (%)	1,33 ± 0,06	1,80 ± 0,17	1,43 ± 0,25	2,37 ± 0,58
C16:0 (ácido palmítico %)	21,42 ± 0,15	26,18 ± 2,14	21,22 ± 0,39	22,98 ± 1,60
C18:0 (ácido esteárico %)	0,96 ± 0,31	2,24 ± 0,06	2,43 ± 0,42	1,79 ± 0,49
C18:1 (ácido oléico %)	3,20 ± 0,26	6,56 ± 0,09	4,08 ± 3,39	4,18 ± 2,60
C18:2 (ácido linoléico %)	11,42 ± 0,05	13,57 ± 0,66	12,40 ± 2,82	12,66 ± 4,006
C18:3 (ácido linolénico %)	63,00 ± 0,77	51,45 ± 1,46	59,87 ± 6,24	58,39 ± 8,76

PSM pradera sembrada monofítica

PMP pradera mejorada polifítica.

4.2.2 Elaboración de los minisilos

El proceso de elaboración de los minisilos comenzó con el corte de la pradera el cual se realizó por medio de una segadora (Gravelly); posteriormente, el material cortado se llevó al laboratorio de campo donde se procedió al picado de forma manual con tijera, a una longitud entre 3 y 6 cm, tomando 2000 g del material a ensilar en bolsas de polietileno transparentes de 38 x 28 cm (Permeabilidad al oxígeno $50 \text{ cm}^3 \text{ mq}^{-1} - 24 \text{ h-bar}$), adicionando un papel absorbente en el interior de la bolsa. El vacío y sellado del minisilo se logró con una envasadora doméstica (Food Saber, Oster®, USA). Posteriormente los minisilos se guardaron a temperatura ambiente y protegidos de la intemperie y luminosidad.

Se definieron 3 métodos de conservación: Corte directo (CD), corte directo más aditivo (CDA) y premarchito (PM). En el CD el material fue picado y envasado inmediatamente al vacío. El CDA fue similar al corte directo, sólo se agregó un inoculante multipropósito microbiano para ensilaje (BIOMAX MP®, Bayer®, USA, 2006) a base de bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentasaceus*. Se aplicaron 0,2 g del producto diluidos en 7,57 ml de agua no clorada con atomizador manual en cada minisilo, de acuerdo a las condiciones descritas por el fabricante (100 g en 3,79 L de agua no clorada para 1 ton). El PM luego del corte fue expuesto en el campo por un periodo de 24 h, posteriormente se realizó el picado y envasado. Las condiciones climáticas en la cosecha de la pradera para los ensilajes de CD, CDA y PM fueron (Tabla 4.2):

Tabla 4.2 Condiciones climáticas de fabricación de los minisilos

	DIA 1 CD - CDA	DIA 2 PM
Temperatura superficie suelo °C min - max	0,2 - 18,8	1,9 - 22,8
Temperatura atmosférica °C min - max	4,0 - 13,6	4,6 - 19,1
Precipitación	< 0,1	< 0,1
Evaporación	2,5	4,4

Mín: mínima **Max:** máxima

Se tomaron muestras de las praderas, del material fresco y premarchito para determinar la composición química del producto sin fermentar (Tabla 4.1). También se definieron 3 tiempos de apertura por cada tratamiento, siendo de 240, 270 y 300 días. Cada tratamiento se realizó en triplicado obteniendo un total de 54 minisilos para este estudio.

4.2.3 Determinación de extracto etéreo y ácidos de cadena larga (AGCL)

El análisis químico del Extracto Etéreo (EE) se determinó a través de la extracción Soxhlet (Van Soest *et al.*, 1991).

El procedimiento adoptado para el análisis de los ácidos grasos de cadena larga fue la siguiente: La grasa fue extraída en frío por el método de Bligh y Dyer (1959) modificado por Lumbey y Cumbel (1991). La metilación fue realizada según Hartman y Lago (1973). Se inyectó 1 μL de muestra en un Cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer modelo Clarus 600, con detector FID, usando como gas portador Helio y una columna de 100 m x 0,25 mm x 0,2 μm (SPtm – 2560). Las condiciones del Cromatógrafo fueron programadas de la siguiente forma: La temperatura inicial del horno fue de 140°C por 5 min para luego alcanzar 240°C en 45 min (4°C min^{-1}). La temperatura del inyector fue de 260°C. El flujo de la columna fue de 1 ml min^{-1} , con un Split de 100:1. La temperatura del detector fue operado a 260°C, con un flujo de H₂ y aire de 45 y 450 ml min^{-1} , respectivamente. Como estándar externo se utilizó una mezcla de esteres metílicos de ácidos grasos (Supelco 37 Catálogo 47885-U).

4.2.4 Diseño estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por medio del programa estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El análisis se realizó de forma separada para cada tipo de

pradera, la distribución de los tratamientos fueron completamente al azar, con un arreglo factorial de los tratamientos (tres métodos de conservación x tres tiempos de almacenamiento) con sus posibles interacciones, obteniendo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk} .$$

Y_{ijk} = La observación de respuestas de las variables. Las variables a evaluar son extracto etéreo y los principales ácidos grasos de cadena larga en los 3 métodos de conservación, y los 3 tiempos de almacenamiento; μ = El efecto medio global; α_i = Efecto del i -ésimo nivel de los métodos de conservación (Factor A); β_j = Efecto del j -ésimo de los tiempos de almacenamiento (Factor B); $(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre α_i y β_j (Interacción entre Factor A y Factor B); ϵ_{ijk} = Componente del error experimental. Previo a esto, se comprobó la normalidad y homocedasticidad de los datos con la prueba de Shapiro & Wilks y Cochran respectivamente.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 4.1 se presenta la concentración del EE del material fresco y premarchito ordenados por tipo de pradera y también el perfil de los ácidos grasos, caracterizados por los ácidos grasos dominantes: Ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (C18:2) y ácido linolénico (C18:3).

El EE en los ensilajes de ambas praderas fue superior al material fresco, esto se debe al proceso fermentativo al que fue sometido el producto, produciéndose ácidos orgánicos tales como el láctico, acético, propiónico, butírico e isobutírico, entre otros (Byers y Schelling, 1989).

Los resultados del ensilaje por tipo de pradera se encuentran en Tabla 4.3. A pesar de no poder realizar un análisis estadístico por tipo de pradera debido al distinto estado

fenológico que fueron cosechadas para el ensilaje, se observó que el EE de la pradera mejorada tuvo una tendencia a ser superior que la pradera sembrada. También se pudo observar que el C18:0, C18:1 y C18:2 de la pradera mejorada con inclinación superior a la pradera sembrada. Y el C18:3 de la pradera sembrada superó al de pradera mejorada. Se han estudiado diferencias entre especies de gramíneas (*L. perenne*, *L. multiflorum* y *L. boucheanum*) y estación anual, obteniendo resultados distintos entre especies y estas presentan las mayores concentraciones de ácidos grasos en primavera y otoño y las más bajas en verano (Dewhurst *et al.*, 2001), sin embargo no hay estudios comparativos entre tipo de pradera a similar época de corte, lo cual en futuros estudios sería de importancia comparaciones en las distintas variedades de ballicas con las condiciones agronómicas adecuadas y ser posible realizar inferencia estadística.

Tabla 4.3 Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje por tipo de pradera.

	Ensilaje de pradera	
	PSM	PMP
Extracto etéreo (%)	3,23	4,01
C16:0 (ácido palmítico %)	19,89	20,32
C18:0 (ácido esteárico %)	1,25	1,67
C18:1 (ácido oléico %)	2,51	3,89
C18:2 (ácido linoléico %)	12,71	14,44
C18:3 (ácido linolénico %)	63,64	59,68

PSM pradera sembrada monofítica **PMP** pradera mejorada polifítica

Los métodos y tiempo de almacenamiento por tipo de pradera (Tabla 4.4 y 4.5) no presentaron diferencias significativas en EE. El Ácido linoléico de la pradera mejorada presentó diferencias con el método de CD ($p < 0,01$) presentándose superior al método de

CDA y PM. En relación al PM existe controversia entre diferentes trabajos publicados. Arvidsson (2009) no encontró efecto del PM de 20 horas (h) de duración sobre el perfil de los ácidos grasos, concluye además que el PM afecta al producto cuando es expuesto sobre 30 h, lo cual coincide con los estudios de Dewhurst y King (1998) quienes utilizaron PM de 68 h. Boufaied *et al.* (2003) reporta fuertes cambios negativos en la concentración de los ácidos grasos, sobre todo con bajas concentraciones en ácido linolénico con PM de 72 h. Similarmente, Van Ranst *et al.* (2009) observó pérdidas del ácido linolénico con premarchitamiento de tan sólo 8 h. En el presente estudio no hubo efecto del PM sobre el ácido linolénico, sólo se observó una disminución del ácido linolénico en el ensilaje de pradera mejorada (Tabla 4.4).

Tabla 4.4 Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje de pradera sembrada.

Variables	Método			Tiempo			RMSE	Interacción MxT
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Extracto etéreo (%)	3,18 a	3,27 a	3,24 a	3,15 a	3,31 a	3,22 a	0,32	**
C16:0 (ácido palmítico %)	20,29 a	19,23 a	20,15 a	19,25 a	19,78 a	20,64 a	2,23	NS
C18:0 (ácido esteárico %)	1,16 a	1,17 a	1,40 a	1,31 a	1,30 a	1,14 a	0,34	NS
C18:1 (ácido oléico%)	2,43 a	2,56 a	2,48 a	2,29 a	2,69 a	2,48 a	0,67	NS
C18:2 (ácido linoléico %)	12,68 a	12,75 a	12,63 a	12,31 a	13,00 a	12,76 a	0,97	NS
C18:3 (ácido linolénico %)	63,43 a	64,28 a	63,33 a	64,84 a	63,23 a	62,98 a	3,08	NS

Método: CD Corte directo, CDA Corte directo más aditivo, PM Premarchito. **NS:** no significativo ** ($p < 0.01$). Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **RSME:** raíz media de los errores cuadrados.

Tabla 4.5 Concentración de extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos (g/100 g ácidos grasos) del ensilaje de pradera mejorada.

Variables	Método			Tiempo			RMSE	Interacción MxT
	CD	CDA	PM	240 d	270 d	300 d		
Extracto etéreo (%)	4,08 a	4,03 a	3,92 a	4,08 a	4,03 a	3,92 a	0,47	NS
C16:0 (ácido palmítico%)	19,86 a	20,22 a	20,88 a	20,15 a	20,37 a	20,44 a	1,29	NS
C18:0 (ácido esteárico%)	1,62 a	1,68 a	1,70 a	1,62 a	1,61 a	1,77 a	0,30	NS
C18:1 (ácido oléico %)	4,04 a	3,78 a	3,83 a	4,05 a	3,61 a	4,00 a	0,82	NS
C18:2 (ácido linoléico %)	15,37 a	14,66 b	13,29 c	14,30 a	14,29 a	14,72 a	1,26	NS
C18:3 (ácido linolénico %)	59,1 a	59,66 a	60,29 a	59,88	60,11 a	59,07 a	2,99	NS

Método: CD Corte directo, CDA Corte directo más aditivo, PM Premarchito. **NS:** no significativo. Las distintas letras de manera horizontal (a,b,c) indican diferencias significativas. **RSME:** raíz media de los errores cuadrados.

Además el C18:3 (*n-3*) también decreció con el método de CDA, sin embargo, los métodos no afectaron a ningún otro ácido en ensilajes de los dos tipos de pradera (Tabla 4.4 y 4.5). En el estudio de Jalc (2010) quien utilizó PM (16 h) con aditivos (*L. plantarum*) en comparación con otros aditivos, no obtuvo efecto con el *L. plantarum* sobre el perfil de los ácidos grasos del material a ensilar vs ensilaje y obtuvo las más altas concentraciones de los ácidos linoléico y linolénico frente a los otros aditivos.

El PM con pocas horas de exposición en el campo (24 h) y el uso de aditivos no alteran el perfil de AGCL de las praderas. Por lo tanto, con el uso conjunto de premarchitamiento más el uso de un aditivo biológico se podría obtener un ensilaje de excelente calidad nutricional no afectando al perfil de los AGCL.

4.4 CONCLUSIONES

Los métodos de conservación y el tiempo de almacenamiento no tuvieron efecto sustancial en las proporciones del extracto etéreo y perfil de ácidos grasos de cadena larga en los dos tipos de praderas ensiladas.

Agradecimientos

Al apoyo financiero por el Consorcio Tecnológico de la Leche SA.; Proyecto FIA FIC-CS-C-2004-1-P-001.

Los autores agradecen a los Técnicos de Laboratorios Ana Aguiar, Sara Hube y al Técnico de Campo Gonzalo Santana, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Remehue.

4.5 BIBLIOGRAFIA

- ANGULO J., MAHECHA L. y OLIVERA M. 2009. Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: Un nutriente valioso para la salud humana. *Rev. MVZ Córdoba* 14 (3), 1856 – 1866.
- ARVIDSSON K. 2009. Factors affecting fatty acid composition in forage and milk. Tesis doctoral. Umea. Swedish University of Agricultural Sciences. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. pp: 15 – 20.
- BLIGH E. y DYER W. 1959. A respid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochesmistry and Physiology*, 37: 911 – 917.
- BYERS F., SCHELLING G., 1989. Lipids in ruminant nutrition. In: *The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition of ruminants*. Vol. 2. Second Ed. Edited by D.C. Church. Prentice Hall. New Jersey. 564 p.
- BOUFAIED H., CHOUINARD P., TREMBLAY G., PETIT H., MICHAUD R. y BELANGER G. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*, 5, 213 - 221.
- CHOW T., FIEVEZ V., ENSBERG M., ELGERSMA A. y DE SMET S. 2003. Fatty acid content, composition and lipolysis during wilting and ensiling of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): preliminary findings. *Grassland Science in Europe*, pp: 981-983.
- DEWHURST R. y KING P. 1998. Effects of extended wilting, shading and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass and Forage Science*, 53, 219 – 224.

- DEWHURST R., SCOLLAN D., YOUELL S., TWEED K. y HUMPHREYS M. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science*, 56, 68-74.
- ELGERSMA A., ELLEN G., VAN DER HORST H., MUUSE B., BOER H., y TAMMINGA S. 2003. Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval. *Animal Feed Science and Technology* 108, 191 – 205.
- GARCIA J. y DIAZ I. 2005. Nuevas tendencias en el análisis de ácidos grasos. IRTA. Centro de Tecnología de la Carne y Eurocarne, núm. 147. 1- 6 p.
- HAWKE J. 1963. The distribution of fatty acids between the a'- and b- positions of the glycerophospholipids of buttermilk. *J. Lipid Research* 4 (3) : 255 – 259.
- HARTMAN W. y LAGO R. 1973. Rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab Practice*, vol.22, pp: 475 – 476.
- JALC D., LAUKOVA A. AND KISIDAYOVA S. 2010. Effect of inoculants on fermentation parameters and chemical composition of grass and corn silages. *Slovak J. Anim. Sci.*, 43, 141 – 146.
- McDONALD P., EDWARDS R. AND GREENHALGH J. 1988. Lipids. In: *Animal Nutrition*. 4th ed. Longman Scientific and Technical. New York, United States of America. pp: 341 : 351.
- VAN RANST G., FIEVEZ V., VANDEWALLE M., DE RIEK J., AND VAN BOCKSTAELE E. 2009. Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty

- acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling. *Grass and Forage Science*, 64, 196 – 207.
- VAN SOEST P., ROBERTSON J. y LEWIS B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polisacharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583 – 3597.
- VAN SOEST P. 1994. Lipids. In: *Nutritional ecology of the ruminant*. Van Soest PJ. 2nd ed., Ithaca, New York, United States of America. pp 325 – 336.
- WHETSELL M., RAYBURN E., LOZIER J. 2003. Human health effects of fatty acids in beef. Fact sheet: West Virginia University & U.S.D.A. Agriculture Research Service. Extension Service West Virginia University. Ref Type: Electronic citation.
- WOOD J., ENSER M. 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*, 78. 49 – 60.
- ZADOKS J., CHANG T. AND KONZAK C., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14 (6): 415 – 421.

5. DISCUSION GENERAL

En los capítulos anteriores se presentaron los indicadores de calidad nutricional del ensilaje para dos tipos de praderas. Los dos tipos de pradera se cosecharon con un mismo tiempo de rezago y tuvieron diferente estado fenológico. La pradera sembrada en inicio de espigadura mientras que la pradera mejorada se cosechó en estado de bota. En el presente estudio, se definió un mismo tiempo de rezago para las dos praderas con el objetivo de simular lo que realizan los agricultores de la zona, quienes no hacen un rezago diferenciado por pradera, lo anterior resultó en rendimientos diferentes ya que tuvieron crecimientos distintos, además, la pradera sembrada es de floración intermedia y posiblemente la mejorada sea de floración tardía.

El estado bromatológico de los dos tipos de pradera ensiladas fueron de buena calidad (Tabla 4.2 del Capítulo IV). La pradera mejorada presentó tendencias superiores en las concentraciones de los componentes bromatológicos. Por otra parte, en los componentes fermentativos la pradera sembrada se observó bajas concentraciones de AGV, N-NH₃, lo cual es deseable en los ensilajes. La pradera sembrada estuvo compuesta en un 100% por una mezcla de cultivares denominada Nutrapack Activa Plus, compuesta por los cultivares Maverick Gold 60% y Belinda 40%, siendo estas diploide y tetraploide respectivamente. La tetraploide que tiene un mayor valor en contenido celular aportando mejor cantidad de sustratos para el proceso fermentativo del ensilaje. Por otra parte, la pradera mejorada, por tener especies de leguminosas, influye en la obtención de menores sustratos para la fermentación del producto.

A nivel del perfil de ácidos grasos de cadena larga (AGCL), el ácido linolénico (C18:3 *n*-3) del ensilaje de pradera sembrada se observó mejor concentración que la pradera mejorada. En praderas, este ácido graso normalmente se presenta en mayor concentración y es importante, puesto que, es uno de los principales precursores en la síntesis del ácido linoléico conjugado (CLA).

A nivel sensorial de manera visual se detectaron diferencias entre los dos tipos de praderas, puesto que la pradera sembrada se caracterizó por una sola especie, mientras que la pradera mejorada estuvo compuesta por varias especies.

En relación con los métodos evaluados, el premarchitamiento (PM) presentó una calidad bromatológica superior, sobre todo en indicadores claves como la Digestibilidad *in vitro* y Energía Metabolizable (Tablas 3.3 y 3.4). Sin embargo, el método de Corte directo con aditivo (CDA) entregó una calidad fermentativa superior al resto de los métodos evaluados. En el PM se observó un alto contenido de nitrógeno amoniacal y la presencia del ácido isobutírico, lo cual nos indica que el PM por sí sólo no previene la destrucción de las proteínas. Además el ácido isobutírico, tiene similar efecto al butírico causando daños detrimentales al producto y aumentando el rechazo del ensilaje por los animales. Por lo tanto, el PM no es una técnica que por sí sola pueda asegurar la calidad óptima del ensilaje. El uso de aditivos tuvo fuerte impacto en calidad fermentativa del ensilaje obteniendo bajas concentraciones de acético, pH y N-NH₃. Por lo tanto, con la complementación del CDA con el PM, se puede obtener ensilajes de alta calidad y así poder mejorar la producción de leche y carne.

A nivel de AGCL sólo se observó una leve disminución del ácido linolénico en los métodos PM y CDA sólo en la pradera mejorada. Por lo tanto, el uso de aditivos biológicos y PM no afectan el perfil de AGCL.

La evaluación organoléptica es una importante herramienta de evaluación de la calidad del ensilaje porque entrega información rápida y adicional que no se puede conseguir por los actuales métodos analíticos disponibles. Además, el ensilaje es un producto complejo ya que intervienen en forma simultánea una mezcla de compuestos volátiles. El ensilaje también puede ser evaluado a través del análisis sensorial, sin embargo, se requiere de un laborioso entrenamiento para lograr una evaluación objetiva, asimismo, la no existencia de estándares para este producto dificulta más aún su evaluación. En el presente estudio, los catadores evaluaron los atributos olor, color, humedad aparente y le proporcionaron una calificación general de cada muestra. Los catadores a pesar de tener una gran experiencia en la evaluación del ensilaje en el campo no detectaron diferencias entre los métodos evaluados, obteniendo evaluaciones extremas de los atributos para una misma muestra, se observó que los atributos olor y color fueron los más complicados de evaluar, no se pudo obtener homogeneidad en los resultados de los catadores.

Con respecto al tiempo de almacenamiento, en la composición nutritiva en el presente estudio se observaron cambios en los minisilos en los diferentes tiempos de aperturas evaluados. Dentro de los indicadores bromatológicos, la digestibilidad *in vitro* presentó disminución en el tiempo en los dos tipos de pradera y con incrementos de cenizas, siendo esta última detectada estadísticamente solamente en la pradera mejorada, mientras que la pradera sembrada se observó un leve incremento no estadísticamente significativo. Las cenizas nos indican la cantidad de materia inorgánica del producto, entre ellos los minerales. En el presente estudio, el aumento de cenizas podría explicarse por un daño a la pared celular como a la celulosa y hemicelulosa. Estudios Jaurena *et al.* (2010) han confirmado esta teoría con análisis de fibra detergente ácida y hemicelulosa, donde su disminución se encuentra relacionada con el incremento de la materia inorgánica. Por otra parte, se observaron cambios de la parte fermentativa con disminución lineal del ácido propiónico en los dos tipos de praderas. Estos cambios nos sugieren la continuidad de procesos enzimáticos y bioquímicos de microorganismos con la habilidad de soportar bajos

pH, como por ejemplo: *Lactobacillus* que al no encontrar los sustratos que normalmente son usados en su metabolismo, y utilicen algún otro ácido como el propionico. También, es posible la existencia de *Clostridium* por la presencia del ácido isobutírico en ensilajes premarchitos.

El proceso del ensilaje afectó a la composición lipídica del producto (Anexo 7.7 y 7.8), el material a ensilar para CD, CDA y PM de los dos tipos de praderas presentaron cambios en el producto ensilado, presentando aumento en la concentración EE, disminución del ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) y ácido oleico (C18:1) en los dos tipos de praderas ensiladas, pero la concentración del ácido linolénico se incrementó luego del proceso fermentativo en los ensilajes de CD, CDA y PM.

Resultados similares fueron encontrados en Arvidsson *et al.* (2009) con niveles altos de EE en ensilajes, disminución significativa del ácido palmítico y oleico en el ensilaje y el ácido linoléico tuvo un leve incremento pero no significativo en comparación del material fresco. Se sugieren realizar más ensayos de tiempo de almacenamiento, así analizar la existencia de cambios en la composición lipídica del producto ensilado, como también de sus demás componentes, evaluar la existencia de cambios microbiológicos en el tiempo de almacenamiento, realizando aperturas en las estaciones de verano, invierno y tener otros tiempos de apertura y mayor número de repeticiones para obtener una mayor aproximación de lo que sucede a nivel de producción de los campos de sur de Chile.

6. CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo a los objetivos planteados y con los resultados obtenidos bajo las condiciones en que se realizó el experimento, podemos concluir:

- Con el premarchito se obtuvo mejor calidad bromatológica (materia seca, digestibilidad *in vitro* y energía Metabolizable) para los dos tipos de praderas evaluados. El uso de aditivos presentó mejor calidad fermentativa, mostrando bajas concentraciones de los ácidos grasos volátiles, pH y nitrógeno amoniacal. Los métodos de conservación no provocan grandes cambios en extracto etéreo y los ácidos grasos de cadena larga, siendo al C18:2 (ácido linoléico) afectado por el método premarchito y corte directo más aditivo en la pradera mejorada disminuyendo su concentración.
- Cambios sobre algunos indicadores bromatológicos (decrecimientos en DIV e incrementos de CT) y fermentativos (decrecimiento de propiónico) en prolongados tiempos de almacenamiento nos indican que no se suspenden totalmente los procesos en la fase anaerobia como lo indica la literatura. Concluyendo que no sólo la fase fermentativa y otros factores (métodos, maquinarias, etc.) afectan a la materia prima utilizada, también largos tiempos de almacenamiento causaran daños detrimentales en la calidad nutritiva del ensilaje de pradera.
- No se encontraron interacciones relevantes en los factores estudiados.

7. ANEXOS

Anexo 7.1 Elaboración de los minisilos de pradera.

Anexo 7.1.1 Corte de la pradera por medio de segadora.



Anexo 7.1.2 Corte del material, manualmente 3 – 6 cm.



Anexo 7.1.3 Material fresco envasado en bolsas de polietileno con papel absorbente.



Anexo 7.1.4 Empaquetado al vacío por envasador doméstica



Anexo 7.2 Tabla de evaluación organoléptica de los ensilajes de pradera.

Nombre:		Fecha:									
INDICADOR	CARACTERÍSTICA	MUESTRA									
Color (Seleccione sólo una opción)	Verde Oliva	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Verde amarillento	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Verde oscuro	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Café claro	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Café oscuro/ casi negro	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Otros (especifique):	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Presencia de hongos:	SI ()	NO ()	SI ()	NO ()	SI ()	NO ()	SI ()	NO ()	SI ()	NO ()
Olor (Puede más de una opción)	Dulzón o acaramelado, a miel	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Ligeramente ácido	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Fuertemente ácido	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Alcohol	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Putrefacto /podrido	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Otros (especifique):	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
Humedad Aparente (Seleccione sólo una opción)	Exceso de agua	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Humedo	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Poco humedo	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Seco	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Otros (especifique):	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
Calificación General (Seleccione sólo una opción)	Excelente (7)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Muy bueno (6)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Bueno (5)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Regular (4)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Malo (3)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Muy malo (2)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
	Pésimo (1)	()	()	()	()	()	()	()	()	()	()
Observaciones:											

Anexo 7.3 Interacción de método por tiempo en proteína cruda del ensilaje de pradera sembrada.

Tiempo	Método		
	CD	CDA	PM
	PC		
240 d.	16,03 ay	17,23 a	16,63 a
270 d.	15,66 ay	16,26 a	15,46 a
300 d.	17,10 ax	17,30 a	15,67 b

PC: Proteína cruda. CD: corte directo, CDA: corte directo más aditivo y PM: premarchito. d. días. Letras a, b de manera horizontal y letras x, y de manera vertical indican diferencias significativas.

Anexo 7.4 Interacción de método por tiempo en proteína cruda del ensilaje de pradera mejorada.

Tiempo	Método		
	CD	CDA	PM
	PC		
240 d.	18,83 ax	18,00 ax	18,30 ax
270 d.	18,40 ax	18,70 ax	18,50 ax
300 d.	18,76 bx	17,93 bx	20,13 ax

PC: Proteína cruda. CD: corte directo, CDA: corte directo más aditivo y PM: premarchito. d. días. Letras a, b de manera horizontal y letras x, y de manera vertical indican diferencias significativas.

Anexo 7.5 Interacción de método por tiempo en ácido isobutírico del ensilaje de pradera mejorada.

Tiempo	Método		
	CD	CDA	PM
Isobutírico			
240 d.	0,00 ax	0,00 ay	0,00 ax
270 d.	0,00 ax	0,00 ay	0,00 ax
300 d.	0,00 ax	0,20 ax	0,20 ax

CD: corte directo, **CDA:** corte directo más aditivo y **PM:** premarchito. **d.** días. Letras **a, b** de manera horizontal y letras **x, y** de manera vertical indican diferencias significativas.

Anexo 7.6 Interacción de método por tiempo en extracto etéreo del ensilaje de pradera sembrada.

Tiempo	Método		
	CD	CDA	PM
Extracto etéreo			
240 d.	2,73 az	3,17 bx	3,57 ax
270 d.	3,37 ay	3,40 ax	3,17 ay
300 d.	3,43 ax	3,23 bx	3,00 cy

CD: corte directo, **CDA:** corte directo más aditivo y **PM:** premarchito. **d.** días. Letras **a, b** de manera horizontal y letras **x, y** de manera vertical indican diferencias significativas.

Anexo 7.7 Concentración del extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos de cadena larga en material fresco (n=4) y Ensilaje corte directo y corte directo más aditivo (n=36).

Variables	Pradera Sembrada		Pradera Mejorada	
	Fresco	Ensilaje	Fresco	Ensilaje
Extracto etéreo (%)	1,35 ± 0,07	3,22 ± 0,37	1,30 ± 0,14	4,06 ± 0,35
C16:0 (ácido palmítico %)	21,42 ± 0,16	19,76 ± 2,71	26,18 ± 2,14	20,04 ± 1,21
C18:0 (ácido esteárico %)	0,96 ± 0,31	0,87 ± 0,30	2,24 ± 0,06	1,65 ± 0,30
C18:1 (ácido oléico %)	3,20 ± 0,26	2,49 ± 0,56	6,56 ± 0,09	3,91 ± 0,78
C18:2 (ácido linoléico %)	11,42 ± 0,05	12,72 ± 0,89	13,57 ± 0,66	15,01 ± 1,25
C18:3 (ácido linolénico %)	63,00 ± 0,77	63,86 ± 3,57	51,45 ± 1,46	59,38 ± 3,02

Anexo 7.8 Concentración del extracto etéreo (base materia seca) y ácidos grasos de cadena larga en pradera premarchita (n=4) y ensilaje premarchito (n=18).

Variables	Pradera Sembrada		Pradera Mejorada	
	Premarchito	Ensilaje	Premarchito	Ensilaje
Extracto etéreo (%)	1,85 ± 0,21	3,24 ± 0,39	2,70 ± 0,00	3,92 ± 0,88
C16:0 (ácido palmítico %)	21,22 ± 0,39	20,25 ± 0,80	22,98 ± 1,60	20,88 ± 0,95
C18:0 (ácido esteárico %)	2,43 ± 0,42	1,38 ± 0,34	1,79 ± 0,49	1,70 ± 0,25
C18:1 (ácido oléico %)	4,08 ± 3,39	2,39 ± 0,68	4,18 ± 2,60	3,84 ± 0,89
C18:2 (ácido linoléico %)	12,40 ± 2,82	12,48 ± 0,87	12,66 ± 4,06	13,29 ± 1,19
C18:3 (ácido linolénico %)	59,87 ± 6,24	63,51 ± 1,43	58,39 ± 8,76	60,29 ± 2,18