



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Proyecto de Investigación previo
a la obtención del título de
Ingeniero Agropecuario.

Tema:

**“CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS DE ENSILAJE DE PASTO SABOYA
(*Panicum maximum*) CON LA INCLUSIÓN DE CASCARAS DE PIÑA (*Ananas
comosus*), MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) Y PLÁTANO (*Musa AAB*)”**

Autor:

Pedro Darío Cedeño Loja

Director:

Ing Zoot. Edwin Tapia Moreno

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Pedro Darío Cedeño Loja**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Pedro Dario Cedeño Loja
C.C. 171727083-7
AUTOR

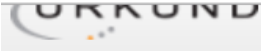
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. Edwin Tapia Moreno**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Pedro Darío Cedeño Loja**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado, **“CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS DE ENSILAJE DE PASTO SABOYA (*Panicum maximum*) CON LA INCLUSIÓN DE CASCARAS DE PIÑA (*Ananas comosus*), MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) Y PLÁTANO (*Musa AAB*)”** previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. Edwin Tapia Moreno
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICACIÓN DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Dando cumplimiento al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y a las normativas y directrices establecidas por el SENESCYT, el suscrito **Ing. Edwin Tapia Moreno** en calidad de Director del Proyecto de Investigación de Grado “**CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS DE ENSILAJE DE PASTO SABOYA (*Panicum maximum*) CON LA INCLUSIÓN DE CASCARAS DE PIÑA (*Ananas comosus*), MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) Y PLÁTANO (*Musa AAB*)**” de autoría del estudiante **Pedro Darío Cedeño Loja**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de 5%, el mismo que es permitido por el mencionado software y los requerimientos académicos establecidos.

	
Documento	PEDRO CEDEÑO ENSILAJES SABOYA SUBPRODUCTOS MICROBIOLOGIA.docx (D20877390)
Presentado	2016-06-15 10:12 (-05:00)
Presentado por	pedrodloj.cedeno@uteq.edu.ec
Recibido	etapia.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	todas la tesis Mostrar el mensaje completo 5% de esta aprox. 23 páginas de documentos largos se componen de texto presente en 5 fuentes.

Ing. Edwin Tapia Moreno
DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS DE ENSILAJE DE PASTO SABOYA (*Panicum maximum*) CON LA INCLUSIÓN DE CASCARAS DE PIÑA (*Ananas comosus*), MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) Y PLÁTANO (*Musa AAB*)” Presentado a la Comisión Académica de la Facultad de Ciencias Pecuarias como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario.

Aprobado por:

**Dr. José Tuarez Cobeña, MV
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

**Dra. Diana Vasco Mora , PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Ing. Adolfo Sánchez Laiño, MSc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2016

AGRADECIMIENTO

Le agradezco primeramente a Dios por darme la vida y por seguir luchando día a día, por darme fortaleza y la paciencia necesaria y sobre todo lograr mi más arduo deseo que es la culminación de mi carrera Universitaria.

Agradezco a mis Padres por estar pendientes y apoyarme en cada momento de mi vida.

Agradezco a mi esposa Cinthya Zambrano por estar apoyándome en cada momento y a mi precioso hijo Pedro Dylan Cedeño Zambrano.

Agradezco al Ing. Zoot. M.Sc. Ítalo Espinoza Guerra, ex Director del Proyecto de Investigación de Grado por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado que pueda terminar mis estudios con éxito.

PEDRO DARIO CEDEÑO LOJA

DEDICATORIA

Dedico este proyecto principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres, por ser los pilares más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuestos a escucharme y ayudarme en cualquier momento. Dedico a mi hijo quien ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para él.

Dedico a mi Tía Inés Estupiñán por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, fue mi apoyo incondicional para cumplir una meta en mi vida.

RESUMEN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional ubicado en la Finca Experimental “La María”, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), tuvo como objetivo establecer las características microbianas del ensilaje del pasto saboya (*Panicum máximum*) (PS) asociado con residuos agrícolas de piña (CP), maracuyá (CM) y plátano (CPL). Se utilizaron silos experimentales (PVC, capacidad de 3 kg) con un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, las variables evaluadas fueron: bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras. La inclusión de residuos agrícolas no influyó ($P>0.05$) en el contenido de bacterias totales en el ensilaje de pasto saboya de 30 días de corte. El mayor contenido ($P<0.05$) de bacterias ácido lácticas se presentó en el ensilaje con inclusión de cascara de piña (T2) y maracuyá (T3) atribuible al contenido de carbohidratos solubles de estos residuos. El ensilaje sin inclusión de residuos agrícolas (T1) reportó la mayor ($P<0.05$) proliferación de hongos demostrando una menor eficiencia de conservación. En la proliferación de levaduras se encontró un efecto similar entre todos los silajes, incluido el testigo ($P>0.05$), reportando valores bajos que indican una mejor estabilidad en la conservación.

Palabras clave: Pasto, ensilaje, bacterias, piña, maracuyá y plátano.

ABSTRACT

The research was conducted at the Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional located at the Experimental Farm "La Maria" Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), aimed to establish the microbial characteristics of silage saboya grass (*Panicum maximum*) (PS) associated with agricultural residues pineapple (CP), passion fruit (CM) and banana (CPL). The experimental silos (PVC capacity of 3 kg) were used in a completely randomized design with four replications. The variables evaluated were: total bacteria, lactic acid bacteria, fungi and yeasts. The inclusion of agricultural residues did not influence ($P > 0.05$) in the content of total bacteria in saboya grass silage cutting 30 days. The highest content ($P < 0.05$) bacteria Lactic acid was introduced in the silage including pineapple peel (T2) and passion fruit (T3) attributable to soluble carbohydrate content of these wastes. Silage without including agricultural residues (T1) reported the highest ($P < 0.05$) proliferation of fungi showing lower efficiency of conservation. The proliferation of yeast in a similar effect among all silages including the control ($P > 0.05$), reporting lower values indicating better preservation stability was found.

Keywords: Grass, silage, bacteria, pineapple, passion fruit and banana.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página.
Contenido	
PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
CERTIFICACIÓN DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
TABLA DE CONTENIDO	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE ECUACIONES	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
CÓDIGO DUBLIN	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
 CAPÍTULO I	 1
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1. Problema de investigación	2
1.1.1. Planteamiento del problema	2
1.1.2. Formulación del problema	3
1.1.3. Sistematización del problema.....	3
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Justificación.....	5

CAPÍTULO II	6
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1. Marco teórico	7
2.1.1. El ensilaje	7
2.1.1.1. Consideraciones técnicas del ensilaje	8
2.1.1.2. Silos experimentales o microsilos	8
2.1.1.3. Importancia del ensilaje	8
2.1.1.4. Aditivos para el ensilaje	9
2.1.1.5. Microbiología del ensilaje	11
2.1.1.5.1. Microorganismos benéficos - Bacterias que producen ácido láctico	11
2.1.1.5.2. Microorganismos indeseables	12
2.1.1.5.2.1. Levaduras	12
2.1.1.5.2.2. Mohos	12
2.1.2. Nutrientes Digestibles Totales (NDT)	13
2.1.3. Residuales de piña (Ananas comosus)	13
2.1.4. Residuales de maracuyá (Passiflora edulis)	14
2.1.5. Residuales de plátano (Musa AAB)	15
 CAPÍTULO III	 17
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	17
3.1. Localización	18
3.2. Desarrollo de la investigación	18
3.3. Técnicas y Procedimientos	19
3.4. Llenado de cajas	19
3.5. Siembra	20
3.6. Conteo de bacterias totales	20
3.7. Conteo de lactobacilos	21
3.8. Conteo de hongos y levaduras	21
3.9. Métodos de investigación	21
3.10. Fuentes de recopilación de información	22
3.11. Diseño de la investigación	22
3.1. Tratamiento de los datos	23

3.2.	Recursos humanos y materiales	23
CAPÍTULO IV.....		23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		23
4.1.	Resultados y discusión.	24
4.1.1.	Bacterias totales (BT).....	24
4.1.2.	Bacterias Acido Lácticas (BAL)	25
4.1.3.	Población de hongos.....	26
4.1.4.	Población de levaduras.....	27
CAPÍTULO V		29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		29
5.1.	Conclusiones	30
5.2.	Recomendaciones.....	31
CAPÍTULO VI.....		32
BIBLIOGRAFÍA		32
6.1.	Literatura citada.....	33
CAPÍTULO VII.....		38
ANEXOS		38
7.1.	Anexos.....	39
7.1.1.	Análisis de varianza de las variables estudiadas	39
7.1.2.	Imágenes de la investigación.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

		Página.
Tabla 1.	Composición química de la cáscara de piña.....	14
Tabla 2.	Composición química de la cáscara de maracuyá.....	15
Tabla 3.	Composición química de la cáscara de plátano.....	16
Tabla 4.	Características climatológicas de la Finca Experimental La María....	18
Tabla 5.	Análisis de Varianza ADEVA del diseño experimental.....	22
Tabla 6.	Descripción de los tratamientos.....	22
Tabla 7.	Bacterias totales del ensilaje de pasto (<i>Panicum maximum</i>) asociado con residuos agrícolas de piña (<i>Ananas comusus</i>) maracuyá (<i>Pasiflora edulis</i>) y plátano (<i>Musa AAB</i>).....	24
Tabla 8.	Bacterias ácido lácticas del ensilaje de pasto (<i>Panicum maximum</i>) asociado con residuos agrícolas de piña (<i>Ananas comusus</i>) maracuyá (<i>Pasiflora edulis</i>) y plátano (<i>Musa AAB</i>).....	25
Tabla 9.	Población de hongos del ensilaje de pasto (<i>Panicum maximum</i>) asociado con residuos agrícolas de piña (<i>Ananas comusus</i>) maracuyá (<i>Pasiflora edulis</i>) y plátano (<i>Musa AAB</i>).....	27
Tabla 10.	Población de levaduras del ensilaje de pasto (<i>Panicum maximum</i>) asociado con residuos agrícolas de piña (<i>Ananas comusus</i>) maracuyá (<i>Pasiflora edulis</i>) y plátano (<i>Musa AAB</i>).....	28

ÍNDICE DE ECUACIONES

	Página.
Ecuación 1. Modelo estadístico del diseño experimental.....	18
Ecuación 2. Determinación del número de colonias (NC).....	20
Ecuación 3. Determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC).....	20
Ecuación 4. Determinación del recuento final (RF).....	22

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página.
Anexo 1. Cuadrados medios, coeficientes de variación de la población de bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras.....	39
Anexo 2. Datos del laboratorio de campo originales.....	32
Anexo 3. Datos del laboratorio de campo transformados.....	34
Anexo 4. Preparacion de medios de cultivo y cajas petri.....	37
Anexo 5. Preparacion de diluciones en camara de flujo laminar.....	37
Anexo 6. Incubacion en camara de CO ₂	38
Anexo 7. Agitación de soluciones preparadas.....	38
Anexo 8. Conteo de colonias.....	39

CÓDIGO DUBLIN

Título:	CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS DE ENSILAJE DE PASTO SABOYA (<i>Panicum maximum</i>) CON LA INCLUSIÓN DE CASCARAS DE PIÑA (<i>Ananas comosus</i>), MARACUYÁ (<i>Passiflora edulis</i>) Y PLÁTANO (<i>Musa AAB</i>)					
Autor:	Pedro Dario Cedeño Loja					
Palabras clave:	Pasto	Ensilaje	Bacterias	Piña	Maracuyá	Plátano
Fecha de Publicación:						
Editorial:						
Resumen	La investigación se realizó en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional ubicado en la Finca Experimental “La María”, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), tuvo como objetivo establecer las características microbianas del ensilaje del pasto saboya (<i>Panicum máximo</i>) (PS) asociado con residuos agrícolas de piña (CP), maracuyá (CM) y plátano (CPL). Se utilizaron silos experimentales (PVC, capacidad de 3 kg) con un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, las variables evaluadas fueron: bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras. La inclusión de residuos agrícolas no influyó ($P>0.05$) en el contenido de bacterias totales en el ensilaje de pasto saboya de 30 días de corte. El mayor contenido ($P<0.05$) de bacterias ácido lácticas se presentó en el ensilaje con inclusión de cascara de piña (T2) y maracuyá (T3) atribuible al contenido de carbohidratos solubles de estos residuos. El ensilaje sin inclusión de residuos agrícolas (T1) reporto la mayor ($P<0.05$) proliferación de hongos demostrando una menor eficiencia de conservación. En la proliferación de levaduras se encontró un efecto similar entre todos los silajes, incluido el testigo ($P>0.05$), reportando valores bajos que indican una mejor estabilidad en la conservación. Abstract.- The research was conducted at the Laboratorio de					

	Rumiología y Metabolismo Nutricional located at the Experimental Farm "La Maria" Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), aimed to establish the microbial characteristics of silage saboya grass (<i>Panicum maximum</i>) (PS) associated with agricultural residues pineapple (CP), passion fruit (CM) and banana (CPL). The experimental silos (PVC capacity of 3 kg) were used in a completely randomized design with four replications. The variables evaluated were: total bacteria, lactic acid bacteria, fungi and yeasts. The inclusion of agricultural residues did not influence ($P > 0.05$) in the content of total bacteria in saboya grass silage cutting 30 days. The highest content ($P < 0.05$) bacteria Lactic acid was introduced in the silage including pineapple peel (T2) and passion fruit (T3) attributable to soluble carbohydrate content of these wastes. Silage without including agricultural residues (T1) reported the highest ($P < 0.05$) proliferation of fungi showing lower efficiency of conservation. The proliferation of yeast in a similar effect among all silages including the control ($P > 0.05$), reporting lower values indicating better preservation stability was found.
Descripción	67 hojas : dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM
URI:	

INTRODUCCIÓN

Durante los periodos secos se reduce la tasa de crecimiento y la calidad nutritiva de los pastos. Estas reducciones repercuten seriamente sobre la ganancia de peso y la reproducción de los animales, ya que estas características, en buena medida, son dependientes del uso del forraje como alimento. Lo que hace necesario buscar nuevas alternativas de alimentación durante el periodo seco del año, mediante el mejor uso de los materiales propios de la finca (1), el ensilaje brinda esta oportunidad, adicionalmente pueden integrarse materiales de calidad como residuales agrícolas o agroindustriales.

En los países tropicales se producen una gran variedad de frutas con potencialidades en la industria. La utilización de subproductos de frutas, originados del procesamiento de extracción de concentrados, surgen como una alternativa promisorio en la alimentación de rumiantes (2). Gran parte de estos subproductos se descartan en las proximidades de las industrias y pueden contaminar el ambiente, de esta forma el uso de estos materiales como alimento para animales contribuye a minimizar este impacto (3).

El uso de subproductos de frutas tropicales, mejora la calidad fermentativa de los ensilajes y promueve un mayor consumo y ganancia de peso gracias a su contenido de carbohidratos solubles y su composición química (3,4).

Para que el ensilaje sea económicamente viable se debe aprovechar las bacterias autóctonas presentes en el forraje, para que esto se logre se deben dar condiciones adecuadas como una baja capacidad tampón, un contenido de MS mayor a 20%, y una concentración de carbohidratos fermentables de 5 a 20% (5). Estas condiciones permiten la correcta proliferación de bacterias lácticas que reducen el pH y almacenan el alimento y obtienen las condiciones donde microorganismos como hongos y levaduras no pueden progresar, por lo tanto estos son indicadores de calidad del ensilaje (6).

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

En la elaboración de concentrados de frutas se generan varios subproductos o residuales agroindustriales, que dependiendo del fruto industrializado van del 30 al 50% en piña; 65 a 70% en maracuyá (2) y 40.5% en plátano (7) que, en valores absolutos representan una gran cantidad que puede generar molestias o gastos en la industria.

El ensilaje es una técnica de conservación que requiere de condiciones mínimas para un correcto desempeño, una de las mayores limitantes es la presencia de carbohidratos solubles.

Los hidratos de carbono solubles son sustratos fácilmente disponibles para el desarrollo de bacterias deseables, especialmente ácido lácticas, lo que permite la producción conveniente de ácido láctico y una reducción rápida de pH, una condición necesaria para la inhibición de la actividad proteolítica de las enzimas de las plantas y el desarrollo de bacterias no deseables, no obstante los pastos tropicales en la época de mejor valor nutritivo presentan niveles bajos de estos carbohidratos, por lo cual el ensilaje no se desarrolla de manera deseable, por lo cual el uso de aditivos es de vital importancia.

Los aditivos generan costos en la labor del ensilaje y de mayor manera si requieren de traslado o disponibilidad estacionaria, por lo cual es de interés conocer las características de materiales disponibles y de bajo costo para poder integrarlo a sistemas de almacenamiento de alimento para animales, especialmente para la época de escasez de alimentos, que es un problema visible y presente en los países tropicales.

1.1.2. Formulación del problema

¿Cuáles son las características microbianas del ensilaje de Pasto Saboya (*Panicum máximum*) con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano?

1.1.3. Sistematización del problema

- ¿Cuál es la producción de bacterias lácticas y bacterias totales en el ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano?
- ¿Qué crecimiento de levaduras existe en el ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano?
- ¿Qué presencia de hongos existe en el ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar las características microbianas del ensilaje de pasto saboya (*Panicum máximum*) con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento cuantitativamente de bacterias totales en ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano.
- Establecer el crecimiento cuantitativamente de bacterias Lácticas en ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano.
- Establecer cuantitativamente el crecimiento de Hongos en ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano.

- Determinar el crecimiento cuantitativamente de levaduras en ensilaje de pasto saboya con la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano.

1.3. Justificación

La conservación de forrajes mediante el ensilado emerge como una opción útil, fácil de implementar y de costo bajos, que consiste en una fermentación anaeróbica cuyos productos son los ácidos orgánicos láctico, acético y butírico. El ensilado de materiales de alto valor nutritivo durante los periodos de escasez de forraje, proporciona una fuente alimenticia muy beneficiosa para el desarrollo de los animales (1).

Las industrias alimenticias en el beneficio de las materias primas generan subproductos que pueden ser utilizados en la alimentación animal. Entre los subproductos más utilizados en la alimentación animal están los de la industria frutícola, pudiendo ser adicionados en el ensilaje como aditivos para mejorar los valores nutricionales y el consumo (8), ya que contienen altos valores de carbohidratos solubles $30.89 \pm 1.45\%$ en subproductos de piña (9); 19.38% en residuales de maracuyá (10) y 15.66% en cáscara de plátano (11).

El ensilaje de residuales agroindustriales de frutas está surgiendo como una alternativa a los cultivos tradicionales, con la ventaja de un bajo costo de adquisición del material a ensilar. Además, la utilización de estos residuales ayuda a minimizar el impacto del medio ambiente causado por la acumulación (12). La evidencia experimental sugiere que la adición de una fuente de carbohidratos solubles a los pastos tropicales durante el ensilaje, puede mejorar en gran medida la calidad final del ensilaje (13).

Es de trascendental importancia conocer el comportamiento de la adición de estos subproductos en el ensilaje de pasto saboya en términos de características microbianas ya que ensilajes con buena producción de bacterias lácticas y baja proliferación de hongos y levaduras son indicativos de buena calidad. Los ensilaje de pasto Saboya con inclusión de cascaras piña , maracuyá y plátano, pueden constituirse en una alternativa para la época de escases de forraje y el mayor aprovechamiento de los recursos agroindustriales.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco teórico

2.1.1. El ensilaje

Técnicamente el ensilaje, se define como un método de conservación de un recurso alimenticio, que está basado en la eliminación de aire (oxígeno) contenido en la masa de alimento, para promover la fermentación de azúcares a ácido láctico. Esta eliminación se debe a unas bacterias ácido-lácticas que causan un incremento de acidez, lo cual inhibe la degradación del ensilaje por enzimas vegetales (primariamente enzimas degradantes proteicas), especies indeseables de bacterias (enterobacteria, clostridia), levaduras, hongos, y las mismas bacterias ácido lácticas (14).

Para la utilización de estos subproductos en la alimentación animal se debe tener en cuenta la disponibilidad regional y la necesidad de su adición en la dieta, como una alternativa para periodos críticos del año (8). En los trópicos, tanto por tradición como por razones prácticas, el principal forraje conservado es de gramíneas (15).

Se debe considerar que el material ensilado no es de mejor calidad nutricional que el material del cual se origina, debido a que se utiliza como una técnica para conservar y no para mejorar el material vegetativo empleado (16).

Cowan (17), indica que cuando el uso del ensilaje resulta ser apropiado para el sistema de alimentación es indispensable que esta actividad se restrinja a forrajes que produzcan un alimento de buena calidad, que se ensile un gran volumen con un papel específico en el plan de alimentación, que combine diversos alimentos facilitando una mejor eficiencia en el uso del conjunto de nutrientes y que permita integrar el plan de alimentación con otras exigencias que deben cumplir los sistemas modernos de producción, como las garantías de calidad y de sustentabilidad.

Para que esta técnica sea apropiada para pequeños campesinos en el trópico, debe (5):

- Tener un bajo nivel de inversión;
- Emplear tecnologías simples;
- Ser confiable y constante;
- Utilizar equipos e insumos locales;
- No inducir riesgos ni ser peligrosa; y
- Aportar pronto ingresos importantes.

2.1.1.1. Consideraciones técnicas del ensilaje

Un tamaño de triturado entre dos y cuatro centímetros facilita el proceso de compactación que se considera uno de los factores importantes en el proceso de ensilaje para eliminar de manera rápida el oxígeno e iniciar la fermentación anaeróbica, además optimiza el proceso de alimentación -ingestión, regurgitación y rumia (15).

Aunque el pH del ensilaje tiende a reducir y estabilizar de forma rápida durante aproximadamente 3 a 7 días después de la cosecha, un periodo de 21 a 30 días ha sido ampliamente reportado como el tiempo necesario para la fermentación (18).

Durante la fermentación, el forraje se somete a una serie de procesos que pueden causar la pérdida de nutrientes a través de efluentes y gases, que son indeseables y deben ser evitados porque provocan la pérdida de la calidad del alimento. Las pérdidas causadas por la conservación inadecuada puede equivaler al 40% (18).

El período de mayor pérdida es durante la fermentación, principalmente cuando el forraje tiene un alto contenido de humedad, lo que provoca la lixiviación de nutrientes en forma de efluentes y el desarrollo de microorganismos que causan fermentaciones indeseables (19).

2.1.1.2. Silos experimentales o microsilos

Hay muchos factores que influyen en la calidad del ensilaje, lo que hace prácticamente imposible que los estudios en silos agrícolas convencionales. Por lo tanto, los esfuerzos están dirigidos a la búsqueda de silos de laboratorio que permiten el máximo control de los factores que interfieren con el proceso de fermentación. (20).

2.1.1.3. Importancia del ensilaje

Entre los factores que contribuyen para la baja productividad pecuaria, se destaca la estacionalidad en la oferta de alimento proveniente de los pastizales, por la alternancia del periodo de gran disponibilidad cualitativa y cuantitativa de forrajes (lluvioso), con el periodo en que el crecimiento de las plantas es reducido (seco). Varias son las propuestas disponibles, las mismas que son coherentes con el nivel de explotación pecuaria de cada propiedad, la conservación en forma de heno o ensilaje surgen como estrategias, para aprovechar al máximo la elevada productividad forrajera en las regiones de clima tropical (21).

El papel del ensilaje en estos cambios en la zona tropical no ha sido muy claro. Generalmente se le ha asignado al ensilaje el mismo papel que ha tenido en zonas templadas, o sea permitir almacenar el excedente de forraje durante la época de crecimiento activo de las plantas para su distribución en la poca de escasez. Los resultados de este tipo de prácticas han sido generalmente poco alentadores. Más, recientemente se ha ensayado usar cultivos especiales destinados al ensilaje, empleándolos a su vez para aumentar la productividad de la tierra; este tipo de modalidad parece ser más prometedora (17).

Las ventajas del uso del ensilaje se pueden resumir como sigue (17):

- Como una reserva para épocas de sequía, lo que implica ensilar hierba o cultivos bajo condiciones óptimas y almacenarlos por períodos de más de un año. Este ensilaje se utiliza solamente en períodos de extrema escasez de alimento.
- Para aumentar la productividad, como empleo tradicional del ensilaje para aumentar la reserva de alimento del ganado. Su almacenaje es de menos de un año.
- Para facilitar el manejo de forrajeras y de cultivos donde la cosecha de forraje es para ensilar, también facilita otras prácticas de manejo.
- Para usar mejor el excedente de producción; este exceso, en general, es considerado un desperdicio y el ensilaje sirve para almacenar el excedente y evitar pérdidas por efectos de madurez o deterioro *in situ*.
- Para equilibrar el contenido de nutrientes de la dieta, el ensilaje permite suplir nutrientes en períodos en que la ración estacional muestra deficiencias. Por ejemplo, combinando el uso del ensilaje de leguminosas para complementar el ensilaje de maíz, o combinando el ensilaje de maíz con el uso de praderas de leguminosas o con el uso de ensilajes que tengan distintos valores de contenido en fibra.
- Para permitir el almacenaje de alimentos muy perecederos ya que el proceso del ensilaje permite conservarlos por un largo período; por ejemplo, el ensilaje de subproductos muy acuosos.

2.1.1.4. Aditivos para el ensilaje

La elección del aditivo dependerá del modo de actuar de su ingrediente activo, la efectividad general, el tipo de forraje, facilidad para su manejo, aplicación, precio y su disponibilidad (16).

Existe una gran variedad de aditivos entre los que encontramos biológicos (inoculantes de microorganismos benéficos homo o heterofermentativos), enzimáticos, fuentes de carbohidratos solubles (melaza y residuales de frutas tropicales), fuentes de almidón (yuca), fuentes de nitrógeno no proteico (urea, gallinaza) y ácidos como el fórmico y formaldehído (22).

La combinación de homo y cepas bacterianas heterolácticas tiene como objetivo obtener un efecto sinérgico y evitar pérdidas fermentativas durante todo el proceso de ensilado (18), no obstante según estos mismos autores, el aditivo microbiano era ineficaz para reducir las pérdidas fermentativas y mejorar la composición química o la estabilidad aeróbica del ensilaje de maíz. Los ensilajes mostraron un buen patrón de fermentación y reducción de pérdidas en todos los períodos de almacenamiento, y se pueden utilizar de 30 días después del ensilado (18).

Inclusive el uso de benzoato de sodio e inoculantes que contienen *Lactobacillus plantarum* y *Propionibacterium* o *Lactobacillus buchneri* no reducen las pérdidas de materia seca durante la fermentación o favorecen la estabilidad aeróbica del ensilaje de pasto marandu con alta concentración de humedad (19).

Algunos aditivos microbianos son ineficaces para promover el cambio de la ruta etanol en la fermentación y reducir las pérdidas en el proceso, causando un aumento en la producción de gas y las pérdidas de materia seca total. Aditivos que contienen bacterias heteroláctica (23).

Aditivos que contienen formato de ácido fórmico y de amonio son eficientes en la reducción de las pérdidas y aumentan la digestibilidad *in vitro* de materia orgánica de ensilajes, sin embargo, se requieren nuevos experimentos para demostrar sus efectos en el ensilaje. El inoculado con dos cepas bacterianas de *P. acidilactici* y *L. plantarum* mejoró la digestibilidad *in vitro* de materia orgánica y reduce las pérdidas de gas, pruebas de que la combinación de cepas bacterianas, siempre que no pongan en peligro las pérdidas aeróbicamente, puede ser una opción en el ensilaje (24).

Por su parte Pompeu *et al.*, (4) indican que la utilización de residuales de piña y maracuyá mejoran la calidad fermentativa y química del ensilaje de pasto elefante con niveles de hasta el 20% de inclusión.

2.1.1.5. Microbiología del ensilaje

La microflora del ensilaje juega un papel clave para el éxito del proceso de conservación. Puede ser dividida en dos grupos principales: los microorganismos benéficos y los indeseables. Los microorganismos benéficos son las bacterias lácticas que conservan el ensilaje en condiciones aeróbicas. Los indeseables son aquellos organismos que causan el deterioro anaeróbico (p. ej. *clostridios* y *enterobacterias*) o deterioro aeróbico (ej. levaduras, bacilos, *Listeria* sp. y mohos). Muchos de estos organismos indeseables no sólo reducen el valor nutritivo del ensilaje sino que pueden además afectar la salud de los animales o alterar la calidad de la leche, o ambas (p. ej.: *Listeria* sp., *clostridios*, hongos y bacilos) (25).

2.1.1.5.1. Microorganismos benéficos - Bacterias que producen ácido láctico

Las bacterias lácticas pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales. Su población natural crece significativamente entre la cosecha y el ensilaje. Esto se explica por la reactivación de células latentes y otras no cultivadas, y no por la inoculación de las máquinas cosechadoras o por el simple crecimiento de la población original (25).

Stefanie *et al.*, (25), indica que los principales géneros que se presentan en el ensilaje son: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un rango de temperaturas que oscila entre 5 y 50 °C, con un óptimo entre 25° y 40 °C. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores menores a 4, dependiendo de las especies y del tipo de forraje.

Tomando en cuenta el metabolismo de los azúcares, las bacterias lácticas se clasifican como homofermentadores obligatorios, heterofermentadores facultativos o heterofermentadores obligatorios. Los homofermentadores obligatorios producen más de 85% de ácido láctico a partir de hexosas (azúcares C6) como la glucosa, pero no pueden degradar las pentosas (azúcares C5) como la xilosa. Los heterofermentadores facultativos también producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol. Los heterofermentadores obligatorios degradan las hexosas y las pentosas, pero se distinguen de los homofermentadores en que degradan las hexosas en proporciones equimolares de ácido láctico, CO₂, ácido acético y/o etanol (25).

La inoculación con microorganismos homolácticos (*Streptococcus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Pediococcus sp.* y *L. plantarum*) conducen a la producción de ácido láctico durante la fermentación, la reducción de pH y el control de la proliferación de bacterias indeseables (Yang *et al.*, 2010 citados por (18).

Microorganismos heterolácticos (*L. buchneri*, *L. brevis*, *Propionibacterium acidipropionici*) producen otros ácidos orgánicos, además de ácido láctico, y se utilizan para inhibir el crecimiento de la levadura y garantizar una mayor estabilidad del ensilaje aeróbico después de la apertura silos (18).

2.1.1.5.2. Microorganismos indeseables

2.1.1.5.2.1. Levaduras

Las levaduras son microorganismos eucarióticos, anaeróbicos facultativos y heterotróficos. En todo ensilaje, tanto la actividad de levaduras anaeróbicas como aeróbicas son indeseables ya que producen como resultado de la fermentación de los azúcares, etanol y dióxido de carbono, degradando el ácido láctico y evitando el descenso del pH para la conservación, además, deteriora la calidad de la leche en vacas productoras. La supervivencia de las levaduras durante el almacenaje depende de la severidad de la anaerobiosis y la concentración de ácidos orgánicos (25).

2.1.1.5.2.2. Mohos

Stefanie *et al.*, (25), señala que los mohos son organismos eucarióticos. Es fácil identificar un ensilaje infestado por mohos debido a los filamentos de diversos colores y de gran tamaño que producen muchas especies. Los mohos se desarrollan en cualquier sitio del ensilaje donde encuentren oxígeno, inclusive solo trazas. En un buen ensilaje eso ocurre sólo al inicio del almacenamiento y se restringe a la capa exterior de la masa ensilada, pero durante el deterioro aeróbico todo el ensilaje puede ser invadido por mohos.

Las especies que se han identificado más frecuentemente en el ensilaje pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma* (Pelhate, 1977; Woolford, 1984; Frevel *et al.*, 1985; Jonsson *et al.*, 1990 (25). Los mohos no sólo disminuyen el valor nutritivo y la palatabilidad del ensilaje sino que también son un riesgo para la salud de los animales y las personas.

Para un efecto práctico con la inoculación de muestras de ensilaje en medios de cultivo de se observa que colonias rojas se consideran positivos para bacterias ácido lácticas, independientemente del tamaño o la profundidad de color, las colonias pequeñas con bordes azul-verde se consideran levaduras, mientras que las grandes colonias oscuras, con bordes borrosos, se consideran hongos (26).

2.1.2. Nutrientes Digestibles Totales (NDT)

Este parámetro se calcula con la sumatoria de la digestibilidad de la proteína bruta, fibra detergente neutra, carbohidratos no fibrosos y extracto etéreo. Se considera como una medida de la proporción de la digestibilidad de los nutrientes principales del alimento excluyendo los minerales (27).

2.1.3. Residuales de piña (*Ananas comosus*)

La piña es originaria de América del Sur, se cultiva en todas las regiones tropicales del mundo su fruto es compuesto y se emplea para una gran variedad de productos industrializados como, conservas, jugos, mermeladas, entre otras (28). De la piña solo el 22.5% de material producido por la planta corresponde a la pulpa del fruto, que es comestible y utilizado en la industria (2).

En el Ecuador existen 7132 Ha con una producción de 126554 toneladas métricas, de las cuales la provincia de Los Ríos representan el 8% respectivamente (29).

Los rastrojos de piña pueden ser suministrados a los rumiantes, tanto frescos como ensilados, debido a que presentan niveles intermedios de nutrimentos respecto a los pastos frescos y a los ensilados (maíz, soya, pasto, asociaciones maíz + soya) utilizados en la alimentación de rumiantes en condiciones tropicales. Además, poseen niveles de energía mayores a los de las pasturas tropicales, pero comparables a los forrajes de zonas templadas, al adicionar fuentes de carbohidratos como la melaza y la pulpa de cítricos deshidratada se mejora el perfil energético del material, lo que supera el contenido energético de ensilados de maíz (30).

El ensilaje también ha sido una técnica muy útil para almacenar desechos y subproductos tales como las cáscaras de piñas con pastos de diferentes características, de acuerdo a la región y disponibilidad (17).

La composición química de la cáscara de piña se presenta en la Tabla 1

Tabla 1. Composición química de la cáscara

Elemento	% en base seca
Materia seca (MS)	13.91
Materia orgánica (MO)	95.27
Materia inorgánica (MI)	1,60±0,07
Extracto etéreo (EE)	0.15±0.15
Proteína Bruta (PC)	3.37±0.04
Fibra Detergente Neutra (FDN)	35.06±0.77
Fibra Detergente Acida (FDA)	16.79±0.67
Carbohidratos solubles (CS)	30.89±1.45

Fuente: Azevêdo *et al.*, (10); Sousa y Correia (9).

En el caso de la pulpa, Sousa *et al.*, (31), señalan una composición de 16.84% de MS, 1.05% de PB, 35.06% de FDN, 16.79% de FDA, 0.53 a 1.6% de cenizas y 50.30% de azúcares reductores totales.

2.1.4. Residuales de maracuyá (*Passiflora edulis*)

De la maracuyá se utiliza el jugo que es una fuente importante de ácido cítrico para la industria de refrescos, además forma parte de la cadena de producción de cremas alimenticias, dulces cristalizados, confites, sorbetes, licores, néctares, jaleas y concentrados (32).

En el país existen plantadas 3888 Ha de maracuyá, 51% se encuentra en edad productiva y tiene un rendimiento de 7274 TM. En la provincia de los Ríos 454 ha y un rendimiento de 643 TM (33).

En la industria se generan residuales (cáscaras y semillas) que representan alrededor de 65 a 70%, la cáscara en promedio 53% del peso de la fruta (34).

La composición química de este residual agroindustrial sufre una variación de acuerdo con los métodos y la eficiencia del procesamiento, las variedades de maracuyá y las proporciones de cáscaras y semillas que contenga (2). La composición química de la cáscara de maracuyá se presenta en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Composición química de la cáscara de maracuyá

Elemento	% en base seca
Materia seca (MS)	10.78
Materia orgánica (MO)	90.10
Materia inorgánica (MI)	9.90
Extracto etéreo (EE)	2.50
Proteína Bruta (PC)	13.4
Fibra Detergente Neutra (FDN)	59.00
Fibra Detergente Acida (FDA)	49.20
Carbohidratos solubles (CS)	19.38

Fuente: Viera *et al.*, (35); Da Cruz (36); Azevêdo *et al.*, (10).

2.1.5. Residuales de plátano (*Musa AAB*)

El cultivo de plátano tiene un rol importante en el sector rural como fuente de ingresos a nivel de fincas, y en el sector urbano como fuente de alimento de gran valor energético. Se cultiva en casi todos los países tropicales, se considera un alimento de precio accesible, constituye un alimento básico en la dieta de muchos países (37).

En la industrialización del plátano, Castellanos y Lucas (7), explican que el porcentaje de cáscara en el fruto representa el 40.5% pero difieren negativa o positivamente entre variedades. La composición de la cáscara de plátano se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Composición química de la cáscara de plátano

Elemento	% en base seca
Materia seca (MS)	78.75
Materia orgánica (MO)	86.62
Materia inorgánica (MI)	13.38
Extracto etéreo (EE)	8.30
Proteína Bruta (PC)	9.13
Fibra Detergente Neutra (FDN)	50.15
Fibra Detergente Acida (FDA)	28.67
Carbohidratos solubles (CS)	15.66

Fuente: Monção *et al.*, (11); Valdivié *et al.*, (38).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional ubicado en la finca experimental “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) situada en el km 7 de la Vía Quevedo – El Empalme, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas 01° 06’ de latitud Sur y 79° 29’ de longitud Oeste. A una altura de 73 msnm. En la Tabla 4 se presenta las condiciones meteorológicas.

Tabla 4. Características climatológicas de la Finca Experimental La María

Parámetros	Promedio
Temperatura °C	25.47
Humedad relativa, %	85.84
Precipitación, anual. Mm	2223.78
Heliofanía, horas/ luz /año	898.77
Evaporación, promedio anual (%)	78.30
Zona ecológica	bh – T
Topografía	Ligeramente Ondulada

FUENTE: Departamento Agrometeorológico del INIAP, 2014.

ELABORADO: Autor

3.2. Desarrollo de la investigación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional (RUMEN), en las instalaciones de la finca experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, continuando con una serie de procesos que se especifican a continuación:

El forraje de pasto Saboya que se utilizó en esta investigación fue adquirido en las parcelas establecidas en la finca experimental “La María” y la inclusión de cascaras de piña, maracuyá y plátano se los obtuvo de las agroindustrias de la zona.

El proceso del ensilado se lo realizó en las instalaciones del laboratorio de Rumiología, en microsilos elaborados con tubos de PVC con una longitud de 30 cm por 10 cm de diámetro, los mismos que tuvieron una capacidad de almacenamiento de 3 kg de la mezcla de forraje de pasto saboya con la inclusión de cascaras, residuos de las agroindustrias.

Para esta investigación se utilizaron 60 microsilos de laboratorio, correspondientes a los 4 tratamientos y 4 réplicas.

Para el llenado de los microsilos, el pasto Saboya y las cáscaras de piña, maracuyá y plátano fueron picados en partículas pequeñas con la ayuda de un molino mecánico para luego pesar las cantidades descritas de los respectivos tratamientos hasta completar la capacidad de 3 Kg, posteriormente con la ayuda de una prensa manual se fue compactando para generar un ambiente anaeróbico en los microsilos.

Una vez cumplido el tiempo de fermentación anaeróbica se procedió a realizar la apertura de los microsilos, se percibió su calidad aromática producto de una buena fermentación, luego se procedió a extraer de la parte media del microsililo una muestra de 10 g que se colocó en un recipiente plástico de 125 ml para posteriormente ubicarlo en el matraz. Las soluciones estas fueron: 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 10^{-8}

3.3. Técnicas y Procedimientos

Preparación de medios de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa, Agar MRS y Agar Nutritivo
La preparación de estos medios de cultivo se la realizó en matraces con agua destilada, los mismos que eran puestos en calentadores para depositarles el medio de cultivo antes mencionado con una dosis de 70 gr por litro de agua, para el Agar Sabouraud se le adicionó una capsula de acromaxfenicol y una capsula de tetraciclina, para el Agar MRS también se utilizó 70 gr. por litro de agua; en cuanto al Agar Nutritivo la dosis fue de 23 gr. por litro de agua, una vez realizado este proceso se colocó un agitador magnético a cada uno de los matraces, luego fueron llevados a los calentadores a una temperatura de 121 °C y se los agitó a 1200 rpm durante un lapso de 5 horas.

3.4. Llenado de cajas

El llenado de las cajas Petri se lo realizó en la cámara de bioseguridad vertiendo desde los matraces con los medios indicados un aproximado de 15 ml evitando que se hagan burbujas en las cajas.

3.5. Siembra

La muestra se extrajo de los silos, una vez cumplido el periodo de 30 días se tomó 10 gr. de muestra los cuales fueron tomados del centro del silo, los mismos que se depositaron en la solución de NaCl estéril al 0.9% (w v-1) previamente preparada, se tomó 1ml de esta solución con la micro pipeta el mismo que era depositado en tubos de ensayo los cuales contenían 9 ml de NaCl para luego efectuar las diluciones respectivas en serie (10^{-4} a 10^{-8}). Una vez listas las diluciones se inició con la labor de siembra en la cámara de bioseguridad donde estaban listas las cajas Petri a las mismas que se las inoculó con la dilución mencionada de la cual se tomaba 50 microlitros y se depositaban en las cajas distribuidos homogéneamente. Terminado este proceso se retiraban las cajas y se las sellaba con cinta “parafilm” en la cual se rotulaba para llevarlas a la estufa.

3.6. Conteo de bacterias totales

Terminado el periodo de incubación de 120 horas se procedió a retirar las cajas Petri de la estufa de CO₂ y luego provino la toma de datos, el conteo se lo realizó visualmente y con la ayuda de un marcador se cuantificaron las colonias presentes en las mismas.

$$NC = (CA + CM + CB) \times 65 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

NC: Número de colonias.

CA: Cuadrante con carga alta.

CM: Cuadrante con carga media.

CB: Cuadrante con carga baja.

Para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) se empleó la ecuación:

$$UFC = NC \times FD \times MS \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Dónde:

UFC: Unidades formadoras de colonias.

NC: Numero de colonias.

FD: Factor de dilución.

MS: ml de la muestra sembrada.

3.7. Conteo de lactobacilos

Pasado las 48 horas de incubación se procedió a retirar las cajas Petri de la estufa y luego se inicio la toma de datos, el conteo se lo realizó visualmente y con la ayuda de un marcador se cuantificaron las colonias presentes en las mismas.

3.8. Conteo de hongos y levaduras

El periodo de incubación para hongos y levaduras duro 120 horas, pasado este lapso de tiempo se procedió a retirar las cajas Petri de la estufa y luego, el conteo se lo realizó visualmente y con la ayuda de un marcador se cuantificaron las colonias presentes en las mismas.

$$RF = \frac{CT \times 100}{V} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Donde:

RF: Recuento final

CT: Conteo total de colonias de mohos y levaduras presentes en la superficie de la membrana

V: Volumen sembrado (ml)

3.9. Métodos de investigación

El método de investigación empleado fue el Experimental donde se evaluaron el efecto del crecimiento de bacterias lácticas, bacterias totales, levaduras y hongos (variables) en

ensilaje del pasto Saboya con la adición de residuales agroindustriales de piña, maracuyá y plátano (tratamientos).

3.10. Fuentes de recopilación de información

La información se obtuvo de fuentes primarias de indagación, se tomaron datos directamente del efecto de los tratamientos sobre las variables estudiadas, además se contrastaron los resultados con la literatura existente, especialmente de revistas indexadas y repositorios oficiales, considerándose estas como fuentes secundarias de información.

3.11. Diseño de la investigación

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), cada unidad experimental fue conformada por un silo experimental (PVC capacidad 3 kg), constituyendo un total de 16 unidades experimentales. El modelo lineal del diseño experimental fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Dónde:

Y_{ij} : Valor de la variable de respuesta

μ : Media general

α_i : Efecto del tratamiento

ε_{ij} : Error experimental

En la tabla 5 se presenta el Análisis de varianza.

Tabla 5. Análisis de Varianza (ADEVA)

Fuente de Variación	Grados de libertad	
Tratamientos	$t-1$	3
Error experimental	$t(r-1)$	12
Total	$tr-1$	15

ELABORADO: AUTOR

En la Tabla 6, se muestra la descripción de los tratamientos.

Tabla 6. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Descripción	Código
T1	Pasto saboya 100%	PS 100%
T2	Pasto saboya 85% + cáscara de piña 15%	PS 85% + CP 15%
T3	Pasto saboya 85% + cáscara de maracuyá 15%	PS 85% + CM 15%
T4	Pasto saboya 85% + cáscara de plátano 15%	PS 85% + CPL 15%

ELABORADO: AUTOR

3.1. Tratamiento de los datos

El análisis de datos se realizó mediante el estudio de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), con la utilización del paquete estadístico SAS (40).

3.2. Recursos humanos y materiales

Talento humano que contribuyó en la realización del presente proyecto de investigación:

- Coordinador del Laboratorio RUMEN Ing. M.Sc. Gustavo Quintana Zamora.
- Director del proyecto de investigación Ing. Edwin Tapia Moreno
- Estudiante Pedro Darío Cedeño Loja.
- Asistente de laboratorio Sr. Wilson San Lucas Franco.

Se utilizaron los siguientes materiales, equipos y reactivos:

Material Vegetativo

- Forraje de Pasto Saboya (*Panicum maximum*) 100 kg
- Cascara de piña (*Ananas comosus*) 40 kg
- Cascara de maracuyá (*Passiflora edulis*) 40 kg
- Cascara de plátano (*Musa AAB*) 40 kg

Materiales de Oficina

- Libro de campo
- Marcadores
- Lápices
- Computadora
- Impresora

Materiales de Laboratorio

- | | |
|---------------------------------|---------------------|
| • Fundas plásticas y de papel | • Balanza analítica |
| • Cajas Petri | • Balanza digital |
| • Barras de agitación magnética | • Gasas |
| • Matraz | • Piola de algodón |
| • Tubos de ensayo | • Azas |

- Tijeras
- Papel para film
- Probeta de 1000 ml
- Mecheros de Bunsen
- Guantes descartables
- Mascarillas
- Algodón
- Papel de aluminio
- Libreta de campo
- Envases plásticos de muestra para orina de 100 mL
- Detergente
- Esponja
- Marcadores permanentes
- Bandejas de aluminio
- Pipeta de 50 y 1000 μmL
- Gradillas
- Papel periódico

Equipos

- Estufa Memmert
- Estufa de CO_2
- Balanza
- Balanza analítica
- Calentador agitador
- Maquina picadora de pasto
- Potenciómetro
- Autoclave
- Prensa para microsilos
- Cámara de bioseguridad o de flujo laminar
- Contador de unidades formadoras de colonias UFC

Reactivos

- Agar nutritivo
- Agar sabouraud dextrosa
- Agar de M.R.S
- Agua destilada
- Buffer pH 7
- Buffer pH 4
- Buffer pH 10
- Alcohol 98°
- Solución de NaCl estéril al 9%

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados y discusión.

4.1.1. Bacterias totales (BT)

La Tabla 7, muestra que los tratamientos T1; T2 y T3 ($0,76 \cdot 10^{-8}$ UFC mL⁻¹) no presentan diferencias estadísticas ($P>0,05$), sin embargo estos difieren ($P<0,05$) con el tratamiento T4 ($0,13 \cdot 10^{-8}$ UFC mL⁻¹) es mejor tratamiento para la conversación de ensilaje en (BT)

Tabla 7. Bacterias totales de ensilaje pasto (*Panicum maximum*) con la inclusión de cascara de piña (*Ananas comusus*) maracuyá (*Pasiflora edulis*) y plátano (*Musa AAB*).

Variable	Tratamientos				EEM	P>
	T1 100% PS	T2 PS 85% + CP 15%	T3 PS 85% + CM 15%	T4 PS 85% + CPL 15%		
Bacterias Totales	0,76 ^a	0,76 ^a	0,76 ^a	0,13 ^b	0,85	0,0007

PS: Pasto saboya; CP: Cáscara de piña; CM: Cáscara de maracuyá; CPL: Cáscara de plátano; EEM: Error estándar de la media; P<: Cáscara de plátano, solución que se utilize 10^{-8} . Los promedios con letras diferentes presentan diferencia estadística significativas según la prueba de Tukey ($p\leq 0,05$).

Estos valores fueron inferiores a los citados por Parraga et al, (41) quienes evaluaron las Características fermentativas y microbianas del ensilaje de pasto king grass morado, asociado con varias concentraciones de cáscaras de maracuyá ($0,98$ UFC mL⁻¹) la características es (alto porcentaje de humedad) y edad del pasto (42 días de corte).

Rosado et al, (42), en un trabajo similar sobre el efecto de la aplicación de inoculantes sobre las característica microbianas a los 30 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mayz* L), obtuvo un valor de $0,46 \log$ UFC g⁻¹ esto siendo inferiores al trabajo de investigación. Narváez et al, (43) determinaron de igual manera a los 60 días de fermentación en el ensilaje de maíz forrajero (*Zea mays* L), valores menores ($0,98 \log$ UFC g⁻¹ y $1,01 \log$ UFC g⁻¹) demostrando un incremento respecto al tiempo de almacenamiento, cabe señalar que a partir de los 30 días el ensilaje inicia un proceso de estabilización microbiana que logra su conservación, que está sujeta al incremento de ácido láctico.

4.1.2. Bacterias Ácido Lácticas (BAL)

De acuerdo a la Tabla 8, el promedio de bacterias ácido lácticas (lactobacilos) a los 30 días después de la elaboración del microsilo, si registró diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P < 0,05$), siendo los tratamientos T2 y T1 (pasto saboya con inclusión de cáscara de piña y pasto saboya) quienes alcanzaron el mayor promedio (0,84 y 0,66 UFC mL⁻¹, respectivamente).

Tabla 8. Bacterias ácido lácticas de ensilaje pasto (*Panicum maximum*) con la inclusión de cascara de piña (*Ananas comusus*) maracuyá (*Pasiflora edulis*) y plátano (*Musa AAB*).

Variable	Tratamientos				EEM	P<
	T1 100% PS	T2 PS 85% + CP 15%	T3 PS 85% + CM 15%	T4 PS 85% + CPL 15%		
BL	0,66 ^a	0,84 ^a	0,48 ^{ab}	0,11 ^{ab}	0,70	0,0034

PS: Pasto saboya; CP: Cáscara de piña; CM: Cáscara de maracuyá; CPL: Cáscara de plátano; EEM: Error estándar de la media; P<: Cáscara de plátano, solución que se utilizó 10⁻⁷. Los promedios con letras diferentes presentan diferencia estadística significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

La superioridad en la población de (BAL) en T2 y T1 (0,84 y 0,66 log⁻⁷ CUF g⁻¹), podría deberse a que comparativamente tienen valores superiores de carbohidratos solubles que favorecieron la proliferación de este tipo de microorganismos; la literatura indica valores de 30,80% en la cáscara de piña; 19,38% en la cáscara de maracuyá y 15,66% en la cáscara de plátano (9,10,11). Los resultados fueron superiores a los reportados por Orozs *et al*, (44), quienes estudiaron el estado microbiológico estabilidad aeróbica y fermentación ensilaje de maíz sellado con una capa de barrera de oxígeno de polietileno con valores de 0,75 y 0,70 log 10 CUF g⁻¹ que demuestra que el método de almacenamiento tiene influencia sobre la actividad de las bacterias lácticas.

Rosado *et al*. (42), a los 30 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mayz L*), tuvieron valores de 0,96 log UFC g⁻¹ y 0,96 log UFC g⁻¹, superiores a los reportaron en la presente investigación, el maíz es la gramínea más ensilada en el mundo debido a su alta capacidad de conservación, gracias a la proliferación de bacterias lácticas, hecho corroborado por Narváez *et al*, (43) a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mays L*), donde obtuvieron 0,92 UFC mL⁻¹ y 0,96 UFC mL⁻¹, existiendo una diferencia con respecto al tiempo de conservación.

4.1.3. Población de hongos

En la Tabla 9, se observa que los tratamientos T3 y T4 registran los menores valores para la población de hongos a los 30 días después de la elaboración de microsilos (0,11 UFC mL⁻¹) una nueva conservación, mientras los mayores valores de concentraciones de hongos fueron reportadas en los tratamientos T2 y T1 (0,84 y 0,73 UFC mL⁻¹),

Tabla 9. Población de hongos de ensilaje de pasto (*Panicum maximum*) con la inclusión de cascara de piña (*Ananas comusus*) maracuyá (*Pasiflora edulis*) y plátano (*Musa AAB*).

Variable	Tratamientos				EEM	P<
	T1 100% PS	T2 PS 85% + CP 15%	T3 PS 85% + CM 15%	T4 PS 85% + CPL 15%		
Hongos	0,73 ^a	0,84 ^a	0,11 ^b	0,11 ^b	1,14	0,001

PS: Pasto saboya; CP: Cáscara de piña; CM: Cáscara de maracuyá; CPL: Cáscara de plátano; EEM: Error estándar de la media; P<: Cáscara de plátano, solución que se utilizó 10⁻⁶. Los promedios con letras diferentes presentan diferencia estadística significativas según la prueba de Tukey (p<=0,05).

Se demuestra el antagonismo entre microorganismos, ya que los hongos proliferan en rangos de pH superiores a la acidez producida por los *Lactobacillus*, los valores obtenidos fueron menores a los reportados por Rosado *et al*, (42), al estudiar el efecto de la aplicación de inoculantes sobre las características microbianas a los 30 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mays*), donde obtuvieron 0,34 log UFC g⁻¹ y 0,14 log UFC g⁻¹, el maíz para ensilaje posee buenas características de almacenamiento no obstante en la mayoría de ensilajes el problema con hongos inicia con la apertura de los silos, por lo tanto se requiere una planificación eficiente para que el deterioro no comprometa el consumo de los animales.

Narváez *et al*, (43), a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mays* L), obtuvieron valores de 0,14 UFC mL⁻¹ y 0,71 UFC mL⁻¹ siendo un resultado menor al presente trabajo. Hurtado *et al*, (45), en su investigación sobre las características microbianas y fermentativas del ensilaje de pasto saboya (*Panicum maximum*) asociado con diferentes niveles de inclusión de cascara maracuyá (*Pasiflora edulis*), obtuvieron valores de 0,95 UFC g⁻¹ y 0,97 UFC g⁻¹ menores al obtenido en esta investigación, esto podría deberse a que la autora utilizó pasto de 45 días de edad. A mayor edad del pasto se dificulta la compactación, provocando estación con oxígeno donde proliferan los hongos.

Si bien en el rumen de los animales existe una gran diversidad de microorganismos incluido hongos, algunas especies de estos pueden provocar serias complicaciones digestivas debido a las micotoxinas que producen, Galindo *et al*, (46), determinó valores de 0,54 UFC/mL y 0,58 UFC/ mL en el rumen de bovinos.

4.1.4. Población de levaduras

De acuerdo a la Tabla 10, muestra que los tratamientos T1; T2 y T3 ($0,77$, $0,66$ y $0,55 \cdot 10^{-5}$ UFC mL⁻¹) no presentan diferencias estadísticas ($P > 0,05$), sin embargo estos difieren ($P < 0,05$) con el tratamiento T4 ($0,11 \cdot 10^{-5}$ UFC mL⁻¹) fue el mejor para la conservación y duración del ensilaje.

Tabla 10. Población de levaduras de ensilaje pasto (*Panicum maximum*) con la inclusión de cascaras de piña (*Ananas comusus*) maracuyá (*Pasiflora edulis*) y plátano (*Musa AAB*).

Variable	Tratamientos				EEM	P<
	T1 100% PS	T2 PS 85% + CP 15%	T3 PS 85% + CM 15%	T4 PS 85% + CPL 15%		
Población de levaduras	0,77 ^a	0,66 ^a	0,52 ^a	0,11 ^b	0,97	0,0002

PS: Pasto saboya; CP: Cáscara de piña; CM: Cáscara de maracuyá; CPL: Cáscara de plátano; EEM: Error estándar de la media; P<: Cáscara de plátano solución que se utilizó 10^{-5} . Los promedios con letras diferentes presentan diferencia estadística significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

La inclusión de residuos agroindustriales mejoró la estabilidad microbiológica reportando valores bajos con respecto al ensilaje T4. Rosado *et al*, (42), al estudiar el efecto de la aplicación de inoculantes sobre las características microbianas a los 30 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mayz*), obtuvieron de $0,42 \log \text{ UFC g}^{-1}$ a $0,14 \log \text{ UFC g}^{-1}$ valores superiores a la presente investigación. Las levaduras cambian el proceso fermentativo alterando el contenido de ácido láctico del ensilaje y deteriorándolo, por lo tanto son un indicador de la calidad de la fermentación.

Narváez *et al*, (43), a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero (*Zea mays* L), obtuvo valores de $0,43 \text{ UFC mL}^{-1}$ y $0,55 \text{ UFC mL}^{-1}$ siendo superiores a la presente trabajo de investigación, lo que demuestra que en este parámetro la inclusión de residuos agrícolas tienen un efecto positivo.

Hurtado *et al*, (45), en su trabajo sobre las características microbianas y fermentativas del ensilaje de pasto saboya (*Panicum máximum*) asociado con diferentes niveles de inclusión

de cascara maracuyá (*passiflora edulis*), obtuvo valores de 0,92 UFC/g⁻¹ superiores al presente trabajo de la investigación, cabe señalar que esta autora evaluó niveles de inclusión de 10, 20, 30 y 40%, no encontrando un efecto en esta variable con respecto al incremento del subproducto.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La inclusión de cáscaras de plátano influyó en el contenido de bacterias totales en el ensilaje de pasto saboya a los 30 días de corte.
- El mayor contenido de bacterias ácido lácticas se presentó en el ensilaje con inclusión de cáscara de piña (T2) atribuible al contenido de carbohidratos solubles de estos residuos.
- La inclusión de cáscaras de plátano influyo contenido de levaduras para una mayor conservación en el ensilaje en el tratamiento T4.

5.2. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos se recomienda:

- Utilizar cascaras de piña y maracuyá ya que incrementan la eficiencia en la conservación del ensilaje debido a la mayor producción de bacterias ácido lácticas en el ensilaje de pasto saboya de 30 días de edad.
- No utilizar pasto saboya al 100% ya que puede presentar hongos que afectan la palatabilidad y el consumo de alimento de los animales.
- Evaluar otros niveles de inclusión de cascaras de residuos agroindustriales y edades de corte del pasto saboya.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Literatura citada.

1. WingChing R, Rojas A. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. *Agronomía Costarricense*. 2006; 30(1): p. 87-100.
2. Pereira L, Azevedo J, Pina D, Brandão L, Araújo G, Voltolini T. Aproveitamento dos Coprodutos da Agroindústria Processadora de Suco e Polpa de Frutas para Alimentação de Ruminantes Petrolina-Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA ; 2009.
3. Neiva J, Ferreira A, Júnior J, Santana G. Uso de subprodutos da agroindústria na ensilagem do capim elefante. ; 2009?.
4. Pompeu R, Neiva J, Cândido M, Filho G, Aquino D, Lôbo R. Valor nutritivo de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com adição de subprodutos do processamento de frutas tropicais. *Rev. Ciênc. Agron.* 2006; 37(1): p. 77-83.
5. Machin D. El uso potencial del ensilaje en el trópico para la producción animal en la zona tropical, especialmente como una opción para los pequeños campesinos. In 'tMannetje L, editor. *Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos: Memorias de la Conferencia de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos 1 septiembre a 15 diciembre 1999.*; 2001. p. 73-80.
6. Jobim C, Nussio L, Reis R, Schmidt P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *R. Bras. Zootec.* 2007; 36(Suplemento especial): p. 101-119.
7. Castellanos F, Lucas J. Caracterización física del fruto en variedades de plátano cultivadas en la zona cafetera de Colombia. *Acta Agronómica*. 2011; 60(2): p. 176-182.
8. Almeida J, Neto L, Paiva K, Zaiden R, Neto OBC. Utilização de subprodutos de frutas na alimentação animal. *Evista Electronica Nutritime*. 2014; 11(3): p. 3430– 3443.
9. Sousa B, Correia R. Biotechnological reuse of fruits residues as a rational strategy for Agro-industrial resources. *J. Technol. Manag. Innov.* 2010; 5(2): p. 104-112.
10. Azevêdo J, Filho S, Pina D, Detmann E, Valadares R, Pereira L, et al. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas com subprodutos de frutas para

ruminantes. Revista Brasileira de Zootecnia. 2011; 40(5): p. 1052-1060.

11. Monção F, Reis S, Rigueira J, Sales E, Antunes A, Oliveira E, et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da FND da casca de banana tratada com cal virgem. Revista de Ciências Agrárias. 2014; 37(1): p. 42-49.
12. Júnior A, Filho J, Tiesenhausem I, Freitas R, Filho C, Nogueira D. Efeito de diferentes aditivos sobre a qualidade fermentativa da silagem de residuo de maracujá amarelo. Ciênc. agrotec. 2007; 31(5): p. 1519-1524.
13. Rodrigues P, Borgatti L, Gomes R, Passini R, Meyer P. Efeito da Adição de Níveis Crescentes de Polpa Cítrica sobre a Qualidade Fermentativa e o Valor Nutritivo da Silagem de Capim-Elefante. R. Bras. Zootec. 2005; 34(4): p. 1138-1145.
14. Jhair M, Medina J, Quintero H. Diseño de máquina para empaque de forraje de maíz para ensilaje: dosificado y compactado. Scientia Et Technica. 2008; 14(40): p. 54-59.
15. Ojeda F. Técnicas de cosecha y de ensilado. In 'tMannetje L, editor. Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos.; 2001. p. 137-146.
16. Cubero JF, Rojas A, WingChing R. Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (Zea mays). Valor nutricional y fermentativo. Agronomía Costarricense. 2010; 34(2): p. 237-250.
17. Cowan T. Uso de forrajes ensilados en sistemas de producción animal en gran escala. In 'tMannetje L, editor. Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos.; 2001. p. 31-40.
18. Junges D, Schmidt P, Novinski O, Daniel P. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. Acta Sci., Anim. Sci. 2013; 35(4): p. 371-377.
19. Bernardes T, Reis R, Amaral R, Siqueira G, Roth , Anna , et al. Perfil fermentativo, estabilidade aeróbia e valor nutritivo de silagens de capim-marandu ensilado com aditivos. R. Bras. Zootec. 2008; 37(10): p. 1728-1736.
20. Pereira L, Gonçalves L, Tomich T, Borges I, Rodríguez N. Silos experimentais para avaliação da silagem de três genótipos de girassol (Helianthus annuus L.). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2005; 57(5): p. 690-696.

21. Pereira O, Gobbi K, Pereira D, Ribeiro K. Conservação de forragens como opção para o manejo de pastagens. *Anais de Simpósios da 43ª Reunião Anual da SBZ*. 2006;: p. 507-539.
22. Mühlbach P. Uso de aditivos para mejorar el ensilaje de los forrajes tropicales. In 'tMannetje L, editor. *Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos: Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos 1 septiembre a 15 diciembre 1999*.: FAO; 2001. p. 157-172.
23. Schmidt P, Junior P, Junges D, Dias L, Almeida R, Mari L. Novos aditivos microbianos na ensilagem da cana-de-açúcar: composição bromatológica, perdas fermentativas, componentes voláteis e estabilidade aeróbia. *R. Bras. Zootec*. 2011; 40(3): p. 543-549.
24. Ribeiro J, Nussio L, Mourão G, Queiroz O, Mateus S, Schmidt P. Efeitos de absorventes de umidade e de aditivos químicos e microbianos sobre o valor nutritivo, o perfil fermentativo e as perdas em silagens de capim-marandu. *R. Bras. Zootec*. 2009; 38(2): p. 230-239.
25. Stefanie J, Oude E, Driehuis F, Gottschal J, Spoelstra S. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. In 't Mannetje L, editor. *Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos*.: FAO; 2001. p. 17-31.
26. Ferreira L, Silva J, De Paula M, Soares M, Bittar C. Colostrum silage: fermentative, microbiological and nutritional dynamics of colostrum fermented under anaerobic conditions at different temperatures. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2013; 35(4): p. 395-401.
27. Azevêdo J, Filho S, Detmann E, Pina D, Pereira L, Oliveira K, et al. Predição de frações digestíveis e valor energético de subprodutos agrícolas e agroindustriais para bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2011; 40(2): p. 391-402.
28. Amores F. *Clima, Suelos, Nutrición y Fertilización de cultivos en el litoral ecuatoriano*. Manual Técnico No. 26.: INIAP-INPOFOS; 1992.
29. PROECUADOR. Instituto de Promoción de Exportaciones e inversiones. Perfil de piña ecuatoriana. [Online].; 2011 [cited 2014 diciembre 3. Available from: <http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2011/11/PROEC-P2011-PINA-ECUATORIANA.pdf>.

30. López M, WingChing R, Rojas A. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. *Agronomía Costarricense*. 2009; 33(1): p. 1-15.
31. Sousa M, Viera L, Silva M, Lima A. Caracterização nutricional e compost antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. *Ciênc. agrotec*. 2011; 35(3): p. 554-559.
32. García M. Guía Técnica: Cultivo de maracuyá amarillo San Salvador, El Salvador: CENTA; 2002.
33. INEC-ESPAC. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Maracuyá Fruta fresca, Superficie, Resumen General. [Online].; 2013 [cited 2015 Junio 18. Available from: <http://www.ecuadorencifras.com/cifras-inec/main.html>.
34. Oliveira L, Nascimento M, Borges S, Ribeiro P, Ruback V. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá- amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. *Cien. Tecnol. Aliment*. 2002; 22(3): p. 259-262.
35. Viera C, Vasquez H, Silva J. Composição Químico-Bromatológica e Degradabilidade In Situ da Matéria Seca, Proteína Bruta e Fibra em Detergente Neutro da Casca do Fruto de Três Variedades de Maracujá (*Passiflora* spp). *Rev. bras. zootec*. 1999; 28(5): p. 1148-1158.
36. Da Cruz B. Silagem de capim-elefante com diferentes proporções de casca desidratada de maracujá. Tesis Maestria Zootecnia. Itapetinga-Brasil: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Programa de Pós-graduação em Zootecnia; 2009.
37. Cruz L, Ruiz D. Métodos para acelerar la emisión y desarrollo de hijuelos en plátano (*Musa* sp). [Online].; 2012 [cited 2015 Enero 13. Available from: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1091/1/T3380.pdf>.
38. Valdivié M, Rodríguez B, Bernal H. Alimentación de cerdos, aves y conejos con plátano (*Musa paradisiaca* L.). *Rev. ACPA*. 2008; 1: p. 48-50.
39. Departamento Agrometeorológico del INIAP. Información Agrometeorológica de la Finca Experimental "La María". Quevedo, Ecuador: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), Estación Experimental Tropical Pichilingue; 2014.

40. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Versión 9.0. User's guide. Cary, Estados Unidos; 2004.
41. Parraga J. Característica fermentativa y microbiana del ensilaje de pasto king grass morado, asociado con varias concentraciones de cáscaras de maracuyá, en la finca experimental la maría, mocache, 2012. ; 2013.
42. Rosado JB. Efecto de la Aplicacion de Inoculantes sobre las Características Microbianas a los Ensilaje de Maiz Forrajero (Zea mayz). Quevedo - Ecuador;; 2014.
43. Narvaez DS. Efecto de la aplicacion de inoculacion sobre las características Microbianas a los 60 días de ensilaje de Maiz Forrajero (Zea mayz L). Quevedo - Ecuador ;; 2013.
44. Orosz. Estado microbiológico estabilidad aeróbica y fermentación ensilaje de maíz sellado con una capa de barrera de oxígeno polietileno. Agricultural and Food Science. 2013;; p. 185.
45. Hurtado J. Características microbianas y fermentativas del ensilaje de pasto Saboya (panicum máximum) asociado con diferentes niveles de inclusión de cascara maracuyá (passiflora edulis). Quevedo - Ecuador;; 2016.
46. Galindo J. Efecto de aceite de coco en la población de bacterias metanogenica y su relación con otros grupos microbianos del rumen en condiciones in vitro. Cubana de Ciencia Agrícola. 2009; 43(2): p. 135-140.
47. Ashbell. El sistema simple para la determinaciónn aeróbica del ensilaje. Canadian Agricultural Engineering. 1990 Diciembre.
48. Lopez M, Wing R, Rojas A. Meta- Analisis de los Subproductos de Piña (Ananas comosus) para la Alimentacion Animal. Agronomia Mesoamericana. 2014; 25(2).

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

7.1.1. Análisis de varianza de las variables estudiadas

Anexo 1. Cuadrados medios, coeficientes de variación de la población de bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras.

Fuente de variación	GL	Cuadrado medio			
		Bacterias Totales	Bacterias lácticas	Hongos	Levaduras
Tratamiento	3	1.2065**	1.1794* *	1.8613**	0.9985**
Error	12	0.4149	0.5913	0.3528	0.0210
Experimental					
Total	15				
CV%		30.57	42.38	38.10	28.46

GL: Grados de libertad; CV: Coeficiente de variación; ^{ns} No significativo; * Significativo $P \leq 0.05$; **Significativo $P \leq 0.01$; *** Significativo $P \leq 0.0001$.

ANEXO 2. Datos del laboratorio de campo en población de bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras.

	REPETICION	DISOLUCIÓN	T1	T2	T3	T4
BT	R1	10 ⁻⁸	5.30	4.14	7.46	2.43
	R2	10 ⁻⁸	5.40	5.31	3.65	0.00
	R3	10 ⁻⁸	2.43	5.03	2.59	0.00
	R4	10 ⁻⁸	7.80	5.07	7.72	0.00
BL	R1	10 ⁻⁷	2.67	8.18	3.73	1.77
	R2	10 ⁻⁷	4.97	5.03	5.50	0.00
	R3	10 ⁻⁷	2.53	5.23	0.00	0.00
	R4	10 ⁻⁷	4.97	6.16	1.77	0.00
HO	R1	10 ⁻⁶	2.67	5.07	0.00	0.00
	R2	10 ⁻⁶	5.37	5.41	0.00	1.77
	R3	10 ⁻⁶	4.97	6.39	0.00	0.00

LV	R4	10^{-6}	5.42	7.78	1.87	0.00
	R1	10^{-5}	3.26	5.27	1.97	0.00
	R2	10^{-5}	4.97	3.65	2.10	0.00
	R3	10^{-5}	4.97	3.80	3.69	1.87
	R4	10^{-5}	7.46	2.43	1.93	0.00

Todos los valores fueron transformado a $\log(+1)$

ANEXO 3. Datos del laboratorio de campo transformados Población de bacterias totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras.

	REPETICION	DISOLUCIÓN	T1	T2	T3	T4
BT	R1	10 ⁻⁸	0.79	0.71	0.92	0.53
	R2	10 ⁻⁸	0.80	0.80	0.66	0.00
	R3	10 ⁻⁸	0.53	0.78	0.55	0.00
	R4	10 ⁻⁸	0.94	0.78	0.94	0.00
BL	R1	10 ⁻⁷	0.56	0.96	0.67	0.44
	R2	10 ⁻⁷	0.77	0.78	0.81	0.00
	R3	10 ⁻⁷	0.54	0.79	0.00	0.00
	R4	10 ⁻⁷	0.77	0.85	0.44	0.00
HO	R1	10 ⁻⁶	0.56	0.78	0.00	0.00
	R2	10 ⁻⁶	0.80	0.80	0.00	0.00
	R3	10 ⁻⁶	0.77	0.86	0.00	0.00

LV	R4	10^{-6}	0.80	0.94	0.45	0.45
	R1	10^{-5}	0.62	0.79	0.47	0.00
	R2	10^{-5}	0.77	0.66	0.49	0.00
	R3	10^{-5}	0.77	0.68	0.67	0.45
	R4	10^{-5}	0.92	0.53	0.46	0.00

Los datos del laboratorio de campo están transformado a $\log(+1)$

7.1.2. Imágenes de la investigación.

Anexo 4. Preparación de medios de cultivo y cajas Petri.



Anexo 5. Preparación de diluciones en cámara de flujo laminar.



Anexo 6. Incubación en cámara de CO₂.



Anexo 7. Agitación de soluciones preparadas.



Anexo 8. Conteo de colonias.

