

# **INOCULOS BACTERIANOS: UNA ALTERNATIVA PARA MEJORAR EL PROCESO FERMENTATIVO EN LOS ENSILAJES TROPICALES**

*Carlos Tobía R.<sup>1</sup> y Emilio Vargas G.<sup>2</sup>*

## **ABSTRACT**

Milk Production systems depend on good quality forages. Silage, is a great alternative for storing forages throughout the year. The fermentation process in silage, presents four phases (aerobic, fermentative, stabilization and deterioration). The use of lactic acid producing bacteria, as an additive helps optimizing the fermentation process. Specially when tropical forages are used, due to the lower natural concentration of lactic acid bacteria and fermentable carbohydrates. This additives, stimulate fermentation and decrease aerobic deterioration. Forages or other products stored as silage suffer damage and a reduction in its nutritional values as well as risk in pollution. Therefore, increasing stabilization in silage is of great interest of producers for forage conservation.

## **INTRODUCCION**

Los sistemas de alimentación en la mayoría de las explotaciones lecheras de Costa Rica, dependen en alto grado del suministro de alimentos balanceados, los cuales dentro de su fórmula incluyen materias primas

- 
- 1 Estudiante del Programa de Doctorado en Sistemas de Producción Agrícola Sostenible. Universidad de Costa Rica. Facultad de Agronomía.
  - 2 Profesor Catedrático. Universidad de Costa Rica, Escuela de Zootecnia, Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), San José, Costa Rica.

importadas para su elaboración, lo que hace a este sistema dependiente, poco sostenible y de alto costo.

Las tendencias económicas modernas de libre mercado obliga a los productores a diseñar nuevas estrategias de alimentación y de manejo de la explotación, que les permita enfrentar con éxito la competencia a puertas abiertas.

Se necesitan estrategias de alimentación poco vulnerables a las condiciones de períodos de sequía o de lluvia prolongados, que aporten al sistema suficiente cantidad y calidad de nutrimentos a un mínimo costo.

En los países tropicales, la conservación del forraje mediante el ensilado surge como una alternativa viable. El ensilaje es un método de conservación de forrajes húmedos basado en una espontánea fermentación ácido láctica bajo condiciones anaeróbicas. Las bacterias ácido lácticas propias del material, fermentan los carbohidratos solubles a ácido láctico y en menor grado a ácido acético (Stefanie et al., 1999, Henderson, 1993). Los ensilajes son elaborados principalmente a partir de pastos, cereales, leguminosas y ocasionalmente de rastrojos de cultivos.

El éxito del proceso fermentativo que ocurre en los ensilajes depende, principalmente, de la suficiente cantidad de bacterias ácido lácticas y en niveles adecuados de carbohidratos solubles en los cultivos cosechados, obteniéndose altas producciones de ácido láctico. Como resultado, el pH se mantiene bajo y los ensilajes son preservados (Jaster, 1995).

Una vez que se inicia la anaerobiosis del silo (fases 2 y 3 del proceso fermentativo), no es posible controlar externamente este proceso, por lo que el aporte del productor, deja de tener relevancia y es aquí donde los inóculos bacterianos y otros aditivos incorporados al material contribuyen a la optimización del proceso fermentativo (Stefanie et al., 1999).

El objetivo de esta revisión fue describir el efecto que tiene los inóculos bacterianos sobre la intensidad y características del proceso fermentativo que ocurre en los ensilajes de forrajes tropicales.

## PAUTAS A SEGUIR EN EL PROCESO DE LA CONSERVACIÓN ÁCIDA DE LOS FORRAJES

El principio de preservación de los forrajes como ensilajes se basa en el almacenamiento ácido y libre de oxígeno. Estos elementos químicos inhiben la actividad enzimática de las plantas y el crecimiento de los microorganismos indeseables (Machin, 1999, O' Kelly, 1992).

El proceso de producción de ensilajes puede ser dividido en 4 pasos: 1. Cosecha del forraje, 2. Transporte del material cortado al silo, 3. Compactación del forraje y 4. Sellado hermético del silo. La correcta ejecución de estos 4 pasos tendrá un gran impacto sobre el éxito o fracaso del proceso fermentativo y de la calidad del ensilaje (García, 1999).

### Proceso Fermentativo

Weinberg y Muck (1996) describen el proceso de fermentación del ensilaje en 4 fases:

**Fase 1 (Aeróbica):** Normalmente dura pocas horas, en donde el oxígeno atmosférico presente entre las partículas del forraje cortado es reducido, debido a la respiración del material procesado. Las proteasas y carboxilasas de las plantas permanecen activas durante esta fase, el pH se mantiene (6.0 - 6.5) entre los rangos normales del jugo de los forrajes frescos. Es fundamental, que las condiciones anaeróbicas del ensilaje sean logradas rápidamente para que la actividad de los procesos que requieran de oxígeno no continúen (O' Kelly 1992).

**Fase 2 (Fermentativa):** Comienza cuando el ensilaje llega a ser anaeróbico y continua por algunos días hasta semanas, la duración de esta fase depende de las propiedades del tipo forraje ensilado y de las condiciones del mismo. Si el proceso de fermentación se desarrolla exitosamente, las bacterias ácido lácticas predominan en esta fase. El pH decrece entre 3.8 y 5.0 debido a la producción de láctico y de otros ácidos.

**Fase 3 (Estable):** Pocos cambios ocurren en esta fase, si se evita la entrada de aire al silo. La mayoría de los microorganismos presentes en la fase 2 decrecen ligeramente. Algunos microorganismos ácido tolerantes sobreviven en este período a niveles de baja actividad y otros como *Clostridium* y *Bacillus* sobreviven como esporas.

**Fase 4 (Deterioro aeróbico):** Empieza tan pronto el ensilaje obtenido se expone al aire. El inicio del deterioro es debido a la degradación por levaduras y ocasionalmente por bacterias ácido acéticas de ácidos orgánicos preservadores. Esto causaría elevación del pH, seguido por incremento de temperatura del silo.

## **Evaluación de la calidad de los ensilajes**

### ***a. Indicadores físico químicos***

Tradicionalmente se han utilizado una serie de indicadores físico químicos para medir la calidad de los alimentos ensilados. Dentro de estos indicadores se encuentran el pH, la cantidad de ácidos orgánicos volátiles (acético, láctico y butírico) así como relaciones entre ellos, pérdidas de material ensilado (putrefacción) así como cantidad de nitrógeno amoniacal que se produce. En el Cuadro 1 se resume algunos de estos parámetros, así como los niveles de máximos y mínimos que comúnmente se aceptan y que sirven de indicador de la calidad del ensilado y el tipo de fermentación que se llevó a cabo. Como se observa, se busca una alta proporción de ácido láctico, baja proporción de ácido acético y nada a muy baja de ácido butírico, así como una baja proporción de nitrógeno amoniacal en relación al nitrógeno total presente en el ensilado. Todo esto produce un pH final del material de alrededor de 4. El problema con este tipo de indicadores de calidad, es que requieren de laboratorios y equipo sofisticado de medición, que normalmente no se puede tener a nivel de campo y mucho menos a nivel del pequeño productor, por lo que estos deben acudir a laboratorios especializados donde les pueden realizar los análisis requeridos.

## Cuadro 1.

### Indicadores físicos y químicos que permiten valorar la intensidad y calidad del proceso fermentativo en los ensilajes

Indicadores	Niveles	Fuente
Perdida de MS (%)	6 - 8%	Vallejo (1995)
PH	3,9 - 4,2	Muck (1988)
Acido acético (% MS)	< 1,8 óptimo > 6,0 pésimo	Ojeda et al. (1991)
Acido butírico (% MS)	< 0,1 óptimo > 2,0 pésimo	Ojeda et al. (1991)
Acido láctico (% MS)	5 - 10%	Mc Donald (1991)
NH <sub>3</sub> / NT (%)	< 7,0 óptimo > 20,0 pésimo	Ojeda et al. (1991)

MS= *materia seca*

NH<sub>3</sub> / NT= *Nitrógeno amoniacal como % del nitrógeno total*

### **b. Indicadores organolépticos**

Los indicadores organolépticos (utilizando los órganos de los sentidos) son una herramienta para realizar una evaluación subjetiva de la calidad de un ensilaje. Su exactitud dependerá de la experiencia del evaluador. Por no requerirse de mediciones para su ejecución, se ha convertido en la alternativa de evaluación más utilizada, económica y práctica. El Cuadro 2 presenta un sistema de evaluación organoléptica de calidad de los ensilajes.

Los parámetros considerados en orden de importancia son los siguientes: olor, color y textura (Ojeda et al., 1991). Materiales ensilados que

puntuén valores ( 36, 16 y 22 respectivamente para las características organolépticas (olor, color y textura), pueden considerarse aceptables para el consumo animal. Por otro lado, la característica color puede ser enmascarada con el uso de aditivos, como por ejemplo la melaza, que le puede dar una apariencia color café al producto ensilado.

**Cuadro 2.**

**Calificación de los indicadores organolépticos en los ensilajes tropicales**

<b>Indicador</b>	<b>Descripción</b>	<b>Puntaje (%)</b>	<b>Máximo por indicador (%)</b>
Olor	Agradable	54	<b>54</b>
	Poco Agradable	36	
	Desagradable	18	
	Verde, verde amarillento y Verde claro	24	
Color	Verde rojizo, verde pardo y verde oscuro	16	<b>24</b>
	Pardo amarillento, café verdoso y café oscuro	8	
	Textura	Bien definido, se separa fácil	
	Jabonoso al tacto, mal definido	11	<b>22</b>
<b>Total (%)</b>			<b>100</b>

*Ojeda y col. 1991*

## **Inóculos bacterianos**

Estos son productos comerciales que contienen una gran concentración de bacterias ácido lácticas (BAL) que incrementan la población natural de BAL en los cultivos, ayudando a que ocurra una rápida y eficiente

fermentación dentro del silo (Muck y Kung Jr., 1997). Funcionan como estimulantes de la fermentación e inhibidores del deterioro aeróbico (Stefanie et al., 1999).

Los inóculos bacterianos promueven una más rápida y eficiente fermentación de los materiales ensilados, lo cual incrementa la calidad y cantidad (incremento en la recuperación de la materia seca) del producto ensilado. Estos aditivos presentan algunas ventajas sobre los otros tipos de aditivos, incluyendo su bajo costo, seguridad en su manejo, baja tasa de aplicación por tonelada de forraje picado y no contaminan el ambiente (Bolsen et al., 2001).

Estudios realizados a más de 1000 ensilajes y 25000 silos indican, que en un 90 % de los casos se encuentran respuestas favorables en la disminución del pH y un incremento en la relación ácido láctico: ácido acético en comparación con los ensilajes no tratados con inoculantes. También, se evidencia una disminución en los niveles de etanol y de nitrógeno amoniacal de los materiales a los que no se les adicionó BAL (Bolsen et al., 2001).

La microflora de los ensilajes juega un papel clave en el resultado exitoso del proceso de conservación. La microflora puede ser dividida en dos grupos; los microorganismos deseables y los indeseables. Los deseables son las bacterias productoras de ácido láctico naturales presentes en el alimento a ensilar (BAL natural) y los indeseables, son que pueden producir deterioro anaeróbico (*Clostridium* y *Enterobacterias*), o bien deterioro aeróbico (*levaduras*, *bacillus*, *Listeria* y *hongos*). Estos microorganismos perjudiciales no solo disminuyen el valor nutricional de los ensilajes, sino que pueden afectar la salud del animal y la calidad de la leche (*Listeria*, *Clostridium*, *hongos* y *bacillus*) (Stefanie et al., 1999).

Las BAL pertenecen a la microflora que crece espontáneamente sobre el material de la planta. La población de BAL se incrementa sustancialmente entre la cosecha y el ensilado del forraje. Las BAL que son regularmente asociadas al ensilaje son miembros de los géneros *Lactobaci-*

*illus, Pedicoccus, Leuconostoc, Enterococcus, Lactococcus* y *Streptococcus*. Su temperatura óptima de crecimiento se ubica entre 25 y 40 °C (Stefanie et al., 1999).

Por otra parte, con base en su metabolismo de carbohidratos solubles, las BAL pueden ser clasificadas como homofermentativas obligadas, heterofermentativas facultativas y heterofermentativas obligadas (Scheleifer y Ludwig, 1995; citados por Stefanie et al., 1999).

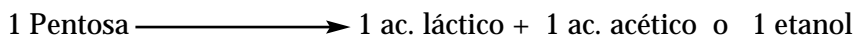
### **Homofermentativas obligadas (*Lactobacillus ruminis* y *Pedicoccus damnosus*)**

Son aquellos microorganismos que producen más del 85% de ácido láctico a partir de hexosas (glucosa). No pueden degradar pentosas (xilosa)



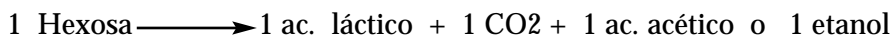
### **Heterofermentativas facultativas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus Pentosaceus* y *Enterococcus faecium*)**

Este tipo de bacterias producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas y degradan algunas pentosas, para producir ácido láctico, acético o etanol.



### **Heterofermentativa obligadas (*Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus buchneri*)**

Estas BAL degradan hexosas y pentosas con la misma intensidad. A diferencia de las homofermentativas ellas degrada hexosas a cantidades similares de ácido láctico, CO<sub>2</sub>, ácido acético o etanol.





Existen cultivos agrícolas que tienen la capacidad de ensilar naturalmente; estos materiales (maíz, sorgo y forrajes de clima templado) antes de ensilarse presentan una baja capacidad buffer, altos contenidos de materia seca (>20%), altas concentraciones de carbohidratos fermentables (5 - 20%) y la presencia de una abundante flora natural de microorganismos productores de ácido láctico (Machin 1999, Otero y Esperance 1994).

En estos materiales se justifica el uso de inóculos bacterianos producidos a partir de *Lactobacillus buchneri*, microorganismo que funciona como un efectivo inhibidor del deterioro aeróbico, ya que promueve una producción mayor de ácido acético (impide el crecimiento de levaduras y hongos), prolongándose la vida útil del ensilaje por más de 38 días. (Ranjit y Kung, jr., 2000).

En forrajes difíciles de ensilar, como las leguminosas, que presentan por lo general bajos contenidos de azúcares solubles y alta capacidad buffer (Bolsen et al. 2001) y los pastos tropicales, que poseen baja cantidad de BAL, así como de carbohidratos fermentables (carbohidratos no fibrosos), se justifica el uso de inoculantes bacterianos que actúen como estimulantes del proceso fermentativo (Muck y Kung Jr. 1997). *Lactobacillus plantarum* estimula la intensidad del proceso fermentativo en estos materiales, incrementando los niveles de ácido láctico. Los niveles de ácido acético del ensilaje no se incrementan significativamente, por lo que su aporte de este microorganismo como inhibidor del deterioro aeróbico es nulo (Keady y Steen, 1995, Singh et al., 1996, Cai et al., 1999, Ranjit y Kung Jr., 2000).

Es factible producir inóculos bacterianos a partir de forrajes tropicales, donde cada cepa inoculante debe ser aislada de un cultivo particular. Hay algunas evidencias de comportamiento donde las mejores cepas sobre un cultivo no lo son para otros. Las mejores respuestas de los inóculos se han obtenido de cepas provenientes del jugo de las plantas del que fueron aislados. La principal razón del fracaso de los inoculantes

es la competencia con la flora natural de BAL. Si los inoculantes superan de 1 a 10 veces la población natural ácido-tolerante (100 millones a 100 trillones por toneladas), los inóculos parecen ser capaces de agobiar la población natural y mejorar la intensidad del proceso de fermentación (Muck y Kung Jr., 1997).

El uso de inóculos bacterianos además de mejorar la recuperación de nutrimentos y la estabilidad aeróbica de los ensilajes, también incrementa la digestibilidad de la materia seca del material ensilado. Estos indicadores están estrechamente relacionados con las mejoras económicas en las fincas registradas, debido al incremento en las producciones de leche y carne indicadas en estudios realizados entre 1990 y 1995 (Muck y Kung Jr., 1997). Bolsen et al. (2001) mencionan retornos netos por incrementos en la producción de leche entre 6 y 10\$ y de 14 a 15\$ por toneladas de maíz y de alfalfa respectivamente, cuando son inoculados con bacterias ácido lácticas.

Alimentos ensilados que sufren deterioro aeróbico además de representar un riesgo para la salud, por contener microorganismos patógenos como *Clostridium botulinicum*, *Listeria monocotogenes* y otros, también se constituyen en un vector de contaminación ambiental (inadecuada eliminación de los alimentos deteriorados); por lo tanto, mejorar la estabilidad aeróbica de los ensilajes conferiría una ventaja sustancial para los productores (Ranjit y Kung Jr. 2000).

La principal causa del deterioro del ensilaje es la fermentación del lactato a butirato y la actividad proteolítica de los clostridios (Luis et al., 1991)

Estudios realizados en Cuba con pastos *Pennisetum purpureum* cv. Taiwan y *Panicum maximo* cv. Likoni, donde se utilizó inoculación biológica con la cepa *Pedococcus acidilactici*, se observó una mejora en la calidad de los ensilajes inoculados, ya que disminuyó la producción de nitrógeno amoniacal e incrementó significativamente el consumo y la digestibilidad de la materia orgánica, proteína bruta y la fibra bruta (Luis et al. 1992).

Singh et al. (1996) ensilaron alfalfa (*Medicago sativa* L.) en la región tropical de la India adicionándole inóculos bacterianos (*Enterococcus faecalis* y *Lactobacillus plantarum*). Estos autores observaron una disminución en la concentración de ácido butírico. Los ensilajes de mayor calidad obtuvieron cuando se combinó la inoculación biológica con melaza de caña.

La información parece indicar que el uso de las BAL como un aditivo en los ensilados de forrajes tropicales, tendría gran utilidad debido a poca densidad de bacterias productoras de ácido láctico, así como a la baja concentración de carbohidratos rápidamente fermentables (azúcares y almidones) en los forrajes tropicales. Así mismo, la producción de ensilajes de buena calidad, sería una excelente solución a los problemas de escasez de forrajes durante el período seco, o de alta precipitación de lluvias. Los forrajes ensilados de excelente calidad, podrían contribuir a aumentar la fertilidad de los hatos y la carga animal en las explotaciones pecuarias de los trópicos.

## RESUMEN

El ensilaje es un método de conservación de forrajes húmedos basado en una espontánea fermentación ácido láctica bajo condiciones anaeróbicas, donde las bacterias ácido lácticas (BAL) propias del material utilizado, fermentan los carbohidratos solubles a ácido láctico y en menor grado a ácido acético. Los ensilajes son elaborados principalmente a partir de pastos, cereales, leguminosas y ocasionalmente de rastrojos de cultivos. La principal razón para su producción es la de transferir alimentos húmedos en épocas de sobreproducción a una de déficit. En sistemas lecheros intensivos, los ensilajes son una excelente alternativa para mantener la calidad de los forrajes durante todo el año. La intensidad del proceso fermentativo está directamente relacionada con la

producción de ácidos grasos volátiles. Patrones pobres de fermentación se asocian con incrementos porcentuales de ácido butírico y de amoníaco. El proceso de fermentación de los ensilaje se presenta en 4 fases: 1 aeróbica, 2 fermentativa, 3 estable y 4 deterioro aeróbico. Los eventos ocurridos en la fase 2 y 3 del proceso fermentativo no pueden ser controlados directamente por los productores de ensilajes. El uso de inóculos concentrados de bacterias productoras de ácido láctico (BAL) ayudaría a optimizar el proceso fermentativo que se da en estas etapas, especialmente cuando se trabaja con forrajes tropicales, bajos en contenido de BAL naturales y carbohidratos de rápida fermentación. Los BAL funcionan como estimulantes de la fermentación e inhibidores del deterioro aeróbico. Resultados satisfactorios se han obtenido combinando BAL heterofermentativas facultativas con BAL heterofermentativas obligadas (*Lactobacillus buchneri*). Recientemente, se ha descubierto que *Lactobacillus buchneri*, es un efectivo inhibidor del deterioro aeróbico, ya que promueve una mayor producción de ácido acético, el cual es un potente inhibidor del crecimiento de levaduras y hongos. Los ensilajes de mala calidad producen mayores cantidades de desechos: efluentes, gases (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>), malos olores, microorganismos patógenos (*Clostridium*, *Listeria*, *Aspergillus*) toxinas (aminas) y material sólido descompuesto. Alimentos ensilados que sufren deterioro aeróbico presentan un reducido valor nutricional y además, representan un riesgo ambiental (inadecuada eliminación de los desechos). Por lo tanto, mejorar la estabilidad aeróbica de los ensilajes conferiría una ventaja sustancial a los productores, para la conservación ambiental y la salud pública.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- BOLSEN, K.; BRENT, B.; URIARTE, E. 2001. The silage triangle and important practices often overlooked. California Animal Nutrition Conference. California, USA. 60-65 pp.
- CAI, Y.; BENNO, Y.; OGAWA, M.; KUMAI, S. 1999. Effect of applying lactic bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. *Journal of Dairy Science* 82:520-526.
- GARCIA, F.1999. Harvesting and ensiling techniques.FAO Electronic Conference on Tropical Silage. <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/contents.htm>. Paper 8.
- HENDERSON. N. 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology* 45:35-56
- JATER, E. 1995. Legume and grass silage preservation. In: Post-harvest physiology and preservation of forages. Ed. by K. J. Moore, M. A. Peterson, D. M. Kral, M. K. Viney. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA CS-SA Special Publication 22 p. 91-115.
- KEADY, T.; STEEN, R. 1995. The effects of treating low dry-matter, low digestible grass with a bacterial inoculant on the intake and performance of beef cattle, and studies on its mode of action. *Grass and Forage Science* 50: 217-226.
- MACHIN, D. 1999. The potential use of tropical silage for livestock production with special reference to smallholders. FAO Electronic Conference on Tropical Silage. <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/contents.htm>. Paper 5.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.; HERON, S. 1991. The biochemistry of silage. Chalcombe Publications, Marlow, UK. 184-236 pp.

- MUCK, R.; KUNG Jr., L. 1997. Effects of silage additives on ensiling proceedings from the silage: field to feedbunk. North American Conference . Hershey, Pennsylvania, USA February 11-13 p. 187-199.
- \_\_\_\_\_. 1988. Factors influencing silage quality and their implication for management. *Journal of Animal Science* 71(11): 2992-3002.
- LUIS, L.; ESPERANCE, M.; OJEDA, F.; CACERES, O.; SANTANA, H. 1992. Fermentación de ensilajes tropicales con la utilización de bacterias ácido lácticas aisladas en Cuba. *Pastos y Forrajes (Cuba)* 15:63-69.
- \_\_\_\_\_. RAMÍREZ, M. 1991. Utilización de aditivos en la conservación de forrajes en forma ensilaje. I. Aditivos biológicos. *Pastos y Forrajes (Cuba)* 14:185-198.
- O' KELLY, P. 1992. Silage production as a pollutant: new ways to reduce its environmental impact. In: *Biotechnology in the feed industry*. Ed. by T. P. Lyons. Proceeding of alltech's eighth animal symposium. p. 151-163.
- OJEDA, F.; CACERES, O.; ESPERANCE, M. 1991. Conservación de forrajes. Editorial Pueblo y Educación. Cuba. 80 p.
- OTERO, M.; ESPERANCE, M. 1994. Estudio de la ensilabilidad de la Guinea Likoni (*Panicum maximum* Jacq) según el índice de azúcar-/capacidad tampón. *Pastos y Forrajes (Cuba)* 17:277-281.
- RANJIT, N.; KUNG Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science* 83:526-535.
- SINGH, A.; EDWARD, J.; MOR, S.; SINGH, K. 1996. Chemical and microbiological change during ensiling of Lucerne with lactic acid bacteria and molasses. *Indian Journal Dairy Science* 49(9):593-598.
- STEFANIE, J.; DRIEHUIS, F.; GOTTSCHAL, J.; SPOELSTRA, S. 1999. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Electronic Conference on Tropical Silage*. <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/contents.htm>. Paper 2.

- VALLEJO, M. 1995. Efecto del premarchitamiento y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C. R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 117 p.
- WEINBERG, Z.; MUCK, R. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiological views* 19 (1):53-68.

