Nutrición Animal Tropical 19 (1): 125-158. Enero-Junio, 2025
ISSN: 2215-3527 / DOI: 10.15517/1qrw6g94

Artículo científico

Dinámica microbiana *in vitro* de un ensilaje de *Sorghum saccharatum* enriquecido con y sin inóculos de *Lactobacilli* sp.[1]

Diana Katherine Villalba[2], Vilma A. Holguín[3†], Jairo Mora-Delgado[4]

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue analizar la dinámica microbiana de un ensilaje de *Sorghum saccharatum* (SD) enriquecido con inóculos de *L. plantarum* y *L. buchneri*, con el fin de determinar la cinética de degradación de la materia seca (MS) de forma *in vitro*. La investigación se llevó a cabo en El Espinal, Tolima, Colombia. Se evaluaron tres tratamientos: T1: ensilado de SD sin inoculación; T2: ensilado de SD inoculado con *Lactobacillus buchneri* (concentración de $6x10^5$ UFC/g); T3: ensilado de SD inoculado con *Lactobacillus plantarum* (concentración de $1x10^5$ UFC/g) con 5 repeticiones cada uno. La calidad microbiológica se evaluó en dos tiempos de fermentación: el primer día y a los 21 días. La producción de gas se midió en ambos tiempos a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48 y 72 horas. Asimismo, las cinéticas de degradación de la MS se monitorearon a las 6, 12, 24, 48 y 72 horas. Los parámetros de las cinéticas de fermentación y las curvas de degradación se ajustaron a los modelos propuestos por Ørskov y McDonald, utilizando el procedimiento PROC NLIN de SAS. Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la degradación de la MS, se realizó un análisis

---

[1]Esta investigación formó parte del trabajo de graduación de maestría del primer autor. Maestría en Ciencias Pecuarias. Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia.

[2]Universidad del Tolima. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ibagué, Colombia. Autor de correspondencia: dkvillalbao@ut.edu.co (https://orcid.org/0000-0002-7249-333X).

[3†]Universidad del Tolima. Departamento de Producción Pecuaria. Ibagué, Colombia. Correo electrónico: jrmora@ut.edu.co (https://orcid.org/0000-0003-2680-5846).

[4]Universidad del Tolima. Sistemas Agroforestales Pecuarios Grupo de Investigación. Ibagué, Colombia. Correo electrónico: jrmora@ut.edu.co (https://orcid.org/0000-0002-1093-4216).

Recibido: 03 agosto 2024 **Aceptado:** 25 junio 2025

Esta obra está bajo licencia internacional CreativeCommons Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0.

de medidas repetidas en el tiempo, utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS. Los resultados mostraron 92,9 ± 0,6 mg de CO2/g de sustrato seco en el pico de la curva, lo que indicó una disminución del 37,85% en la población microbiana, siguiendo una tendencia inversa logarítmica. Se concluyó que el sorgo dulce posee bacterias epífitas que permiten un desempeño adecuado de la fermentación y una buena capacidad de acidificación del medio. Los aditivos comerciales no tuvieron efecto sobre las cinéticas de degradación y fermentación de los ensilados.

Palabras clave: Bacterias ácido-lácticas, microbiología, materia seca, digestibilidad, bromatología.

ABSTRACT

In vitro microbial dynamics of a *Sorghum saccharatum* silage enriched with and without *Lactobacilli* sp inoculants. The dry matter (DM) degradation kinetics and microbial dynamics of *Sorghum saccharatum* (SS) enriched with additives based on *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* were determined *in vitro*. Three treatments were evaluated: T1: SS silage without inoculation; T2: SS silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* (concentration of $6x10^5$ CFU/g); T3: SS silage inoculated with *Lactobacillus plantarum* (concentration of $1x10^5$ CFU/g), with 5 replicates each. Microbiological quality was evaluated at two fermentation times: the first day and at 21 days. Gas production was measured at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, and 72 hours. Likewise, DM degradation kinetics were monitored at 6, 12, 24, 48, and 72 hours. The parameters of the fermentation kinetics and degradation curves were adjusted to the models proposed by Ørskov and McDonald, using the PROC NLIN procedure of SAS. To determine the effect of treatments on DM degradation, a repeated measures analysis over time was performed using the PROC MIXED procedure of SAS. The results showed 92.9 ± 0.6 mg

CO_2/g dry substrate at the peak of the curve, which indicated a 37.85% decrease in the microbial population, following a logarithmic inverse trend. It is concluded that sweet sorghum has epiphytic bacteria that allow adequate fermentation performance and a good capacity to acidify the medium. Commercial additives did not affect the degradation and fermentation kinetics of the silage.

Keywords: Lactic acid bacteria, microbiology, dry matter, digestibility, bromatology.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de rumiantes en Colombia se basan en el pastoreo, lo que condiciona su rendimiento a la calidad y cantidad de forraje disponible en los pastos. La estacionalidad en la producción de forrajes constituye una limitante, ya que durante las épocas secas se presenta escasez de alimento, mientras que en otras épocas ocurre una sobreproducción asociada a las altas precipitaciones (Miguel et al., 2019). Debido a esto, las prácticas de alimentación y suplementación estratégica a partir de recursos forrajeros tropicales constituyen una opción tecnológica amigable con el medio ambiente (Holguín et al., 2015). En este sentido, el uso de forrajes alternativos, y su conservación, constituyen una estrategia viable. De esta manera, el desafío consiste en cómo conservar los forrajes para diferir su uso entre épocas de alta producción y escasez sin perder calidad. El ensilaje se presenta como una alternativa viable para este propósito (Holguín et al., 2018b).

La búsqueda de alternativas que fortalezcan los sistemas de alimentación animal, en particular durante los periodos de escasez, es fundamental en las regiones tropicales (Holguín, 2016). En este contexto, es necesario evaluar el valor nutricional de los forrajes alternativos y de los ensilajes mediante metodologías prácticas y confiables, que generen información relevante para la toma de decisiones a nivel de finca (Huertas et al., 2021).

Desde la última década del siglo XX, el sorgo ha sido objeto de estudio como fuente forrajera, en estado fresco o ensilado, para la alimentación del ganado, debido a su tolerancia a la sequía, alto potencial de rendimiento y adaptabilidad a distintas condiciones edáficas (Souza et al., 2013). La principal preocupación en el uso del sorgo para ensilaje es el potencial de rendimiento de materia seca (MS) de toda la planta, que oscila entre 9 y 20 t/ha (Oktem y Oktem, 2022); y representa un potencial significativo en la producción de forraje de sorgo y ensilado para la nutrición del ganado (Houx III et al., 2013; Xie y Xu, 2019). El sorgo forrajero, debido a su alto contenido de azúcares solubles en el tallo, se considera adecuado para la producción de ensilajes (Colombini et al., 2010; 2012; Cattani et al., 2017). Sin embargo, la calidad del ensilaje puede optimizarse mediante la aplicación de aditivos inoculantes que potencien los procesos fermentativos (Fazaeli et al., 2006). Investigaciones anteriores han reportado una adecuada fermentación y calidad del ensilaje de sorgo, particularmente en zonas áridas o con limitaciones hídricas (Zhang et al., 2015; Zhang et al., 2016).

Las características del material a ensilar son decisivas para la calidad del producto, ya que el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas (BAL) permite que el pH del silo disminuya (Bezabih y Tamir, 2014), lo que se representa menores pérdidas de la masa ensilada. La calidad del ensilado depende de diversos factores entre los que se destacan las características del forraje y los cambios que se generan en su fermentación. Este último factor depende, en gran medida, del tipo de microorganismos que colonicen el sustrato y del pH que alcance el silo, así como de la velocidad con la que se produzca este proceso (Kung, 2010).

Para mejorar los procesos de fermentación, los aditivos juegan un papel importante. Sin embargo, es importante tener claro que el aditivo no puede sustituir un buen manejo del proceso de ensilaje. Un aditivo no previene los efectos negativos de una mala fermentación del forraje, causada por cubiertas plásticas permeables al oxígeno o por un almacenamiento prolongado a temperaturas superiores a 30 ºC (Kung, 2018).

Los inoculantes microbianos contienen bacterias seleccionadas para dominar los cultivos microbianos presentes en el silo y optimizar los procesos de fermentación. Según el tipo de

fermentación que realizan sobre azúcares presentes en las plantas, como la glucosa, estos inoculantes se clasifican en dos categorías: homofermentadores y heterofermentadores. Los homofermentadores producen exclusivamente ácido láctico, y dentro de este grupo se incluyen especies como *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus* spp. y *Enterococcus* spp. Por otro lado, los heterofermentadores generan no solo ácido láctico, sino también ácido acético, etanol y dióxido de carbono. El mejor ejemplo de este grupo es *Lactobacillus buchneri* (Reich y Kung, 2010; Muck et al., 2018; Koc et al., 2017).

Los inoculantes bacterianos presentan varias ventajas sobre otros aditivos, como su bajo costo, seguridad de uso, baja tasa de aplicación y ausencia de residuos o impactos ambientales negativos. Sin embargo, los resultados de su aplicación pueden ser variables, probablemente debido a las diferencias en las condiciones del ensilaje al momento de la aplicación. Cuando se combinan con enzimas que degradan la pared celular y el almidón, aumentan la disponibilidad de carbohidratos para la fermentación láctica, lo que mejora tanto la fermentación como el valor nutricional del ensilaje de pastos y leguminosas tropicales (Muck et al., 2018).

Además, las cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) epífitas presentes en los forrajes tropicales son candidatas prometedoras para su uso como aditivos en el ensilaje (Heinritz et al., 2012). Por ello, es fundamental identificar aquellas cepas con capacidad para favorecer la fermentación láctica (especialmente cepas homofermentativas) en el forraje objetivo (Holguín et al., 2018a).

Existen diferentes métodos para evaluar la efectividad del proceso de ensilaje. Aunque la calidad bromatológica de los ensilados es un indicador útil, es fundamental también evaluar y conocer la velocidad de degradación de estos alimentos en el rumen, ya que este factor es decisivo y sirve como herramienta clave para la formulación adecuada de raciones (Rossi et al., 2016).

Para determinar los procesos de ensilaje se debe evaluar la actividad microbiológica del

ensilado, ya que son los encargados de realizar el proceso de fermentación esencial para el adecuado proceso de conservación que representará el éxito o fracaso de la técnica (Kung et al., 2018). Para monitorear la cinética de degradación del ensilado a evaluar se utiliza la técnica de producción de gas, la cual es un método *in vitro* que permite determinar la extensión y cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo (Theodorou et al, 1994).

La técnica de producción de gas *in vitro* permite establecer una relación lineal positiva entre la degradación de la materia seca y la producción de gas durante el proceso de fermentación. Esta relación indica que cuanto mayor es la degradación del sustrato, mayor es el volumen de gas que se produce. La degradación de la materia seca puede producir diferentes volúmenes de gas (Mao et al., 2014; Posada y Noguera, 2005). La hipótesis constituye la guía de la investigación: la calidad del ensilado de sorgo dulce suplementado con aditivos de *L. buchneri* y *L. plantarum* puede mejorarse y afectar positivamente la cinética de degradación ruminal *in vitro*. El estudio tuvo como objetivo analizar la dinámica microbiana de un ensilado de *Sorghum saccharatum,* enriquecido con inóculos de *L. plantarum* y *L. buchneri* para determinar la cinética de degradación de la materia seca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de sorgo

El forraje utilizado para ensilaje fue el sorgo dulce variedad HT 70. Se cultivó en el Centro de Investigación Nataima, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia). Este se encuentra a una altura de 418 m s.n.m., cuyas coordenadas geográficas son de 4°11’31.65’’ latitud norte (N) y 74°57’41.49’’ longitud oeste (W). Está ubicado en la microrregión del valle cálido del Alto Magdalena, en el departamento del Tolima, municipio de

El Espinal, Colombia; en una zona clasificada como Bosque Seco Tropical (BsT). Según Holdridge (1977), presenta suelos en su mayoría franco arenosos, una temperatura media de 28 °C, una precipitación de 1250 mm al año con distribución bimodal y una humedad relativa del 70% (Carvajal, 2004).

La región cuenta con dos temporadas de lluvias principales (marzo-junio y septiembre-noviembre) y dos de sequía (diciembre-febrero y julio-agosto). El sorgo puede sembrarse al inicio de cada temporada de lluvia para aprovechar la humedad. Previo al establecimiento del sorgo dulce, se hizo un arado y rastreo para romper la compactación del suelo, mejorar la aireación y favorecer la germinación de las semillas.

Preparación del ensilaje

Para este estudio, el forraje de sorgo se cultivó durante la primera temporada lluviosa, correspondiente a inicios de marzo, con el fin de cosecharlo en junio a los 90 días, en estado de grano pastoso con 70% de humedad. Al forraje cosechado se le redujo el tamaño de partícula a 2 cm, en un molino de tres aspas a 7,5 HP, 1400 rpm y 4,5 Amps marca Gaitán. Una vez picado el forraje se realizó una mezcla manual.

Aditivos y tratamientos

A raíz del interés de los productores de comprobar la efectividad de inoculantes comerciales, se evaluaron dos aditivos frente a la microflora epifita nativa del forraje de sorgo. Los aditivos se aplicaron en los niveles recomendados por el fabricante, con el objetivo de proporcionar 1 × 10^5 UFC/g. Para ello, los inoculantes se diluyeron en 10 mL de agua desionizada y la suspensión se asperjó uniformemente sobre 100 kg de forraje picado (peso húmedo), utilizando una bomba manual, para cada uno de los tratamientos. Los microrganismos se aplicaron a los forrajes de manera uniforme con mezcla constante. Los tratamientos fueron: Tratamiento 1 (T1): ensilado de sorgo dulce sin inóculo (grupo control); Tratamiento 2 (T2):

ensilaje de sorgo dulce + aditivo *L. buchneri* con una concentración de $6X10^5$ UFC/g; Tratamiento 3 (T3): ensilaje de sorgo dulce + aditivo *L. plantarum* con una concentración de $1X10^5$ UFC/g.

Recolección de muestras de ensilaje

Se prepararon microensilajes de 5 kg utilizando bolsas de polietileno calibre 6 (0,06 milésimas de pulgada), las cuales fueron compactadas, selladas manualmente y almacenadas. Se establecieron tres tratamientos con cinco repeticiones cada uno. La humedad al momento del almacenamiento fue del 77 %. Se realizó un análisis bromatológico los días 1 y 21 del proceso. Los ensilajes fueron abiertos en cuatro ocasiones correspondientes a los días 1, 7, 14 y 21, para la toma de muestras. Estas se secaron en una estufa de ventilación forzada a 60 °C durante 48 horas, y posteriormente fueron molturadas en un molino con tamiz de 1 mm. De esta manera, se llevaron a cabo cuatro evaluaciones con una frecuencia de siete días.

Análisis bromatológico

La materia seca se determinó mediante deshidratación en una estufa de vacío a 105 °C durante 48 horas. Los contenidos de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) se analizaron siguiendo la metodología descrita por Van Soest y Wine (1967). El contenido de nitrógeno se evaluó mediante el método de Kjeldahl (Nielsen, 1994), y a partir de este se calculó la proteína cruda. El extracto etéreo se determinó por el método de Soxhlet, y el contenido de cenizas mediante el método de residuo mineral fijo descrito por la AOAC (1990).

Preparación del sistema in vitro

Siguiendo el protocolo de Duque et al. (2009), se obtuvo el fluido ruminal de dos vacas Holstein fistuladas en el rumen para la colecta del inoculo. Las vacas estuvieron pastoreando una pradera de *Pennisetum clandestinum* sin suministro de concentrado. La colecta se hizo a las 6:00 am de forma manual y se almacenó en recipientes térmicos precalentadas con agua a 40 ºC. Posteriormente, se transportó al laboratorio donde se filtró a través de paños de algodón.

El fluido se transfirió a un Erlenmeyer que se mantuvo a una temperatura de 39 ºC y fue gaseado permanentemente con CO_2 para garantizar condiciones anaeróbicas.

Preparación de matraces de incubación

La producción de gases originados por la fermentación de la MS se determinó mediante la técnica semiautomática de producción de gas *in vitro* descrita por Mauricio et al. (1999). Se utilizaron frascos de vidrio con capacidad de 100 mL, previamente lavados y secados en estufa a 110 °C durante 12 horas. En cada uno de ellos se pesó aproximadamente 0,5 g de forraje. Después de eso, se agregaron a cada matraz 5 mL de líquido ruminal y 45 mL de la solución tampón. Los frascos se sellaron con tapón de goma, se agitaron manualmente y se transfirieron a un horno de ventilación forzada a 39 ºC (tiempo cero).

Incubación

Siguiendo el procedimiento descrito por Duque et al. (2009), se utilizaron como blancos una serie de matraces que contenían medio de cultivo e inóculo, pero sin sustrato, con el fin de corregir la presión generada por la saturación con CO_2 y la fermentación de los microorganismos presentes en el líquido (Theodorou et al., 1994). Estos matraces, que contenían medio de cultivo, muestra e inóculo, fueron gaseados con CO_2 y sellados con tapones de goma de 14 mm. Posteriormente, se colocaron en cajas de poliestireno de 1,5 cm de espesor para su incubación, y se incubaron en una estufa de ventilación forzada a 39 °C. El número de días de incubación y los intervalos de evaluación se establecieron según el método de Theodorou et al. (1994).

Recolección de gases y muestreo de MS

Los tiempos de fermentación a partir del sellado del silo fueron los días 1 y 21, en los cuales se evaluaron cinco repeticiones de cada uno. En seguida, se realizó la preparación del medio; para ello, la solución tampón se preparó un día antes del inicio del experimento según lo recomendado por McDougall (1948). La solución se realizó con 9,80 g/L de $NaHCO_3$, 4,65 g/L

de $Na_2HPO_4{\cdot}2H_2O$, 0,57 g/L de KCl, 0,47 g/L de NaCL, 0,12 g/L de $MgSO_4.7H_2O$ y 0,05 g/L de $CaCl_2.2H_2O$ (Silva y de Queiroz, 2002). Dichos reactivos se disolvieron en agua destilada, agitando vigorosamente para permitir la mezcla completa de las soluciones y se saturó con CO_2 durante dos horas, posteriormente, se almacenó a 39 ºC.

Lecturas de producción de gas

Se usó un transductor de presión digital tipo OMEGA Modelo PX 605-030GI para medir la presión derivada de la acumulación de gases de la fermentación. Se insertó una aguja a través de la tapa de goma de las botellas para conectarla después a una manguera del transductor. Las lecturas de presión de gas en libras por pulgada cuadra (PSI) se realizaron a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 horas de incubación. Luego de cada lectura, los matraces se agitaron manualmente y se retornaron a la incubadora.

La trasformación de datos de presión a volumen se realizó con la siguiente ecuación:

$$Y = -0{,}1375 + 5{,}1385X + 0{,}0777X^2$$

Donde Y representa el volumen de gas producido por cada unidad de presión (X) (Posada y Noguera 2005).

Degradación in vitro de materia seca (MS)

La cinética de degradación de la MS se analizó retirando los frascos de vidrio del periodo de incubación a diferentes tiempos: 6, 12, 24, 48 y 72 horas. Los residuos resultantes de la incubación se separaron mediante papel filtro de peso conocido, se secaron a 65 °C durante 48 horas y posteriormente se pesaron para calcular la desaparición de la materia seca (Duque et al., 2009).

Evaluación de la calidad microbiológica

La evaluación de la dinámica microbiológica de los lactobacilos se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal de la Universidad del

Tolima. Para ello, se desarrolló la cinética de degradación de MS y producción de gas en el Laboratorio de Nutrición de Rumiantes perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrícolas, ubicado en la Sede Universitaria de Investigación, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Se estudió la calidad microbiológica de los ensilajes, utilizando los parámetros de recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, mohos y levaduras. Se evaluó la presencia de patógenos como *Listeria*, *Salmonella* y *Clostridium*. Para ello, se utilizaron aditivos comerciales, cuya dilución se realizó siguiendo las recomendaciones del laboratorio. Para verificar la concentración de las poblaciones de lactobacilos y las unidades formadoras de colonias (UFC) utilizadas en cada tratamiento, se sembró una muestra de cada uno.

Se evaluaron tres tratamientos, cada uno con cinco repeticiones de la población de bacterias productoras de ácido láctico (LAB), a lo largo de cuatro tiempos de fermentación: 1, 7, 14 y 21 días. La variable evaluada fue la concentración de lactobacilos, expresada en UFC/g.

Análisis estadístico

Para comparar las características microbiológicas, se analizaron los resultados de las variables en dos momentos: el día 1 y el día 21. Para ello, se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para comparar los valores entre ambos momentos. Además, para detectar diferencias entre los tratamientos en cada tiempo de fermentación, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Esta misma prueba se aplicó específicamente para evaluar los valores de lactobacilos. También se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un modelo de dos factores y medidas repetidas en uno de ellos. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software SPSS versión 20.0 (IBM, 2011).

Por otro lado, para estimar los parámetros cinéticos de fermentación y degradación, las curvas de producción de gas y degradación de MS se ajustaron a los modelos propuestos por Ørskov y McDonald (1979):

$$p= a+b\ (1-e^{-ct})$$

Donde:

p = tasa de degradación a lo largo del tiempo.

α = fracción soluble en agua.

b = fracción no soluble en agua, potencialmente degradable.

c = tasa de degradación de la fracción b.

t = tiempo de incubación.

Por medio del procedimiento PROC NLIN de SAS (2001), se determinó el efecto de los tratamientos sobre la degradación de la materia seca (MS) a lo largo del tiempo. Además, se realizó un análisis de medidas repetidas utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (2001), en colaboración con la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia.

RESULTADOS

Análisis bromatológico

En la materia seca (MS) se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) únicamente en el T2 entre los días 1 y 21. Para el contenido de cenizas, se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos 1 y 2 en ambos tiempos evaluados. En cuanto a la proteína cruda (PC), el día 1 se encontraron diferencias entre T1 y T2, mientras que en el día 21 se observaron diferencias entre T2 respecto a T1 y T3, así como entre T2 y T3. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos en el día 1 para las variables FDN y FDA; sin embargo, a los 21 días sí se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en FDN entre T2 y T3 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características bromatológicas de ensilajes de sorgo dulce en dos tiempos de fermentación.

(%)	Tiempo de fermentación (día)	T1	T2	T3
MS	1	22,99 ± 1,39^{a}	24,73 ± 1,04^{a}	23,31 ± 1,46^{a}
	21	22,49 ± 0,61^{a}	22,55 ± 1,48^{a}	22,37 ± 0,61^{a}
Cen	1	8,11 ± 0,40^{a}	7,43 ± 0,16^{b}	7,81 ± 0,22^{ab}
	21	8,01 ± 0,33^{a}	7,36 ± 0,40^{b}	7,79 ± 0,41^{ab}
EE	1	4,38 ± 1,45^{a}	6,63 ± 2,47^{a}	5,54 ± 2,38^{a}
	21	5,03 ± 1,58^{a}	5,49 ± 1,04^{a}	5,34 ± 0,96^{a}
PC	1	6,90 ± 0,58^{a}	5,90 ± 0,21^{b}	6,02± 0,13^{ab}
	21	6,78 ± 0,26^{ac}	6,34 ± 0,17^{b}	6,80 ± 0,27^{c}
FDN	1	53,62 ± 2,36^{a}	54,62 ± 1,62^{a}	52,14 ± 0,68^{a}
	21	54,30 ± 1,47^{a}	54,10 ± 2,56^{a}	55,05 ± 1,44^{a}
FDA	1	37,08 ± 1,53^{a}	38,07 ± 1,05^{a}	37,74 ± 1,26^{a}
	21	39,50 ± 1,74^{a}	41,24 ± 1,70^{a}	41,52 ± 1,54^{a}

MS: materia seca; Cen: cenizas; EE: extracto etéreo; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácido. Letras diferentes en la misma fila por tiempo de fermentación (1 día y 21 días) indican valores estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Calidad microbiológica

Los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica de los ensilajes muestran una reducción de la presencia de microorganismos patógenos con el proceso de fermentación, lo que concuerda con la disminución de los niveles de pH, detectándose una diferencia significativa ($p < 0.05$) de estos valores a lo largo del tiempo. Si bien en las pruebas iniciales se detectó la presencia de *Salmonella* en el T2, se pudo controlar con la disminución del pH y con las condiciones óptimas de fermentación, inhibiendo su crecimiento y proliferación, estando ausente 21 días. La presencia de hongos y levaduras aumentó durante la fermentación tanto en el T1 como en el T3 y disminuyó en el T2 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Evaluación microbiológica de ensilajes de sorgo dulce inoculados con *Lactobacillus.*

Bacterias	T1		T2		T3	
	Día 1	Día 21	Día 1	Día 21	Día 1	Día 21
Aerobios mesófilos (UFC/g)	$158{,}00 \times 10^5$	$36{,}20 \times 10^5$	$228{,}00 \times 10^5$	$0{,}19 \times 10^5$	254×10^5	$58{,}60 \times 10^5$
Coliformes totales (NMP)	$98{,}20 \times 10^4$	100,00	$242{,}10 \times 10^4$	100,00	$252{,}00 \times 10^4$	10,00
Reductores de sulfito de *Clostridium* (UFC/g)	10	10	14	10	10	16
Hongos y levaduras spp (UFC/g)	$50{,}20 \times 10^4$	$175{,}00 \times 10^4$	$80{,}00 \times 10^4$	$0{,}40 \times 10^4$	$51{,}60 \times 10^4$	$834{,}00 \times 10^4$
Escherichia coli / 25g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Salmonella spp / 25g	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Listeria spp	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Lactobacillus

Se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados al día 21 (Cuadro 3). En el momento de fermentación correspondiente al día 21 los valores de *Lactobacillus* aumentaron significativamente para el T1, mientras que para el T2 el aumento fue moderado y para el T3 disminuyó (Figura 1).

Cuadro 3. Población de lactobacilos en ensilajes de sorgo dulce inoculados con lactobacilos (valores dados como 10^6 UFC/g).

Semanas	Tratamientos (10^6 UFC/g)			Significancia
	T1	T2	T3	
1	616 ± 620	789 ± 332	931 ± 620	0.40
2	1998 ± 1659	788 ± 431	739 ± 470	0.47
3	1857 ± 1720	655 ± 239	295 ± 323	0.18
4	2479 ± 1359	1005 ± 297	316 ± 196	0.01

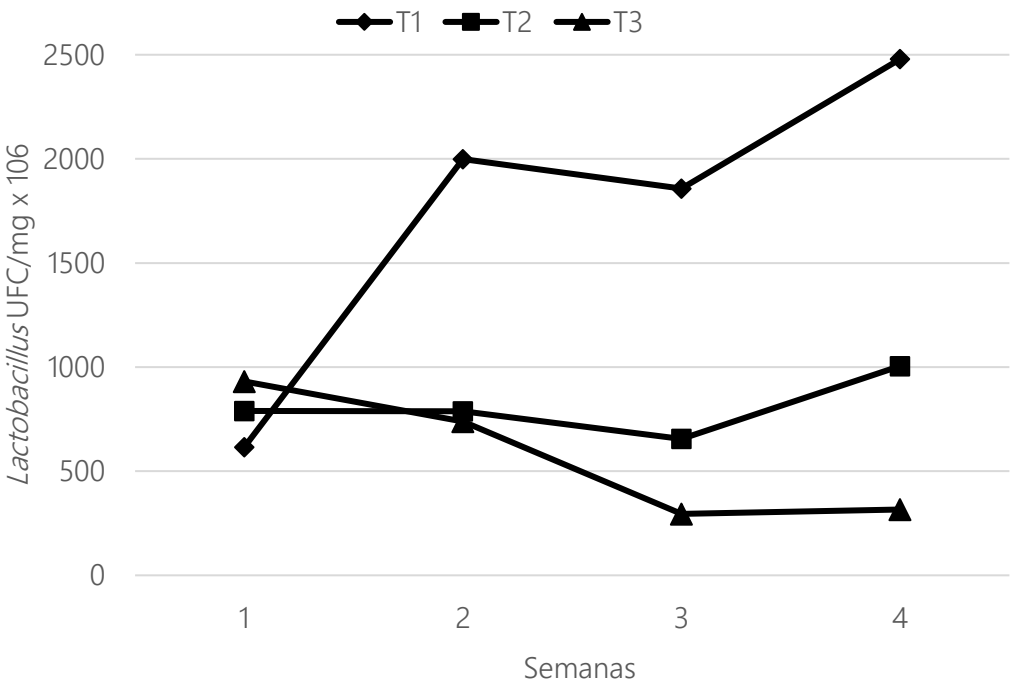

Figura 1. Población de *Lactobacillus* a través de los tiempos de fermentación en ensilajes de sorgo dulce enriquecidos con aditivos.

Parámetros de degradación de MS

Al comparar los resultados de la fracción rápidamente degradable (A) entre los tratamientos y en cada uno de los tiempos de fermentación (días 1 y 21), se observó que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los ensilajes preparados con aditivos de *Lactobacillus* y el ensilaje sin aditivo. No obstante, al comparar los tratamientos entre sí, se puede observar que la fracción A estimada fue mayor en el T2, seguido del T1, posiblemente debido a su mayor concentración de carbohidratos solubles. En cuanto a la fracción lentamente degradable (B), los resultados del día 1 fueron mayores para el T3, mientras que en el día 21 fueron mayores para el T2 (Cuadro 4)

Cuadro 4. Valores promedio de los parámetros de degradación estimados a partir de la técnica de producción de gas *in vitro*.

Parámetros (%)	Dia 1			Dia 21		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
A	17,09	17,61	14,15	6,43	7,77	5,04
B	56,13	58,64	62,05	57,22	58,59	53,71
C	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
Degradación potencial	73,22	76,25	76,20	63,65	66,36	58,75
Fracción indigestible	26,78	23,75	23,80	36,35	33,64	41,25

A: fracción rápidamente degradable, B: fracción lentamente degradable, C: tasa constante de degradación de la fracción B, Degradación potencial: A + B, Fracción indigestible: 100- (A + B).

Para la fracción potencialmente degradable, la tasa de degradación y la fracción no digerible, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$) en los tiempos de fermentación evaluados. Esto permite concluir que dichos parámetros no se vieron afectados por el tipo de aditivo utilizado en la preparación de los ensilajes. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) al comparar los dos tipos de aditivos dentro de cada uno de los tiempos de fermentación (Figura 2).

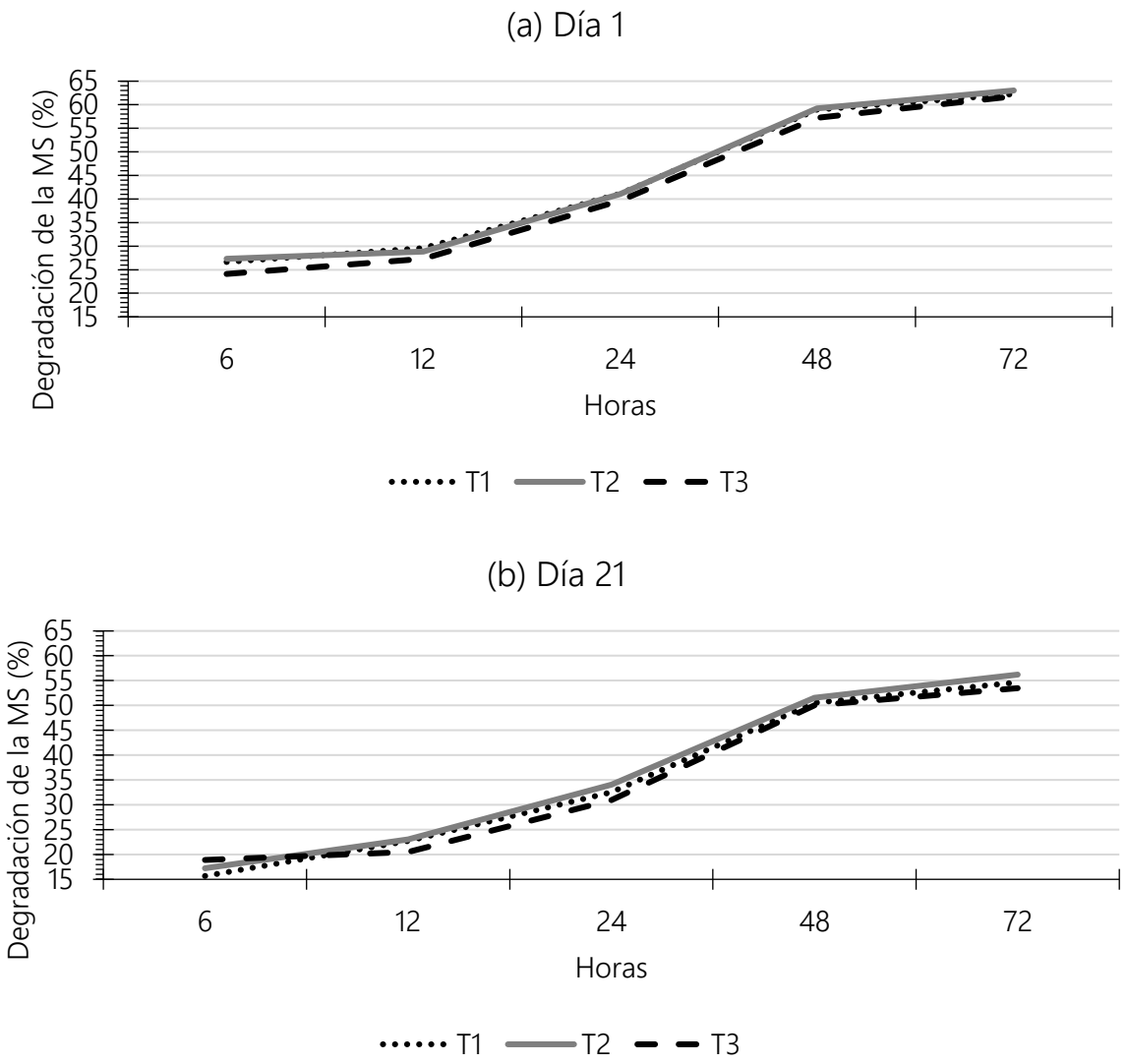

Figura 2. Degradación *in vitro* de la materia seca (MS) de los tratamientos en diferentes tiempos.

Parámetros de producción de gas

Los parámetros cinéticos de producción de gas para los tratamientos, volumen acumulado de producción de gas después de 72 horas de incubación (VF), tiempo de colonización (L) y tasa de producción de gas, se presentan en el Cuadro 5.

Los volúmenes finales de producción de gas fueron similares entre tratamientos ($p > 0.05$), lo que indica que los aditivos no tuvieron efecto sobre el volumen de gas producido, según los resultados obtenidos.

Cuadro 5. Parámetros de producción de gas estimados para los tratamientos en estudio.

Parámetros	Día 1			Día 21		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
VF, mL	295,00	299,20	289,30	256,00	268,90	239,90
L, horas	0,47	1,57	1,14	2,93	3,92	2,97

VF= volumen acumulado de producción de gas (mL) correspondiente a la digestión completa del sustrato; L = tiempo de colonización expresado en horas.

El tiempo de colonización, definido como el intervalo necesario para la hidratación y colonización de las bacterias en el sustrato, requisito previo para iniciar la degradación, no se vio afectado por el tipo de aditivo ($p > 0.05$). No obstante, se observó que en el día 1 el ensilaje con aditivo *Lactobacillus buchneri* (T2) requirió más tiempo para iniciar el proceso de fermentación. De forma similar, en el día 21, el T3 presentó el mayor tiempo de colonización, seguido del T1, lo que sugiere que la tasa de producción de gas se vio influenciada por la concentración de carbohidratos de fermentación rápida (Cuadro 5).

El factor de partición (FP) relaciona los miligramos de sustrato degradado con el volumen de gas producido, por lo que se considera un indicador de eficiencia microbiana (Cardona-Iglesias, et al. 2017). En la Figura 3 se puede observar que los valores de FP disminuyen con el tiempo de incubación en cada tratamiento, lo que indica una actividad microbiana constante durante el proceso de fermentación. El FP no se vio afectado por el tipo de aditivo ($p > 0.05$). Sin embargo, se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo de fermentación del día 1, donde el T1 difirió de T2 y T3, así como en el día 21.

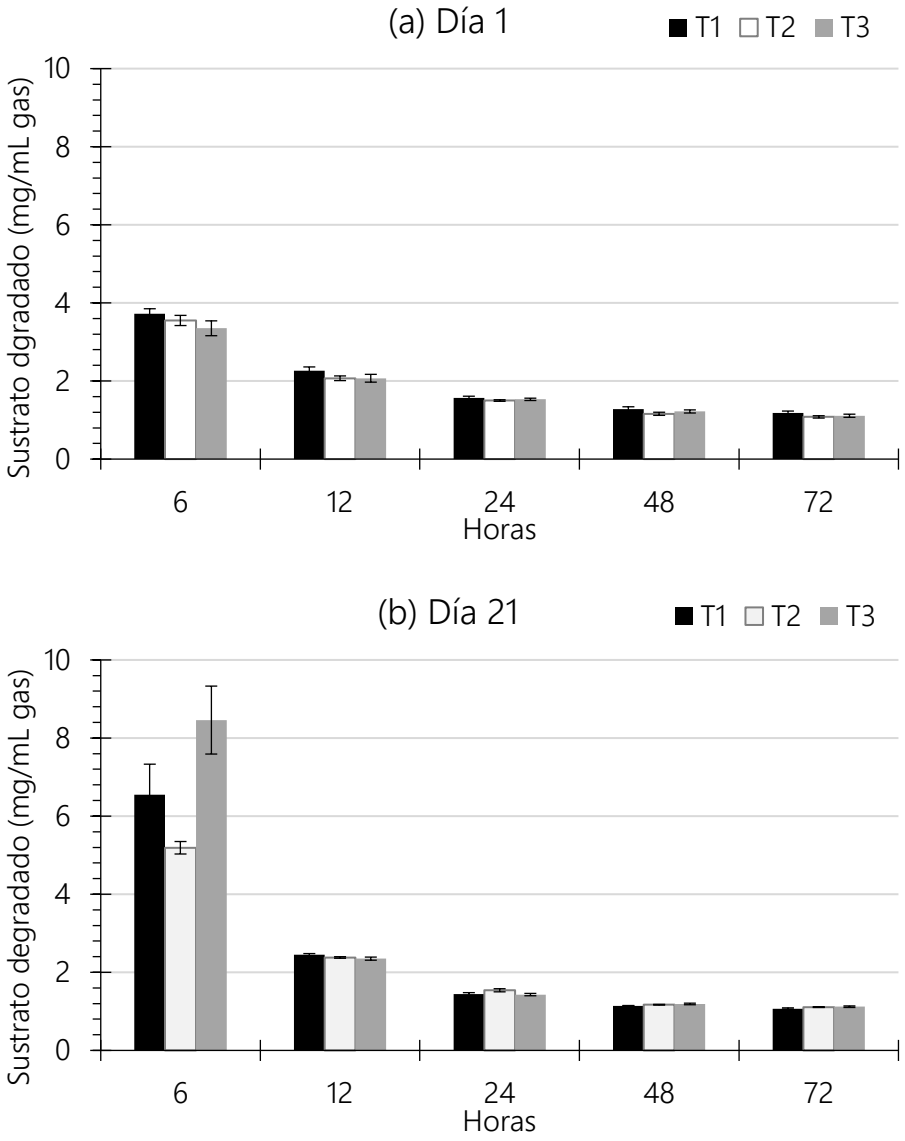

Figura 3. Factor de partición que relaciona la cantidad de sustrato degradado (mg) y el volumen de gas producido (mL) durante los procesos de incubación.

La producción acumulada de gas, expresada en mL/g de materia seca incubada, para los tres tratamientos evaluados en todos los tiempos de lectura, se muestra en la Figura 4. Durante el primer día de fermentación, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el volumen

de gas acumulado entre tratamientos. No obstante, a los 21 días de fermentación, en las primeras horas de lectura (4, 6 y 8 horas), se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo el volumen de gas acumulado en el T2 diferente con respecto a T1 y T3.

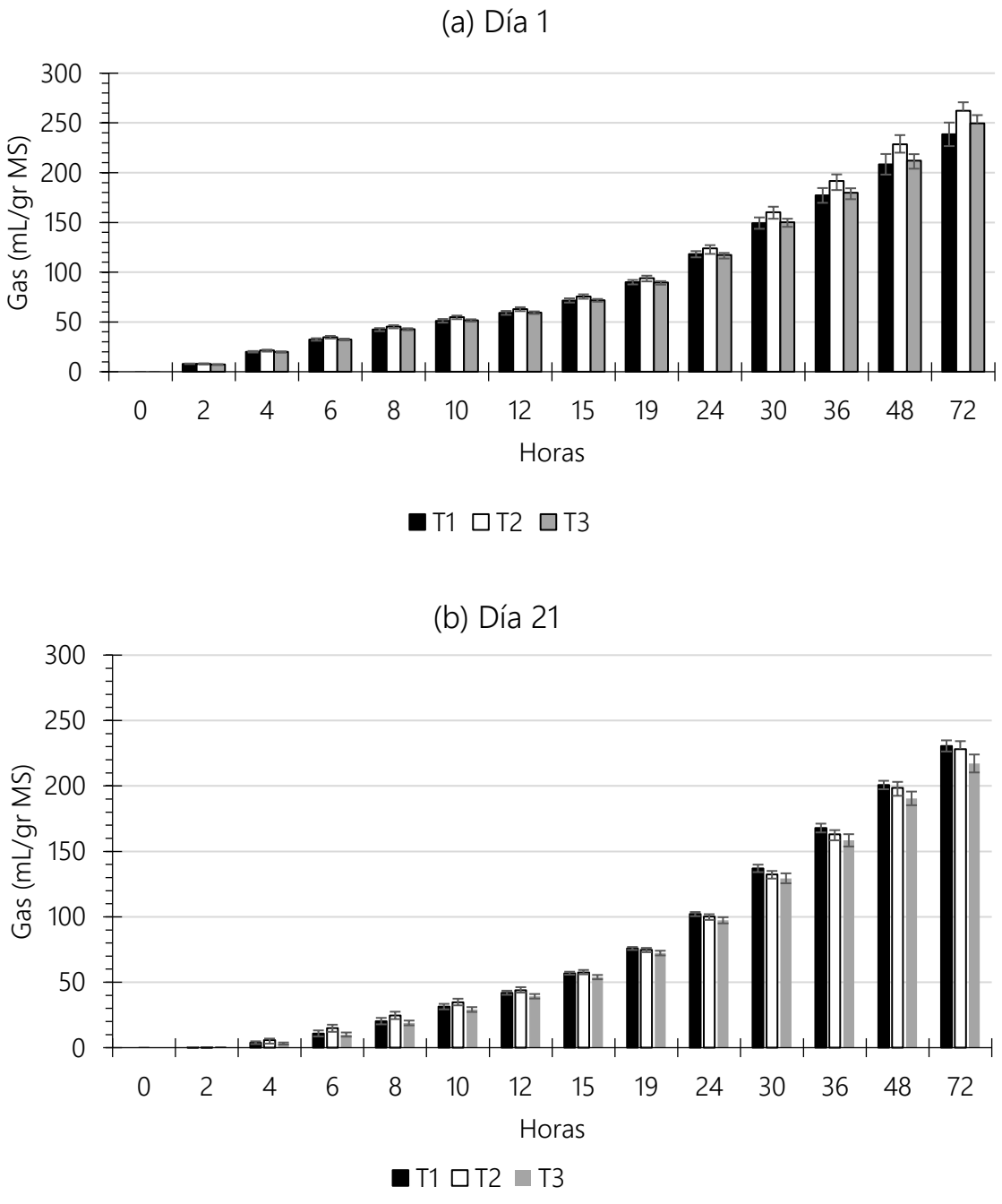

Figura 4. Volumen de gas acumulado (mL/g de MS incubada) durante todos los tiempos de medición para los tratamientos en estudio.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que los valores de los principales nutrientes del ensilaje de sorgo dulce se encuentran dentro de los rangos reportados en estudios previos (Caraballo, 2010). Este hallazgo sugiere que, desde el punto de vista bromatológico, el sorgo dulce constituye una alternativa viable como forraje conservado en condiciones tropicales.

Sin embargo, la inclusión de aditivos a base de *Lactobacillus* no mostró un efecto positivo en la mejora de las características nutricionales del ensilaje, lo que sugiere que la inoculación con estos microorganismos podría no ser necesaria bajo condiciones similares a las del presente estudio (Villalba, 2013). Este resultado cuestiona la necesidad de adicionar cultivos iniciadores en regiones tropicales donde, posiblemente, las condiciones ambientales ya favorecen un adecuado proceso fermentativo.

En cuanto a la calidad microbiológica, se evidenció una disminución del pH hasta niveles promedio de 3,5, lo cual permitió la estabilización del material y la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas. Este comportamiento coincide con lo reportado en ensilajes elaborados en regiones no tropicales, donde los cereales alcanzan un pH final más bajo (3,7–4,0) en comparación con las leguminosas (4,3–5,0), debido a su menor capacidad tampón (Kung et al., 2018).

Asimismo, los resultados confirman que las condiciones de anaerobiosis, humedad y contenido de carbohidratos solubles fueron adecuadas para propiciar una fermentación eficiente. Estas condiciones favorecieron la rápida acidificación del material, lo que permitió su conservación, efecto que puede potenciarse mediante procesos de inoculación cuando las condiciones iniciales no son óptimas (Chen et al., 2019).

Los resultados obtenidos muestran que T1 y T3 presentaron un aumento progresivo en la

población de levaduras a lo largo del periodo de fermentación, mientras que en el T2 se observó una disminución significativa. Esta reducción podría explicarse por el reemplazo de las levaduras por un subgrupo de microorganismos capaces de utilizar ácidos orgánicos como fuente de energía. Cabe destacar que un ensilaje con una elevada concentración de levaduras ($\geq 10^5$ UFC/g) se considera inestable en presencia de oxígeno (Kung et al., 2018; Schmidt y Charley, 2011; Herrera et al., 2007).

En este estudio se emplearon tanto aditivos de primera como de segunda generación. Los de primera generación compuestos por bacterias lácticas homofermentativas, que favorecen la producción de ácido láctico y mejoran la conservación de la materia seca, pero no poseen propiedades antimicrobianas contra levaduras, lo cual limita su capacidad para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje (Kung et al., 2018; Herrera et al., 2007). En estos casos, el predominio del ácido láctico en la masa ensilada reduce la producción de ácidos con efecto inhibidor sobre las levaduras, como el ácido acético (Andrade y Mohamad, 2010). Por el contrario, los inoculantes de segunda generación, que contienen bacterias heterofermentativas como *Lactobacillus buchneri*, generan ácido acético durante la fermentación, el cual ha demostrado tener un efecto inhibidor sobre las levaduras al reducir su proliferación o competir con ellas por los recursos disponibles (Andrade y Mohamad, 2010; Kung et al., 2018).

La presencia de levaduras a lo largo del proceso fermentativo también podría interpretarse como un indicador de una rápida acidificación del ensilaje inducida por los inoculantes (Ramírez-Díaz et al., 2020). De hecho, Chamberlain (1987) sugirió que una acidificación acelerada podría favorecer el desarrollo de levaduras, ya que las bacterias ácido-lácticas tienden a crecer en asociación con estos microorganismos. Aunque las levaduras suelen encontrarse en menor número (Ravyts et al., 2012), pueden aprovechar los azúcares residuales para producir etanol, especialmente cuando el ácido láctico se genera rápidamente y se preserva una alta disponibilidad de carbohidratos solubles (Kundiyana et al., 2010).

Una mayor proliferación de levaduras durante el almacenamiento puede iniciar procesos de

fermentación secundaria al momento de abrir el silo, lo que compromete la estabilidad aeróbica del material. Esta situación ha sido reportada particularmente en ensilajes no inoculados (Franco y Pérez-Díaz, 2012).

Si bien los aditivos se utilizan comúnmente para mejorar el proceso fermentativo, los resultados del presente estudio sugieren que podrían no ser estrictamente necesarios. Las concentraciones iniciales de *Lactobacillus* en los tratamientos, tanto inoculados como no inoculados, superaron los valores mínimos recomendados en la literatura (≥3,0 × 10^5 UFC/g) (Nair et al., 2020; Holguín et al., 2018a), lo cual les otorgó una ventaja competitiva al momento de colonizar el silo y conducir una fermentación eficiente.

De forma similar a lo reportado por Nair et al. (2020), donde el ensilaje control no inoculado (CON) y el ensilaje inoculado (INOC) con 3,0 × 10^5 UFC/g de bacterias ácido-lácticas, compuesto por 1,5 × 10^5 UFC/g de L. hilgardii CNCM I-4785 y 1,5 × 10^5 UFC/g de *L. buchneri* NCIMB 40788, presentaron valores de pH similares ($p > 0.05$) durante el proceso de ensilado. No obstante, después de 14 días de exposición aeróbica, el pH fue significativamente mayor ($p < 0.001$) en el tratamiento no inoculado, lo cual evidencia la ventaja del uso de bacterias heterofermentativas en la mejora de la estabilidad aeróbica del producto final (Nair et al., 2020).

En cada uno de los tratamientos evaluados, al analizar la población de *Lactobacillus* en los cuatro tiempos de fermentación, se observó que el T1, donde actuó únicamente la flora epífita del material forrajero, presentó un crecimiento exponencial de estas bacterias a lo largo del tiempo. En contraste, los tratamientos inoculados mostraron una disminución en la población microbiana. Esta diferencia podría deberse a que el proceso de fermentación, al desarrollarse de manera paulatina, permite que las bacterias epífitas tengan más tiempo para adaptar su metabolismo y establecerse eficientemente (Hutkins y Nannen, 1993). Los resultados obtenidos en este estudio fueron superiores a los reportados por Filya (2003), quien evaluó ensilajes de sorgo inoculados con *L. buchneri* y *L. plantarum*, solos y combinados, en diferentes tiempos de fermentación (2, 4, 8, 15 y 90 días).

Por otro lado, los principales parámetros para evaluar la calidad del forraje mediante producción de gas son la tasa de degradación y el volumen máximo alcanzado, ya que reflejan la eficiencia fermentativa de la muestra (Ramírez-Díaz et al., 2020). Forrajes con tasas elevadas de producción de gas son más fermentables y digeribles, lo que se traduce en una fermentación más rápida durante la incubación. En este sentido, durante el primer día de fermentación, el T1 presentó la mejor tasa de fermentación y una menor duración del periodo de colonización, alcanzando una producción máxima de gas similar a la de los otros tratamientos, que requirieron más tiempo para colonizar.

Sin embargo, a los 21 días de fermentación, se observó un cambio importante: el T2 mostró el mejor comportamiento, con una producción de gas superior a la reportada por Faria et al. (2010), quienes evaluaron ensilajes de sorgo BRS-610 en siete etapas de maduración mediante la técnica semiautomática de producción de gas *in vitro*.

Respecto a los parámetros cinéticos, los valores obtenidos para la fracción A fueron inferiores a los reportados en otros estudios, donde se han documentado fracciones solubles cercanas al 20% en ensilajes de híbridos de sorgo (Corral-Luna et al., 2011; Villalba, 2013). Sin embargo, fueron similares a los encontrados por Costa et al. (2016) en ensilajes de sorgo BR-700. Los valores del parámetro B, que fueron más altos para el T2, representan la fracción insoluble de la FNDN potencialmente degradable. La digestibilidad del forraje es un aspecto clave para comparar materiales, ya que influye directamente en el rendimiento y el retorno económico (Costa et al., 2016). En este contexto, las fracciones A y C resultan especialmente relevantes: una fracción A elevada indica mayor degradabilidad, mientras que un valor bajo de C refleja un tiempo más corto para la desaparición de la fracción fácilmente degradable. No obstante, en este estudio no se observaron diferencias significativas entre tratamientos para estas fracciones.

Los valores de producción de gas acumulado encontrados por Faria et al. (2010) fueron inferiores a los de este estudio, indicando en aquel caso un menor tiempo de incubación y una mayor tasa de colonización en los tratamientos con aditivos de *Lactobacillus*. Esta diferencia

podría atribuirse a una mayor disponibilidad de carbohidratos solubles y a una mejor calidad de la fibra, factores que promueven una rápida colonización y degradación del material (Faria et al., 2010). En línea con esto, Harrison et al. (1994) señalaron que los efectos de los aditivos sobre la composición del ensilaje dependen del tipo de inoculante, su actividad biológica, la dosis aplicada (6×10^5 UFC/g), el contenido de materia seca y la composición química del forraje.

Independientemente del tiempo de fermentación evaluado (1 o 21 días), el T2 produjo un mayor volumen de gas en comparación con los demás tratamientos. De forma similar, al relacionar la cantidad de materia seca degradada con el volumen acumulado de gas producido a las 72 horas de incubación, se comprobó que los tres tratamientos, con y sin aditivos, presentaron una producción similar de gas por miligramo de sustrato degradado. Esto indica que la energía contenida en los sustratos fue utilizada de forma eficiente para el crecimiento microbiano.

Holguín et al. (2021) reportaron que los inoculantes comerciales y las bacterias epífitas no generaron diferencias en los parámetros de fermentación ni en la producción de gas en ensilajes, lo que sugiere que esta técnica de evaluación debe complementarse con la medición de la degradabilidad de la materia seca. Esto se debe a que existen sustratos con alta degradabilidad que, proporcionalmente, pueden generar menor volumen de gas, pero presentan un mayor factor de partición, mayor eficiencia en la síntesis de proteína microbiana, mayor consumo y menor producción de metano (Bezabih y Tamir, 2014; Blümmel et al., 1999).

CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados de este estudio permiten concluir que el sorgo dulce (*Sorghum saccharatum*)

posee una flora epífita capaz de garantizar un adecuado proceso fermentativo y una eficiente acidificación del material ensilado, incluso sin la adición de inoculantes comerciales. La inclusión de aditivos a base de *Lactobacillus buchneri* o *Lactobacillus plantarum* no generó mejoras significativas en los parámetros de fermentación ni en la cinética de degradación del ensilaje, por lo que su uso no resulta necesario bajo condiciones tropicales similares a las del presente estudio.

Una de las principales implicaciones prácticas de estos hallazgos es que es posible obtener ensilajes de buena calidad sin recurrir a inoculantes, siempre que se implementen adecuadas prácticas de manejo en la elaboración y conservación del material. Esta información resulta particularmente valiosa para la toma de decisiones a nivel de finca, ya que permite a los productores optimizar sus recursos sin comprometer la calidad del forraje conservado.

Desde una perspectiva económica, los resultados sugieren que los productores pueden prescindir del uso de aditivos comerciales sin afectar negativamente el proceso fermentativo, lo cual representa un ahorro potencial y una alternativa más accesible para sistemas de producción en regiones tropicales. Asimismo, estos hallazgos invitan a reevaluar la necesidad de aditivos en contextos donde la materia prima y las condiciones ambientales favorecen una fermentación espontánea exitosa.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Grupo de Investigación en Ciencias Animales (GRICA) de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Antioquia, así como al personal asistente del laboratorio por su colaboración en el desarrollo de esta investigación. De manera especial, se agradece a la M.Sc. Luz Clemencia Fandiño, bacterióloga del Laboratorio de Diagnóstico Veterinario (LADIVE) de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Ciencias Animales de la Universidad del Tolima, por su valioso apoyo técnico y científico.

LITERATURA CITADA

Andrade, F. y Mohamad, L. (2010). Estrategias para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje. *Producir XXI, Bs. As.*, 18 (219), 58-62.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). *Official methods of analysis*. 15th ed. AOAC International, Virginia, Estados Unidos de América.

Bezabih, M. y Tamir, B. (2014). Silage Additives: Review. *Open Journal of Applied Sciences*, 4, 258-274. http://dx.doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026.

Blümmel, M., Mgomezulu, R., Chen, X. B., Makkar, H. P., Beckery, K. y Orskov, E. R. (1999). The modification of an *in vitro* gas production test to detect roughage related differences in *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. *The Journal of Agricultural Science*, 133 (3), 335-340. https://doi.org/10.1017/S0021859699006991.

Caraballo, W. (2010). Utilización de sorgo dulce (*Sorghum saccharatum*) como forraje diferido en la alimentación de cerdas gestantes. Tesis de pregrado. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Cardona-Iglesias, J., Mahecha-Ledesma, L. y Angulo-Arizala, J. (2017). Efecto sobre la fermentación in vitro de mezclas de *Tithonia diversifolia,Cenchrus clandestinum* y grasas poliinsaturadas. Agronomía Mesoamericana, 28 (2). https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.25697.

Cattani, M., Guzzo, N., Mantovani, R. y Bailoni, L. (2017). Effects of total replacement of corn silage with sorghum silage on milk yield, composition, and quality. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8 (15). https://doi.org/10.1186/s40104-017-0146-8.

Chamberlain, D. G. (1987). Silage fermentation in relation to the utilization of nutrients in the rumen. *Process Biochemistry*, 4 (1), 60-63.

Chen, L., Dong, Z., Li, J. y Shao, T. (2019). Ensiling characteristics, *in vitro* rumen fermentation, microbial communities and aerobic stability of low-dry mater silages produced with sweet sorghum and alfalfa mixtures. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 99 (5), 2140-2151. https://doi.org/10.1002/jsfa.9406.

Colombini, S., Galassi, G., Crovetto, G.M. y Rapetti, L. (2012). Milk production, nitrogen balance, and fiber digestibility prediction of corn, whole plant grain sorghum, and forage sorghum silages in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 95 (8), 4457–4467. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4444.

Colombini, S., Rapetti, L., Colombo, D., Galassi, G. y Crovetto, G.M. (2010). Brown midrib forage sorghum silage for the dairy cow: nutritive value and comparison with corn silage in the diet. Italian *Journal of Animal Science*, 9 (e53), 273–277.

Costa, R. F., de A. Pires, D. A., Moura, M. M. A., Rodrígues, J. A. S., Rocha Júnior, V. R. y Tolentino, D. C. (2016). *In situ* degradability of dry mater and fibrous fraction of sorghum silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38 (2), 171-176. https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i2.29576.

Corral-Luna, A., Domínguez-Díaz, D., Rodríguez-Almeida, F. A., Villalobos-Villalobos, G., Ortega-Gutiérrez, J. A., y Muro-Reyes, A. (2011). Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. *Revista Brasileira De Ciências Agrárias*, 6 (1), 181-187. https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a973.

Duque, M., Noguera, R. R. y Restrepo, L. F. (2009). Efecto de la adición de urea protegida y sin protección sobre la cinética de degradación *in vitro* del pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Livestock Research for Rural Development*, 21 (58).

Fazaeli, H., Golmohhammadi, H.A., Al-Moddarres, A., Mosharraf, S. y Shoaei, A.A. (2006). Comparing the Performance of Sorghum Silage with Maize Silage in Feedlot Calves. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (13): 2450-2455. https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.2450.2455.

Faria, W.G, Gonçalves, L.C., Maurício, R.M., Rodrigues, J.A.S., Colodo, J.C.N., Faria, W.G. y Souza, L.F. (2010). Avaliação das silagens do sorgo BRS-610 em sete estádios de maturação pela técnica *vitro* semiautomática de produção de gases. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62 (4), 898-905. https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000400020.

Filya, I. (2003). The Effect of *Lactobacilli buchneri* and *Lactobacilli plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Mater Corn and Sorghum Silages. *Journal of Dairy Science*, 86 (11), 3575–3581. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0.

Franco, W. y Pérez-Díaz, I.M. (2012). Role of selected oxidative yeasts and bacteria in cucumber secondary fermentation associated with spoilage of the fermented fruit. *Food Microbiology*, 32 (2), 338-344. https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.07.013.

IBM SPSS. (2011). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. IBM Corp, Nueva York, Estados Unidos de América.

Kundiyana, D.K., Bellmer, D.D., Huhnke, R. L., Wilkins, M.R. y Claypool, P.L. (2010). Influence of temperature, pH and yeast on in-field production of ethanol from unsterilized sweet sorghum juice. *Biomass and Bioenergy*, 34 (10), 1481-1486. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.04.022.

Kung, L. (2010). A Review on Silage Additives and Enzymes. Universidad de Delaware, Newark, Estado Unidos de América.

Kung, L. (2018). Silage fermentation and additives. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 26 (3-4), 61-65.

Kung, L., Shaver, R.D., Grant, R. J. y Schmidt, R.J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science,* 101 (5), 4020-4033. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909.

Harrison, J. H., Blauwiekel, R. y Stokes, M. R. (1994). Fermentation and utilization of grass silage. *Journal of Dairy Science*, 77 (10), 3209-3235.

Herrera, J., Naranjo, N., Gurrola, J. y Almaraz, N. (2007). *La avena cultivo, ensilado y aprovechamiento*. Editorial División, Durango, México. 41-153 p.

Heinritz, S. N., Martens, S. D., Avila, P. y Hoedtke, S. (2012). The effect of inoculant and sucrose addition on the silage quality of tropical forage legumes with varying ensilability. *Animal Feed Science and Technology*, 174 (3-4), 201-210. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.03.017.

Holdridge, L.R. (1977). *Ecología basada en zonas de vida*. IICA (Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas), San José, Costa Rica. 216 p. http://repositorio.iica.int/handle/11324/7936.

Holguín, V. A. (2016). Optimización de *Tithonia diversifolia* ensilada como alimento para ovinos de pelo. Tesis PhD, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia. https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/57966/2020-Vilma_Holguin.pdf?sequence=1&isAllowed=y, 2016.

Holguín, V. A., Ortiz-Grisalez, S., Velasco-Navia, A. y Mora-Delgado, J. (2015). Multi-criteria evaluation of 44 introductions of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in Candelaria, Valle del Cauca. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 62 (2), 57-72. https://doi.org/10.15446/rfmvz.v62n2.5199.

Holguín, V.A., Ortiz, S., Huertas, A., Fandiño, C. y Mora-Delgado, J. (2018a). Consumo voluntario y ganancia de peso en corderos alimentados con ensilaje de *Cenchrus purpureus* Schum y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9 (2), 181-191. https://doi.org/10.22490/21456453.2175.

Holguín, V.A., Cuchillo-Hilario, M., Mazabel-Parra, J. y Martens, S. (2018b). *In-vitro* assessment for ensilabillity of *Tithonia diversifolia* alone or with *Pennisetum purpureum* using epiphytic lactic acid bacteria strains as inocula. Acta scientiarum, 40 (e37940,: 1-7. https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.37940.

Holguín, V.A., Cuchillo, M. y Mora-Delgado, J. (2021). Indicadores de estabilidad aeróbica en ensilajes de la mezcla *Tithonia diversifolia*/ *Pennisetum purpureum* enriquecidos con *Lactobacillus*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 24 (2), e2093. https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n2.2021.2093.

Houx III, J.H, Roberts, C.A. y Fritschi, F.B. (2013). Evaluation of Sweet Sorghum Bagasse as an Alternative Livestock Feed. *Forage & Grazinglands*, 53 (4), 1784-1790. https://doi.org/10.2135/cropsci2012.03.0190.

Huertas, M.A., Mayorga, O.L., García, Y.M., Holguín, V.A. y Mora-Delgado, J. (2021). *In vitro*

methane production from silages based on *Cenchrus purpureus* mixed with *Tithonia diversifolia* in different proportions. *Acta Scientiarum*, 43 (e51322), 1-7. https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v43i1.51322.

Hutkins, R. y Nannen, N. (1993). pH Homeostasis in Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 76 (8), 2354-2365. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77573-6.

Koc, F., Aksoy, S. O., Okur, A. A., Celikyurt, G., Korucu, D. y Ozduven, M. L. (2017). Effect of pre-fermented juice, *Lactobacilli plantarum* and *Lactobacilli buchneri* on the fermentation characteristics and aerobic stability of high dry mater alfalfa bale silage. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 27 (6), 1766-1773.

Mao, L., Zi, X., Zhou, H., Hou, G. y Cai, Y. (2014). Effects of sucrose, glucose, molasses and cellulase on fermentation quality and *in vitro* gas production of king grass silage. *Animal Feed Science and Technology*, 197 (1), 206-212. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.016.

Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S. y Theodorou, M. K. (1999). A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79 (4), 321-330. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4.

McDougall, E. I. (1948). Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry Journal*, 43 (1), 99–109.

Miguel, M. F., Delagarde, R. y Ribeiro-Filho, H. M. N. (2019). Corn silage supplementation for dairy cows grazing annual ryegrass at two pasture allowances. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,* 71 (3), 1037-1046. https://doi.org/10.1590/1678-4162-9795.

Muck, R.E., Nadeau, E.M.G., McAllister, T.A., Contreras-Govea, F.E., Santos, M.C. y Kung, L. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101 (5), 3980-4000. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839.

Nair, J., Huaxin, N., Andrada, E., Yang, H.E., Chevaux, E., Drouin, P., McAllister, T.A. y Wang, Y. (2020). Effects of inoculation of corn silage with *Lactobacilli hilgardii* and *Lactobacilli*

buchneri on silage quality, aerobic stability, nutrient digestibility, and growth performance of growing beef cattle. *Journal of Animal Science*, 98 (10), skaa 267. https://doi.org/10.1093/jas/skaa267.

Nielsen, S. (1994). *Introduction to the Chemical Analysis of Foods*. Jones and Bartlett, Boston, Estados Unidos de América.

Oktem, A y Oktem, A.G. (2022). Biomass and Dry Matter Yield Potential of Some Early Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* var. saccharatum (L.) Mohlenbr.) Genotypes. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 7 (4), 94-102.

Ørskov, E. R. y McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92 (2), 499-503. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048.

Posada, S. L. y Noguera, R. R. (2005). Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 17 (4).

Ravyts, F., Vuyst, L. D. y Leroy, F. (2012). Bacterial diversity and functionalities in food fermentations. *Engineering in Life Sciences*, 12 (4), 356-367. https://doi.org/10.1002/elsc.201100119.

Ramírez-Díaz, R., Pinto-Ruiz, R., Medina-Jonapá, F., y Guevara-Hernández, F. (2020). Efecto de inoculantes y aditivos sobre fracciones de fermentación ruminal y degradación in vitro en ensilaje de sorgo (Sorghum sp). *CienciaUAT*, 15 (1), 172–179. https://doi.org/10.29059/cienciauat.v15i1.1332.

Reich, L. J. y Kung, L. (2010). Effects of combining *Lactobacilli buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Animal Feed Science Technology*, 159 (3), 105-109. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.06.002.

Rossi, E. S., Faria, M. V., Mendes, M. C., Neumann, M., Gabriel, A. y Conte, M. V. D. (2016). Bromatological characteristics and ruminal digestibility of grain corn hybrids with different vitreousness in silage maturity. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38 (3), 337-344. https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i3.28703.

SAS (Statistical Analysis System). (2001). Statistical Analysis System, versión 8.2. Statistics. Statistical Analysis Systems Institute. Inc., Cary, NC.

Silva, J. y de Queiroz, A.C. (2002). *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3ª. Edición. Editorial UFV, Viçosa.

Schmidt, R. y Charley, B. (2011). *Silage quality and hygiene.* Lallemand Animal Nutrition.

Souza, V., Parrella, R., Tardin, F., Costa, M., Carvalho, G. Jr. y Schaffert, R. (2013). Adaptability and stability of sweet sorghum cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13: 144-151. http://dx.doi.org/10.1590/S1984-70332013000200007.

Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., Meallan, A.B. y France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48 (3–4), 185-197. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6.

Van Soest, P. y Wine, R. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV. Determination of plant cell wall constituents. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 50 (1), 50–55. https://doi.org/10.1093/jaoac/50.1.50.

Villalba, D.K. (2013). Indicadores de Calidad de Ensilaje de Sorgo Dulce (*Sorghum saccharatum)* enriquecidos con aditivos de *Lactobacillus buchneri* y *Lactobacillus plantarum*. Tesis M.Sc. Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia. 118p.

Xie, Q y Xu, Z. (2019). Sustainable Agriculture: From Sweet Sorghum Planting and Ensiling to Ruminant Feeding. Molecular Plant, 12 (5): 603–606. https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.04.001.

Zhang, S. J., Chaudhry, A. S., Osman, A., Shi, C. Q., Edwards, G. R., Dewhurst, R. J. y Cheng, L. (2015). Associative effects of ensiling mixtures of sweet sorghum and alfalfa on nutritive value, fermentation and methane characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 206 (1), 29–38. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.006.

Zhang, S. J., Chaudhry, A. S., Ramdani, D., Osman, A., Guo, X. F., Edwards, G. R. y Long, C. (2016). Chemical composition and *in vitro* fermentation characteristics of high sugar

forage sorghum as an alternative to forage maize for silage making in Tarim Basin, China. *Journal of Integrative Agriculture*, 15 (1), 175–182. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60939-4.