

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS



**Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta
de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de
laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la
materia orgánica de estos forrajes ensilados**

TESIS DOCTORAL

Gonzalo Flores Calvete
Ingeniero Agrónomo

Madrid, 2004

Esta tesis ha sido presentada en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid como requisito para optar al grado de Doctor.

Madrid, Junio de 2004

El doctorando,

Fdo.: Gonzalo Flores Calvete
Ingeniero Agrónomo

Vº Bº

El director de la tesis,

Fdo.: Alejandro Argamentería Gutiérrez
Dr. Ingeniero Agrónomo

AGRADECIMIENTOS

A tódolos compañeiros e compañeiras que traballamos arreo no CIAM para contribuir a mellorar a agricultura galega. Unha lembranza especial para J. Castro González.

Á miña dona e aos meus fillos.

RESUMEN

CAPÍTULO I.- CALIDAD DEL ENSILAJE DE HIERBA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES LECHERAS GALLEGAS: ESTUDIO DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN

Con el objetivo de estudiar la relación entre la metodología de realización del ensilado de hierba en las explotaciones lecheras gallegas y la calidad del ensilaje destinado a la alimentación del ganado vacuno, se realizó un estudio, que abarca el período 1991-2002 donde se analizaron cerca de 2600 muestras de primer y segundo corte de las que se disponía de información acerca de la metodología de realización del ensilado, referente al tipo de hierba ensilada, realización del presecado, presencia de lluvia durante la cosecha, uso de aditivos, tipo de cosechadora empleada en la recolección y tipo de silo utilizado en el almacenamiento. Hasta 1996 las determinaciones del contenido en materia seca (MS), materia orgánica (MO), contenido en proteína bruta (PBt, expresada como nitrógeno total x 6.25) y fibra ácido detergente (FAD) se determinaron por métodos de referencia, y la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) fue estimada por regresión a partir de los contenidos en PBt y FAD. A partir de 1997, PBt, FAD y DMO se estimaron por NIRS. La calidad de conservación se estimó mediante la relación entre el pH medido en la muestra y el pH teórico de conservación según Haigh (1987). Los valores no fueron corregidos por las pérdidas de volátiles en estufa.

Los valores medios de la muestra fueron MS (%) 26.5 ± 9.4 , MO (%MS) 89.5 ± 1.9 , PBt 13.4 ± 2.3 , DMO (%) 66.8 ± 5.2 y pH 4.6 ± 0.42 . La frecuencia media de muestras de calidad deficiente, atendiendo a la fermentación del ensilaje (42%), prácticamente duplica a la correspondiente a las muestras que presentaban un bajo contenido energético o proteico, lo que señala la mejora de la calidad de fermentación de los ensilajes producidos en las explotaciones gallegas como uno de los principales objetivos. El año, la fecha y el número de corte, la localidad y el tipo de hierba fueron los factores conocidos que explicaron una mayor variabilidad del contenido en proteína y digestibilidad, mientras que el año, la localidad, el tipo de cosechadora y la realización de presecado son los que realizan una mayor contribución a la varianza de la calidad fermentativa.

A lo largo del período de estudio se observó una tendencia positiva hacia una mejora en el valor energético y en la calidad de conservación que evoluciona paralelamente a un incremento del contenido medio en materia seca de las muestras (19.8% en 1991 y 33.7 %en 2002) y a la frecuencia de realización del presecado (40.2% en 1991 y 85.4% en 2002), así como a la realización de cortes más precoces. Se observa, sin embargo, un gran dependencia climática de la calidad de los ensilajes, evidenciando que la programación de los trabajos de ensilado es con frecuencia inadecuada en lo que a la realización del presecado se refiere. El incremento de materia seca de la hierba a valores superiores al 30% se reveló en la práctica de las explotaciones como una herramienta mucho más potente que el uso de aditivos para conseguir una calidad de fermentación correcta. Aproximadamente uno de cada tres ensilajes fue tratado con aditivo, si bien la efectividad derivada de su uso fue escasa, excepción hecha de los ensilajes presecados tratados con inoculantes, si bien su frecuencia fue muy escasa. La ineffectividad de los aditivos se relaciona, fundamentalmente, con el empleo de dosis inadecuadas y la falta de homogeneidad de su distribución en la masa de forraje puesto que no se utilizaron mecanismos dosificadores.

El sistema de recolección del forraje evolucionó claramente hacia el uso de maquinaria que proporciona un picado más fino y con mayores rendimientos en cosecha. La frecuencia de muestras de ensilaje que habían sido cosechadas con autocargador no picador, autocargador picador, cosechadora de mayales (corte directo), cosechadoras de precisión y rotoempacadora fueron del 86.7, 5.1, 3.1, 0.0 y 5.1% en 1991 y de 25.8, 38.6, 0.0, 19.9 y 15.7% en 2002, respectivamente. La calidad de los ensilajes mostró una mayor relación con el contenido en materia seca que con el tipo de cosechadora utilizada, a excepción de las cosechadoras de precisión y de mayales. El tipo de silo predominante es el tipo almiar, sobre tierra, en un 83% de los casos, las muestras procedentes de los cuales tuvieron una calidad inferior a la de los ensilajes realizados en silos de obra de fábrica. Se observó una correlación positiva entre el tamaño de explotación y la calidad de los ensilajes. Sin embargo un 45% de las muestras de las explotaciones de mayor tamaño mostró una calidad deficiente, bien por un bajo contenido energético y proteico, o por una mala calidad de fermentación, indicando que, a pesar de la evolución positiva observada en el período de estudio, las tecnología de realización del ensilado en las explotaciones

debe ser mejorada, en particular en situaciones donde la realización del presecado está comprometida por condiciones meteorológicas adversas.

CAPITULO II.- FACTORES DE VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO, DIGESTIBILIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLANTA DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN ESTADO FRESCO UTILIZADO PARA FORRAJE EN GALICIA

Se presentan en este trabajo resultados de la evaluación de nueve híbridos comerciales de maíz forrajero cultivados durante 2001 y 2002 en dos localidades gallegas y cosechados desde la semana (S) sexta a la décima tras la floración femenina, a fin de evaluar el efecto de los factores ambientales, genotipo y estado de madurez sobre la variabilidad de la calidad y el rendimiento del cultivo, así como la fecha más adecuada de cosecha para ensilar, siendo observada la utilidad de diferentes criterios indicadores de la madurez. La composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método Tilley-Terry) de la planta entera (PE), parte verde (PV) y mazorca (MZ) fueron estimadas por NIRS.

Los valores medios de digestibilidad de la materia orgánica fueron 74.0 ± 2.3 , 60.6 ± 3.9 y $84.1 \pm 2.1\%$ y los del rendimiento de materia seca (MS, %) 18.4 ± 3.9 , 8.2 ± 2.2 y 10.1 ± 2.2 t MS ha⁻¹ para PE, PV y MZ, respectivamente. La variabilidad debida a los factores ambientales sobre la calidad y el rendimiento fue superior a la del genotipo y el estado de madurez de la cosecha. Un porcentaje significativo de la variabilidad total de la digestibilidad y el rendimiento es debido al genotipo, lo que indica la importancia de considerar conjuntamente ambos factores en la elección de los híbridos para el cultivo. Esto es puesto de manifiesto por el hecho de que genotipos con la misma proporción de mazorca mostraron diferencias significativas de digestibilidad de la planta entera. El estado de madurez fue el responsable de la mayor parte de la variabilidad en el contenido en materia seca y almidón de la planta entera, contribuyendo a explicar significativamente la digestibilidad de la parte verde. Se encontraron diferencias máximas de digestibilidad entre genotipos de 3.8 unidades, para el promedio de los distintos ambientes.

El contenido en materia seca de la planta entera (MS) se incrementó linealmente de 28,0 a 38,5% entre S6 y S10, mientras que el rendimiento de MS no aumentó significativamente a partir de la semana octava o novena, dependiendo del año y localidad, variando entre

16,7 a 19,5 t MS ha⁻¹ para S6 y S10, respectivamente. La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la planta entera varió de 73,3 (S6) a 74,0 % (S10), con un valor máximo de 74,3 % en la semana octava. Se concluye, para los dos años de ensayo, que el momento más adecuado de recolección se situó entre las semanas octava y novena tras la floración femenina para los distintos genotipos. El criterio del estado de desarrollo del grano, en función de la situación de la línea de leche se mostró un indicador útil del estado de madurez, siendo el criterio con más alta correlación con el contenido en MS de la planta entera. Para las distintas variedades ensayadas, el rendimiento en materia orgánica digestible no se incrementó significativamente a partir del momento en que el contenido de MS de la planta entera estaba entre el 30 y 37%, y la línea de leche entre $\frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$ de su recorrido. Sin embargo el contenido en MS de híbridos con el mismo estado de madurez del grano puede variar de forma importante, lo que limita la utilidad del criterio de la línea de leche para estimar el contenido en MS del cultivo, pero no para indicar la proximidad del momento más adecuado de cosecha.

CAPITULO III.- EVALUACION DE MÉTODOS DE LABORATORIO PARA LA PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* DE LA MATERIA ORGÁNICA DE ENSILAJES DE HIERBA Y PLANTA ENTERA DE MAÍZ

Con el objetivo de evaluar la capacidad predictiva de métodos de laboratorio para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO, %) de ensilajes de hierba y maíz, se estudian en este trabajo las relaciones existentes entre DMO y la composición química y diferentes métodos de determinación de digestibilidad *in vitro* para dos colecciones de 197 y 91 muestras de ensilajes de hierba y de planta entera de maíz, respectivamente, cuya DMO fue medida en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). Las colecciones se componen de ensilajes procedentes, en su mayor parte, de explotaciones ganaderas que fueron realizados a lo largo de diversos años y pretenden reflejar, en la mayor medida posible, la variabilidad existente en la práctica en cuanto al tipo de especies pratenses o genotipos de maíz utilizados, así como la tecnología de manejo del ensilado en las explotaciones. Los parámetros medidos en laboratorio comprendieron las determinaciones usuales por vía húmeda para muestras de forraje y tres métodos de determinación de digestibilidad *in vitro*: Tilley-Tilley (DoTT), fibra neutro detergente-celulasa (DoNDC) y pepsina-celulasa (DoPC). Para un conjunto de 46 muestras de ensilaje de maíz, incubadas *in situ*, fueron obtenidos los porcentajes de desaparición de materia seca de las bolsas a diferentes horas. Se comparan estos resultados con los obtenidos por otros autores españoles que evaluaron la capacidad predictiva de la técnica NIRS y la de producción de gas *in vitro* utilizando las mismas colecciones del CIAM. Los valores medios de DMO (%) fueron 67.8 ± 6.7 (rango 48.5 a 81.0) y 68.6 ± 3.2 (rango 59.1 a 76.8) para los ensilajes de hierba y maíz, respectivamente.

Para los ensilajes de hierba, el error mínimo de predicción (medido en términos de la desviación estándar residual de validación cruzada, RSD_{cv}) de los modelos de una sola variable independiente que incluían DoTT y DoNDC fue de ± 3.5 y ± 3.8 unidades, respectivamente, para el conjunto de muestras de la colección, y, para un grupo de 64 muestras donde se determinó también DoPC, el valor de RSD_{cv} fue de ± 3.2 , ± 3.7 y ± 3.5 , respectivamente, para DoTT, DoNDC y DoPC. Mientras que los valores medios de DoTT y DoNDC fueron 6 y 4 unidades inferiores al valor medio de DMO, éste fue muy

similar al de DoTT. El mejor modelo basado en parámetros químicos, que incluía fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB) y lignina ácido detergente (LAD) como predictores obtuvo un RSD_{cv} de ± 4.3 unidades. La utilización de la técnica de producción de gas *in vitro*, evaluada por otros autores en un grupo de 72 muestras, mostró una precisión comparable a la obtenida con la técnica de digestibilidad *in vitro* con inóculo ruminal. El error de predicción obtenido para la técnica NIRS en validación cruzada para el conjunto de la colección se redujo a ± 2.9 .

Para los ensilajes de maíz, el error mínimo de predicción de DMO para los modelos de una sola variable con DoTT, DoPC y DoNDC fue de ± 2.3 , ± 2.7 y ± 2.8 unidades, y de ± 2.4 para el mejor modelo multivariable que incluía LAD, PB, y fibra bruta (FB) como predictores. En contraste con lo observado para los ensilajes de hierba, el valor medio de DoTT de los ensilajes de maíz fue superior al de DMO en aproximadamente 6 unidades, mientras que los de DoNDC y DoPC inferiores en 2.7 y 3.4 unidades, respectivamente, siguiendo la misma tendencia observada en los ensilajes de hierba. La desaparición de materia seca de las bolsas de nylon incubadas *in situ* durante 72h mostró una precisión comparable a la obtenida con la técnica de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal para la estimación de DMO de estos ensilajes. Los errores de predicción en validación cruzada que otros autores obtuvieron para las muestras de la colección de ensilajes de maíz fueron, para la técnica de producción de gas *in vitro* medida en 64 muestras de la colección, comparables a los obtenidos para DoTT y, para la técnica NIRS, inferiores a los obtenidos por cualquier otro método ($RSD_{cv} \pm 2.0$).

La exactitud relativa de los diferentes métodos de estimación de DMO es superior para los ensilajes de hierba comparados con los de maíz. La técnica NIRS es superior al resto de los métodos evaluados en ambos tipos de muestras. La capacidad predictiva de los métodos de incubación *in vitro* con líquido ruminal y producción de gas *in vitro* para la estimación de DMO se considera adecuada, mientras que las técnicas de solubilidad enzimática podrían ser útiles, a este respecto, para ensilajes de hierba pero no para ensilajes de maíz, en los que no mejoraron la precisión de las ecuaciones empíricas.

SUMMARY

CHAPTER I.- THE QUALITY OF THE HERBAGE SILAGE IN A SAMPLE OF GALICIAN DAIRY FARMS: STUDY OF THE FACTORS OF VARIATION

A survey was conducted in a sample of galician dairy farms from 1991 to 2002 with the objective of studying the relationships between the ensiling techniques and herbage silage quality, being analysed about 2,600 silage samples of first and second cuts from which information about herbage types, practise of wilting and additive use, presence of rain during ensiling operations, harvester and type of silo was obtained at farm. Samples were analysed by reference methods for dry matter (MS), organic matter (MO), crude protein (PBt, expressed as total nitrogen x 6.25) and acid detergent fiber (FAD) contents by reference methods until 1996. Organic matter digestibility was estimated by regression using an equation based on PBt and FAD. From 1997 onwards, PBt, FAD and DMO were estimated by NIRS. Preservation quality was estimated comparing the pH as measured on the sample and the reference pH for a good fermentation based on the equation of Haigh (1987), which relates pH to MS concentration. Values are not corrected for volatile losses during oven drying.

The average values of the sample were: MS (%) 26.5 ± 9.4 , MO (%MS) 89.5 ± 1.9 , PBt 13.4 ± 2.3 , DMO (%) 66.8 ± 5.2 and pH 4.6 ± 0.42 . The average frequency of poor fermentation quality (42%) almost doubles that of low energy or protein content indicating that the improvement of fermentation quality of herbage silages in galician dairy farms is one of the critical points to be focused by farmers, extensionists and researchers.

Year, harvest date and cut number were the known factors that explained a higher proportion of the variance of silage protein content and digestibility. Year, location, harvester type and wilting were the factors which most contributed to explain fermentation quality variability.

A trend was observed towards an improvement of energy value and preservation quality of silages from 1991 to 2002, which is positively correlated with earlier cutting, an

increase in the silage dry matter content (19.8% and 33.7 % in 1991 and 2002, respectively) and the frequency of wilting practise (40.2% of the samples in 1991 and 85.4% in 2002). It was nevertheless observed a marked dependence of silage quality on weather conditions, indicating a deficiency in wilting programming operations. It was observed that, in practice, increasing herbage dry matter content by wilting to MS levels of 30% and higher is a more powerful tool than additive use for obtaining a correct fermentation quality. Although, on average, one out of three silages were additive-treated, the effectiveness derived from of its use was low, with the exception of wilted silages treated with inoculants. This lack of effect of additive use (from which formic acid was the most popular) on silage quality is related, basically, to the low dosing of the product and poor homogenisation in the forage mass, since applicators were no used for the liquid additives distribution.

Farm silage harvesting systems tended clearly to shorter-chop and higher performance machinery. The frequency of silage samples harvested with long-chop forage wagon (5-11 knives), short-chop forage wagon (12 to 40 knives), flail harvester, precision choppers and big-balers was 86.7, 5.1, 3.1, 0.0 y 5.1% in 1991 and 25.8, 38.6, 0.0, 19.9 and 15.7% in 2002, respectively. Silage quality showed more related to its dry matter content than to the type of harvester used in the ensiling operations, with the exception of precision-choppers and flail harvester.

Clamp silo, on earth, is the most usual type of silo (83% of cases). Clamp silo samples showed a lower quality compared with those from concrete silos. It was observed a positive correlation between farm size and silage quality, although 45% of the samples from the bigger farms showed a low quality, attending to the protein and energy content or to the preservation quality. This strongly suggests that, in spite of the positive evolution of the silage quality observed along the period of study, a considerable margin of effort is still left, in order to improve ensiling technique mainly under adverse meteorological conditions.

CHAPTER II.- SOURCES OF VARIATION OF YIELD, DIGESTIBILITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF FRESH WHOLE-PLANT FORAGE MAIZE (*Zea mays* L.) IN GALICIA

With the objective of assessing the effect of environment, genotype and maturity stage on the variability of forage maize quality and yield, and determining the optimum harvest date for ensiling the crop, in 2001 and 2002 nine commercial hybrids were grown in two locations in Galicia (NW Spain) and harvested in the weeks (S) six to ten from silking. Whole plant (PE), stover (PV) and ear (MZ) chemical composition and *in vitro* organic matter digestibility (Tilley-Terry) were estimated by NIRS. Mean values for digestibility and dry matter (MS) yield were 74.0 ± 2.3 ; 60.6 ± 3.9 and $84.1 \pm 2.1\%$; and 8.4 ± 3.9 ; 8.2 ± 2.2 y 10.1 ± 2.2 t MS ha⁻¹ for PE, PV and MZ, respectively. Environmental effects on the variability of forage quality traits and yield were of higher magnitude compared to genotype and maturity stage. Nevertheless, genotype still accounts for a significant percentage of total digestibility and yield variability, stressing the importance of considering both attributes when selecting a hybrid for forage maize production. This is also indicated by the fact that hybrids with the same proportion of ear in the whole plant showed significant differences in whole-plant digestibility. Maturity stage explained the highest proportion of the variance of whole-plant MS and starch content, making a significant contribution to the stover digestibility. For the average of the different environments, maximum difference of 3.8 units of digestibility were found among different genotypes.

Whole plant dry matter (MS) content increased linearly from 28.0 (S6) to 38.5% (S10), whilst MS yield, which varied from 16.7 to 19.5 t MS ha⁻¹ did not increase significantly from week eight or nine onwards, depending on year and site. *In vitro* organic matter digestibility of the whole plant in S6 and S10 cuts was 73.3 and 74.0%, respectively, with a maximum value of 74.3% in week eight. It is concluded that for the different genotypes optimum harvest period was situated from weeks eight to nine from silking. The stage of grain development, as indicated by milk line position, showed to be an useful indicator of maturity stage, being the objective criterion which showed the highest correlation with whole-plant dry matter. Digestible organic matter yield did not significantly increased

from the stage in which dry matter content in the whole plant was between 30-37% and kernel maturity stage from $\frac{1}{4}$ to $\frac{3}{4}$. Nevertheless, dry matter content of the whole plant can vary substantially for hybrids with the same grain maturity stage, which limits the practical utility of milk line criterion for the estimation of crop MS, but milk line stage still remains as an useful indicator of the proximity of the optimum stage for harvest.

CHAPTER III.- PREDICTION OF *IN VIVO* ORGANIC MATTER DIGESTIBILITY OF HERBAGE AND MAIZE SILAGES BY LABORATORY METHODS

Based on two collections of herbage and whole plant maize silages (197 and 93 samples) which were evaluated *in vivo* at the Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) during several years, a study was conducted to investigate the relationships between *in vivo* organic matter digestibility (DMO) and a range of laboratory measurements. These included the usual wet chemistry determinations in forage samples and three biological techniques: Tilley-Tilley (DoTT), neutral detergent fiber-cellulase (DoNDC) and pepsin-cellulase (DoPC) *in vitro* digestibility methods. Additionally, *in situ* dry matter disappearance was measured in a subset of 46 maize silage samples. The results were compared with those obtained by other Spanish researchers which evaluated the predictive DMO performance of the *in vitro* gas and NIRS techniques using the same sample collections. Mean DMO (%) values were 67.8 ± 6.7 (range 48.5 to 81.0) and 68.6 ± 3.2 (range 59.1 to 76.8) for herbage and maize silages, respectively.

For herbage silage samples, the minimum prediction error (measured in terms of the residual standard deviation of crossvalidation, RSD_{cv}) of the univariate models including DoTT and DoNDC was ± 3.5 and ± 3.8 DMO units, respectively, for the whole collection. For a subset of 64 samples in which DoPC was also determined, RSD_{cv} values were ± 3.2 , ± 3.7 and ± 3.5 units for DoTT, DoNDC and DoPC, respectively. Whilst DoNDC and DoPC values tended to underpredict DMO by 6 and 4 units on average, respectively, average DoTT value was very close to the mean DMO value. The best model based on chemical entities, which included neutral detergent fiber (FND), crude protein (PB) and acid detergent lignin (LAD), estimated DMO with a prediction error of ± 4.3 units. The gas production technique, evaluated by other authors on a subset of 72 herbage silage samples from the same collection performed similarly, in terms of RSD_{cv} , compared with DoTT. For NIRS technique, the reported prediction error in crossvalidation, using the whole collection, was ± 2.9 units.

For maize silages, RSD_{cv} values for the univariate models including DoTT, DoNDC and DoPC was ± 2.3 , ± 2.7 y ± 2.8 units, and ± 2.4 for the best multivariate model including

LAD, PB and crude fiber (FB) as predictors. In contrast with herbage silages, DoTT maize silage values were, on average, 6 units higher than DMO, whilst DoNDC and DoPC values underpredicted mean DMO value by 2.7 and 3.4 units on average, respectively, showing the same tendency observed with herbage silages. Dry matter disappearance after 72 h of incubation was the best degradability parameter for DMO estimation, the precision of this method being comparable to that of DoTT. The prediction error reported for the *in vitro* gas technique in a subset of 64 samples of the maize silage collection was also very close to the observed with the Tilley-Terry method. NIRS technique reported performance was better than that of any of the other methods, with a RSD_{cv} of ± 2.0 DMO units .

The relative accuracy of the different methods of DMO estimation was higher for the herbage than for the maize silage samples. NIRS technique proved superior to the rest of the other laboratory methods both for herbage and silage samples. Predictive ability of Tilley-Terry and *in vitro* gas production technique was deemed adequate for both type of samples, whilst enzymatic solubility methods could be useful for herbage silages, but not for maize silages, since they were unable to improve the precision attained by empirical equations based on chemical analysis.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

ADF: Fibra ácido detergente

AFRC: Agricultural and Food Research Council (Reino Unido)

AGV: Ácidos grasos volátiles

ALM : Almidón

ANOVA: Análisis de varianza

BL: Línea negra (capa de células muertas en la base del grano)

CEL: Celulosa

CIAM : Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (A Coruña)

cm: centímetro

CM: cuadrado medio

CMEP: Cuadrado medio del error de predicción

CNET: Carbohidratos no estructurales totales

CSA: Carbohidratos solubles en agua,

c.v.: Coeficiente de variación

CZ: Cenizas

°C: grados centígrados

d: día

DA: Digestibilidad aparente

DBO : Demanda biológica de oxígeno

DE: Coeficiente de digestibilidad aparente de la energía bruta, medida *in vivo*

DFND: Coeficiente de digestibilidad aparente de la pared celular, medida *in vivo*

DMS: Coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca , medida *in vivo*

dms: diferencia mínima significativa

DMO: Coeficiente de digestibilidad aparente de la materia orgánica, medida *in vivo*

DoNDC: Solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Fibra Neutro Detergente-Celulasa

DoPC: Solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa

DoTT: Digestibilidad de la materia orgánica por el método Tilley-Terry

DP: Degradabilidad potencial

DV: Digestibilidad verdadera

EB: Energía bruta

ED: Energía digestible

EM: Energía metabolizable

EMF: Energía metabolizable efectiva

EN: Energía neta

ENFIC: European Network of Feed Information Centres

FAD: Fibra ácido detergente

FB: Fibra bruta

FC_{EB}: Factor de corrección del contenido en energía bruta por pérdidas de volátiles durante el secado en estufa

FC_{MS}: Factor de corrección del contenido en materia seca por pérdidas de volátiles durante el secado en estufa

FC_{MO}: Factor de corrección del contenido en materia orgánica por pérdidas de volátiles durante el secado en estufa

FND: Fibra neutro detergente

g: gramo

gl: grados de libertad

ha: hectárea

IMS: Ingestión voluntaria de materia seca

IMO: Ingestión voluntaria de materia orgánica

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique (Francia)

IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

Kcal: Kilocalorías ($\times 10^3$ calorías)

kf: eficiencia de utilización de la energía metabolizable para crecimiento

kg: kilogramo

KJ: Kilojulios ($\times 10^3$ julios)

kl: eficiencia de utilización de la energía metabolizable para producción de leche

km: eficiencia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento

kmf: eficiencia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento y crecimiento

L: litro

LAD : Lignina ácido detergente

LB: bacterias lácticas

^{ho}LB: bacterias lácticas homofermentativas

LIGAL: Laboratorio Interprofesional de Análisis de Leche de Galicia

m: metro

MAFF: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Reino Unido)

Mcal: Megacaloría ($\times 10^6$ calorías)

meq: miliequivalente

MF: Materia fresca

mg: miligramo

ml: mililitro

mm: milímetro

MO: Materia orgánica

MOD: Materia orgánica digestible

MS: Materia seca

MSc: Materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa

ML: Línea de leche

MJ: Megajulios ($\times 10^6$ julios)

MZ: Mazorca (grano+zuro)

N: nitrógeno

Nt: nitrógeno total

n: número de observaciones

NA: Nivel de alimentación

NC: Número de corte

NIRS: Espectroscopia de reflectancia por infrarrojos

NNP: Nitrógeno no proteico

NRC: National Research Council (EEUU)

p: nivel de significación

P^{0.75}: peso vivo metabólico ($\text{kg}^{0.75}$)

PB: Proteína bruta (%MS)

PCTMZ: Porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta

PDIE: Proteína Digestible en el Intestino limitada por el aporte de energía

PDIN: Proteína Digestible en el Intestino limitada por el aporte de nitrógeno

PF: Contenido en productos de fermentación de los ensilajes

pHe: pH de estabilidad

pHdif: Diferencia entre pH y pHe

PMS: Pérdidas de materia seca durante el secado en estufa

PV: Parte verde de la planta de maíz (penacho+hojas+tallo+espigas)

q: metabólica de la energía bruta (EM/EB)

r: coeficiente de correlación de Pearson

RER: Error relativo al rango

RSD: Desviación estándar residual

R²: coeficiente de determinación

SAU: Superficie agraria útil

s.d.: Desviación estándar

s.e.: Error estándar

SEP: Error estándar de predicción

SS :Suma de cuadrados

SP: Suma de productos

t: tonelada

TDN: Total de Nutrientes Digestibles

ufc: unidades formadoras de colonias

UFC: Unidades Forrajeras Carne

UFL: Unidades Forrajeras Leche

UTC :Unidades Térmicas de Crecimiento

INDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1	El escenario de la producción de leche en Galicia	1
1.2	La conservación de forrajes en las explotaciones lecheras	3
1.3	Objetivos	6
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1	Valor nutricional del forraje verde	7
2.1.1	Forrajeras pratenses	8
2.1.2	Maíz	13
2.2	Las pérdidas en los procesos de conservación del forraje	22
2.3	Aptitud de los forrajes para ensilar (Ensilabilidad)	28
2.4	El proceso de ensilado	30
2.4.1	La microflora del ensilado	34
2.4.2	Modificaciones de la composición química y valor nutritivo causadas por el ensilado	42
2.4.3	Uso de aditivos para ensilado	53
2.5	La necesidad de conocer el valor nutricional de los forrajes	59
2.6	Determinación de la digestibilidad <i>in vivo</i> de forrajes	61
2.7	Relación entre digestibilidad y aporte energético	66
2.8	El uso de técnicas indirectas para medir el valor energético de forrajes	70
2.8.1	Algunas consideraciones en relación a la fiabilidad de los modelos de predicción	71
2.8.2	Ecuaciones empíricas	73
2.8.3	Métodos <i>in vitro</i> e <i>in situ</i>	75
2.8.4	Técnica NIRS	79
3	CAPÍTULO I.- CALIDAD DEL ENSILAJE DE HIERBA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES LECHERAS GALLEGAS: ESTUDIO DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN	81
3.1	MATERIALES Y MÉTODOS	81
3.1.1	Explotaciones incluidas en el estudio, toma de datos de campo y muestreo de los silos	81
3.1.2	Análisis químico de las muestras y expresión de su valor energético y nitrogenado	83
3.1.3	Calidad fermentativa de los ensilajes y establecimiento de rangos de calidad	85
3.1.4	Análisis estadístico	86
3.2	RESULTADOS	92
3.2.1	Características de las explotaciones	92
3.2.2	Condiciones meteorológicas durante el comienzo de primavera en 1991-2002	93
3.2.3	Valores medios de la muestra y componentes de la varianza de la	

	digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y valor pHdif de los ensilajes	94
3.2.4	Componentes de la varianza de DMO, PBt y pHdif	95
3.2.5	Calidad de los ensilajes de primer y segundo corte. Evolución anual	97
3.2.6	Agrupación de muestras por categorías de calidad	98
3.2.7	Tipo de hierba ensilada	102
3.2.8	Presecado de la hierba	104
3.2.9	Presencia de lluvia durante las operaciones de ensilado	107
3.2.10	Uso de aditivos	109
3.2.11	Tipo de cosechadora utilizada en las explotaciones	112
3.2.12	Tipo de silo	114
3.2.13	Tamaño de explotación	116
3.3	DISCUSIÓN	118
3.3.1	Factores de variación de la calidad de los ensilajes	119
3.3.2	Calidad de las muestras de primer y segundo corte y evolución anual de la calidad del ensilaje	121
3.3.3	Tipo de hierba ensilada	126
3.3.4	Presecado del forraje	127
3.3.5	Uso de aditivos	132
3.3.6	Tipo de cosechadora	136
3.3.7	Tipo de silo	139
3.3.8	Tamaño de explotación	141
3.4	CONCLUSIONES	142
4	CAPÍTULO II.- FACTORES DE VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO, DIGESTIBILIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLANTA DE MAÍZ (<i>Zea mays</i> L.) EN ESTADO FRESCO UTILIZADO PARA FORRAJE EN GALICIA	145
4.1	MATERIAL Y MÉTODOS	145
4.1.1	Localización del ensayo y material vegetal empleado	145
4.1.2	Disposición del ensayo	146
4.1.3	Toma de muestras y datos de campo en las diferentes fechas de cosecha	146
4.1.4	Análisis de las muestras	147
4.1.5	Análisis estadístico	148
4.2	RESULTADOS	150
4.2.1	Datos climáticos y de cultivo	150
4.2.2	Valores medios del conjunto de muestras	151
4.2.3	Correlaciones entre diversos parámetros de composición química, digestibilidad y rendimiento	153
4.2.4	Correlaciones entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y criterios objetivos de madurez para el conjunto de muestras	158
4.2.5	Componentes de la varianza del rendimiento y parámetros de calidad de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca	160

4.2.6	Efecto de la fecha de corte sobre la calidad y el rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca	164
4.2.7	Efecto de la variedad sobre la calidad y el rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca	170
4.3	DISCUSIÓN	179
4.3.1	Valores medios del conjunto de muestras	179
4.3.2	Cambios en la composición química de la planta con la madurez	181
4.3.3	Fuentes de variación de los caracteres de calidad y rendimiento de la planta de maíz	184
4.3.4	Correlación entre parámetros de calidad y rendimiento de la planta de maíz y criterios objetivos de madurez	188
4.3.5	Momento óptimo de corte	190
4.3.6	Diferencias entre genotipos	193
4.3.7	Limitaciones del uso del criterio de la línea de leche (ML) como indicador del momento óptimo de cosecha	194
4.4.	CONCLUSIONES	197
5	CAPÍTULO III.- EVALUACION DE MÉTODOS DE LABORATORIO PARA LA PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD IN VIVO DE LA MATERIA ORGÁNICA DE ENSILAJES DE HIERBA Y PLANTA ENTERA DE MAÍZ	199
5.1	MATERIALES Y MÉTODOS	199
5.1.1	Características de las muestras	199
5.1.2	Determinación de la digestibilidad <i>in vivo</i>	200
5.1.3	Análisis químico por vía húmeda	201
5.1.4	Determinación de la digestibilidad de la materia orgánica <i>in vitro</i>	204
5.1.5	Determinación de la degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la materia seca de muestras de ensilaje de maíz	204
5.1.6	Cálculo de la digestibilidad aparente <i>in vivo</i> y correcciones por el nivel de pérdidas de volátiles durante el secado en estufa	206
5.1.7	Análisis estadístico	207
5.2	RESULTADOS	209
5.2.1	Ensilajes de hierba	209
5.2.1.1	Características de las muestras de la colección	209
5.2.1.2	Análisis de componentes principales	210
5.2.1.3	Valores medios de digestibilidad <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> y composición química de las muestras	211
5.2.1.4	Correlaciones entre los valores de digestibilidad <i>in vivo</i> con las determinaciones <i>in vitro</i> y parámetros químicos	215
5.2.1.5	Relación entre los valores de digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía	218
5.2.1.6	Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica <i>in vivo</i>	219
5.2.2	Ensilajes de maíz	224

5.2.2.1	Características de la colección	224
5.2.2.2	Análisis de componentes principales	224
5.2.2.3	Valores medios de digestibilidad <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> y análisis químico de las muestras	226
5.2.2.4	Correlaciones entre los valores de digestibilidad <i>in vivo</i> con las determinaciones <i>in vitro</i> y parámetros químicos	231
5.2.2.5	Relación entre los valores de digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía	235
5.2.2.6	Relación entre los valores de la digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia orgánica y el contenido en pared celular indigestible	236
5.2.2.7	Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz	237
5.3	DISCUSIÓN	243
5.3.1	Composición química y digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia orgánica de las colecciones de ensilajes de hierba y maíz	243
5.3.2	Relación entre DMO y parámetros químicos	246
5.3.3	Relación entre DMO y determinaciones <i>in vitro</i>	249
5.3.4	Comparación de la capacidad predictiva de los modelos basados en análisis químicos y digestibilidad <i>in vitro</i> con líquido ruminal y celulasas, obtenidos en el presente trabajo, con otros métodos de laboratorio que utilizaron las mismas colecciones de muestras	253
5.3.5	Comparación de la precisión de los métodos obtenidos a partir de las colecciones del CIAM con los resultados de otros autores extranjeros	258
5.4	CONCLUSIONES	263
6	BIBLIOGRAFÍA	265
7	ANEXOS	
	Anexo 1.- Valores de la colección de ensilajes de hierba evaluados <i>in vivo</i> en el CIAM	298
	Anexo 2.- Valores de la colección de ensilajes de planta entera de maíz evaluados <i>in vivo</i> en el CIAM	309
	Anexo 3.- Diseño de jaula metabólica para la realización de ensayos de digestibilidad <i>in vivo</i> con ovinos, realizado por J. Castro (CIAM)	316

INDICE GENERAL DE TABLAS

1.1	Calidad media de las muestras de henos y ensilaje de hierba que han sido analizados en el Laboratorio Agrario y Fitapatológico de Mabegondo en 1997	3
1.2	Práctica del ensilado en las explotaciones lecheras gallegas por tamaño de cuota láctea asignada en 1996	4
1.3	Estimación de la superficie destinada a ensilaje de hierba y maíz en ocho comunidades autónomas españolas productoras de leche (año 1997)	5
1.4	Superficie agraria útil, tamaño del rebaño, rendimiento por vaca y superficie ensilada de una muestra de explotaciones lecheras de la provincia de A Coruña en el período 1992-1996	5
2.1	Composición química, digestibilidad in vivo e ingestión voluntaria de hierba de pradera temporal y pasto natural en diferentes épocas del año Valores medios y rango de variación (entre paréntesis)	8
2.2	Composición química (en %MS), digestibilidad in vivo de la materia orgánica (DMO, en %) e ingestibilidad (IMS, en g kg ⁻¹ P-075) medidas en ovinos de los forrajes clásicos estudiados en verde en Francia	9
2.3	Efecto del estado de madurez en la composición química y digestibilidad del dactilo	10
2.4	Distribución de la materia seca de la planta entera de maíz en el momento de la cosecha y contenido en materia seca y digestibilidad de las fracciones	14
2.5	Efecto de la fecha de cosecha en el contenido de materia seca, carbohidratos no estructurales y ácidos de fermentación en la planta de maíz fresca y ensilada	14
2.6	Recomendaciones acerca del momento óptimo de cosecha y longitud de picado para diferentes forrajes para ensilar	18
2.7	Valor nutricional de la planta entera de maíz en tres fases de madurez diferentes (medias de seis genotipos en dos localidades)	18
2.8	Digestibilidad media del ensilaje de maíz en diferentes países	22
2.9	Pérdidas energéticas durante el proceso de ensilado y sus causas	25

2.10	Pérdidas de materia seca en la realización de ensilado y heno de hierba de pradera	26
2.11	Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) de algunos productos generados en explotaciones ganaderas	27
2.12	Relación entre el contenido en materia seca del forraje, producción de efluente durante el ensilaje y pérdidas de materia seca por efluente	27
2.13	Variación de los contenidos en materia seca, carbohidratos solubles (CSA) y el poder tampón de algunas leguminosas y gramíneas en el momento de cosecha óptimo del primer ciclo de vegetación	30
2.14	Criterios de calidad fermentativa para diferentes plantas forrajeras en función de los productos de fermentación del ensilaje	33
2.14	Cambios en la composición química de tres tipos de forraje debidos al ensilado	43
2.16	Cambios en la composición química y digestibilidad in vivo del raigrás inglés debidos al modo de ensilado	43
2.17	Valores de energía bruta (KJ g ⁻¹ MS) de algunos compuestos del forraje verde y ensilado	44
2.18	Digestibilidad de forrajes verdes y de los ensilajes correspondientes	45
2.19	Ecuaciones de regresión entre composición química y digestibilidad de la materia orgánica (Y) de ensilajes y los correspondientes valores del forraje en pie (X)	46
2.20	Efecto del ratio EMF/EM de ensilajes de hierba sobre la suplementación necesaria para la producción de leche	49
2.21	Efecto del contenido en materia seca del forraje, finura de picado y uso de conservante sobre la ingestibilidad relativa de ensilajes de hierba	53
2.22	Estimación de la rentabilidad de la aplicación de inoculante en el ensilado de hierba de pradera para la producción de leche	58
2.23	Recomendaciones sobre el procedimiento de realización de las evaluaciones de digestibilidad in vivo de forrajes con ovinos	64
2.24	Valores de la eficiencia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento, producción de leche en los sistemas de valoración de alimentos inglés y francés	69

3.1.1	Variables de clase relativas a la metodología de ensilado contenidas en el cuestionario correspondiente a cada muestra de ensilaje de hierba	82
3.1.2	Clasificación de los ensilajes de hierba según la digestibilidad de la materia orgánica y contenido en proteína bruta de las muestras y a su calidad fermentativa	86
3.1.3	Correlación del contenido en ácido láctico y el valor pH _{dif} con el contenidos en ácidos de fermentación e índices sintéticos de calidad fermentativa, valor nitrogenado e ingestibilidad de ensilajes de hierba (n=1024 muestras)	89
3.2.1	Valores medios (y desviación estándar) del número de vacas de leche, superficie agraria útil (SAU) y superficie ensilada de hierba y maíz en las explotaciones de la muestra	93
3.2.2	Precipitación total (mm) y suma de temperaturas medias diarias (base 6 °C) de los meses de Abril y Mayo en los diferentes años de estudio	94
3.2.3	Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba de explotaciones lecheras gallegas en los años 1991 a 2002	95
3.2.4	Varianza explicada (y porcentaje sobre la varianza total) de la digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y valor pH _{dif} de las muestras de ensilaje	96
3.2.5	Calidad de las muestras de ensilajes de hierba: Efecto del número de corte y del año	98
3.2.6	Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de muestras en función del contenido en proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica	99
3.2.7	Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba clasificadas en función del contenido en proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica	100
3.2.8	Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de muestras en función de la relación entre el pH del ensilaje y su contenido en materia seca	101
3.2.9	Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba en función de la relación entre el pH del ensilaje y su contenido en materia seca	101
3.2.10	Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de en función de un criterio de calidad global (contenido en proteína bruta, digestibilidad de la materia orgánica y calidad de fermentación)	102
3.2.11	Valores medios de las muestras de las diferentes categorías de calidad global (contenido en proteína bruta, digestibilidad de la materia orgánica	

	y calidad de fermentación)	102
3.2.12	Calidad del ensilaje según el tipo de hierba ensilada	103
3.2.13	Frecuencia anual de realización del presecado del forraje	104
3.2.14	Calidad de los ensilajes de hierba de corte directo y presecados	105
3.2.15	Calidad del ensilaje de hierba según el contenido en materia seca de las muestras	106
3.2.16	Porcentaje de muestras presecadas con un contenido en materia seca inferior o superior al 25% y duración del presecado en el campo	107
3.2.17	Frecuencias anuales, en porcentaje, de ensilajes afectados por lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado	107
3.2.18	Calidad del ensilaje de hierba afectado o no por la lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado	108
3.2.19	Calidad de los ensilajes de hierba de corte directo y presecados afectados o no por la lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado	109
3.2.20	Frecuencia anual de uso de aditivos en el ensilado	109
3.2.21	Tipo de aditivo utilizado en los ensilajes que fueron tratados con algún conservante	110
3.2.22	Uso de aditivo y calidad del ensilaje	111
3.2.23	Tipo de cosechadora utilizada en las operaciones principales de ensilado, en cada año de muestreo	112
3.2.24	Calidad del ensilaje de hierba realizado con diferentes tipos de cosechadora	114
3.2.25	Frecuencias del tipo de silo del que proceden las muestras de ensilaje	115
3.2.26	Dimensiones medias (y desviación estándar) de los silos de procedencia de las muestras en el año 2002	115
3.2.27	Calidad del ensilaje de hierba según el tipo de silo	116
3.2.28	Calidad del ensilaje de hierba según el tamaño de rebaño de las explotaciones	117
3.2.29	Coeficientes de correlación entre el año de cosecha y las medias anuales de los diferentes parámetros de calidad de las muestras de ensilaje de hierba	123

3.3.30	Frecuencias de dosificación del ácido fórmico, contenido en materia seca y valor pH _{dif} de los ensilajes tratados con este conservante	135
4.2.1	Temperaturas medias diarias y precipitación en los años 2001 y 2002	150
4.2.2	Valores medios de Unidades Térmicas de Crecimiento y días de cultivo en los dos años de ensayo	151
4.2.3	Valores medios de composición química, digestibilidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca (n=360)	152
4.2.4	Correlaciones entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca con la edad de la planta (días tras la floración femenina)	154
4.2.5	Coeficientes de correlación entre el contenido en materia seca, composición química y digestibilidad in vitro de la materia orgánica de las muestras de planta entera de maíz (a), de la fracción “parte verde” (b) y de la mazorca (c)	156
4.2.6	Coeficientes de correlación entre el rendimiento en materia seca de la planta entera y las fracciones parte verde y mazorca con los caracteres de calidad digestibilidad in vitro de la materia orgánica, contenido en fibra y en proteína	158
4.2.7	Correlación entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y criterios objetivos de madurez para el conjunto de las muestras (n=360)	159
4.2.8	Grados de libertad y estructura de los test F del ANOVA para las distintas fuentes de variación incluidas en el modelo	160
4.2.9	Valor del estadístico F y significación de las fuentes de variación incluidas en el modelo de análisis de varianza para los principales parámetros de calidad de la planta entera de maíz	161
4.2.10	Componentes de la varianza (expresados en porcentaje de la varianza total) del contenido en materia seca, composición química, digestibilidad y rendimiento de la planta entera, fracción parte verde y mazorca de maíz	163
4.2.11	Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre la composición química, digestibilidad in vitro y producción de la planta entera (PE), parte verde (PV) y mazorca (MZ) de maíz	165
4.2.12	Digestibilidad in vitro de la materia orgánica de la planta de maíz (%) Interacciones Corte x Año y Corte x Localidad para planta entera, parte verde y mazorca	168

4.2.13	Rendimiento en materia seca y materia orgánica digestible de la planta entera de maíz Interacciones Corte x Año y Corte x Localidad	170
4.2.14	Efecto de la variedad sobre el contenido en materia seca, composición química, digestibilidad de la materia orgánica in vitro y producción de materia seca de la planta entera de maíz y las fracciones “parte verde” y mazorca (medias de los diferentes ambientes y momentos de corte	172
4.2.15	Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre el contenido en materia seca y producción de materia orgánica digestible de la planta entera y posición de la línea de leche en el grano de las variedades en el año 2001 (medias de dos localidades y dos repeticiones por localidad)	174
4.2.16	Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre el contenido en materia seca y producción de materia orgánica digestible de la planta entera y posición de la línea de leche en el grano de las variedades en el año 2002 (medias de dos localidades y dos repeticiones por localidad)	175
4.2.17	Efecto del Ciclo FAO de los híbridos sobre la relación entre el contenido en materia seca, almidón y porcentaje de mazorca en la materia seca de la planta entera con el estado de desarrollo del grano (valor ML) para el conjunto de muestras del ensayo (n=360)	178
4.2.18	Relación entre el estado de desarrollo del grano (valor ML) y los días transcurridos desde el primer aprovechamiento (semana 6 tras la floración femenina) para el conjunto de muestras del ensayo (n=360)	178
5.2.1	Caracterización de la colección de ensilajes de hierba: Porcentaje de muestras en cada grupo	209
5.2.2	Coeficientes de digestibilidad in vivo de la colección de ensilajes de hierba	212
5.2.3	Análisis de laboratorio de las muestras de ensilajes de hierba	215
5.2.4.a	Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca y de la materia orgánica determinada in vivo , la digestibilidad de la materia orgánica determinada in vitro con inóculo ruminal y celulasas (método FND-Celulasa) y diversos parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de hierba	216
5.2.4.b	Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca y de la materia orgánica determinada in vivo de ensilajes de hierba con la digestibilidad de la materia orgánica determinada in vitro con inóculo ruminal y celulasas (métodos FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa) y diversos parámetros	216

5.2.5	Relación entre los valores de digestibilidad in vivo de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de hierba	218
5.2.6	Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba	220
5.2.7	Ecuaciones que incluyen variables de clase número de corte y tipo de pasto para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba	223
5.2.8	Coeficientes de digestibilidad in vivo de la colección de ensilajes de planta entera de maíz	227
5.2.9	Análisis de laboratorio de las muestras de ensilaje de planta entera de maíz	229
5.2.10	Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca, de la materia orgánica y de la pared celular determinada in vivo, la digestibilidad de la materia orgánica determinada in vitro con inóculo ruminal y celulasas (métodos FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa) y diversos parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de maíz	232
5.2.11	Valores medios de los coeficientes de la degradabilidad in situ de la materia seca, constantes de degradación y porcentaje de desaparición de la materia seca a diferentes horas para un subconjunto de muestras de ensilajes de planta entera de maíz y su correlación con los valores de digestibilidad in vivo de la materia orgánica (DMO) de dichas muestras	233
5.2.12	Matriz de correlaciones entre la digestibilidad in vivo de la materia orgánica (DMO) y parámetros analíticos de la colección de ensilajes de planta entera de maíz en función del contenido en materia seca de las muestras	235
5.2.13	Relación entre los valores de digestibilidad in vivo de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de planta entera de maíz	235
5.2.14	Coeficiente de correlación entre el contenido en pared celular indigestible (FNDI) y los valores de digestibilidad in vivo de la materia seca, materia orgánica, energía bruta y pared celular, digestibilidad de la materia orgánica in vitro, desaparición de materia seca de las bolsas incubadas in situ 72 h y composición química de ensilajes de planta entera de maíz	237
5.2.15.a	Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz elaboradas a partir del total de la colección de muestras	239

5.2.15.b	Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz cosechadas en condiciones normales de madurez (MS1>28%)	240
5.2.15.c	Comparación de modelos basados en la digestibilidad in vitro con líquido ruminal y en el porcentaje de la desaparición de materia seca de muestras incubadas in situ durante 72 h para la estimación de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica del ensilaje de planta entera de maíz	242
5.3.1	Estadísticos de regresión obtenidos en la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba y de planta entera de maíz, a partir de los resultados de producción de gas, coeficientes de ajuste a la ecuación exponencial $p=A+B(1-e^{-ct})$, las producciones acumuladas a distintos tiempos, y de distintos parámetros analíticos de los ensilados	255
5.3.2	Precisión de las estimaciones NIRS de digestibilidad in vivo e in vitro de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz	256
5.3.3	Comparación de la capacidad predictiva de diferentes métodos para la estimación de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz, evaluados a partir de la colección de muestras del CIAM	258
5.3.4	Coeficiente de variación (desviación estándar residual como porcentaje de la media del conjunto de calibración) de la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba por diferentes métodos de laboratorio	261
5.3.5	Coeficiente de variación (desviación estándar residual como porcentaje de la media del conjunto de calibración) de la predicción, por diferentes métodos de laboratorio, de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de la planta entera de maíz fresca y ensilada	262

INDICE GENERAL DE FIGURAS

2.1	Efecto del contenido en humedad del forraje sobre la actividad microbiana y enzimática	23
2.2	Pérdidas de materia seca durante la cosecha y el almacenamiento en función del contenido en humedad del forraje en el momento de recolección	24
3.3.1	Evolución de la frecuencia anual de muestras de ensilaje de primer corte de calidad deficiente y la precipitación total de los meses de Abril y Mayo a lo largo del período de estudio	131
3.3.2	Relación entre el valor pH _{dif} y el contenido en materia seca de las muestras de ensilaje sin aditivo y tratadas con ácido fórmico	134
3.3.3	Calidad de fermentación media para las muestras de ensilajes agrupadas por su contenido en materia seca y cosechadas con diferentes máquinas	139
4.2.1	Relación entre la posición de la línea de leche del grano y el contenido en materia seca de la planta entera, fracción “parte verde” y mazorca (valores medios del conjunto de muestras)	177
5.2.1	Círculo de correlaciones de los valores de digestibilidad in vivo, digestibilidad in vitro y parámetros de composición química de ensilajes de hierba con los dos primeros ejes del análisis de componentes principales	211
5.2.2	Relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica de ensilajes de hierba determinada in vivo y por técnicas in vitro (celulasas y líquido ruminal)	214
5.2.3	Círculo de correlaciones de los valores de digestibilidad in vivo, digestibilidad in vitro y parámetros de composición química de ensilajes de planta entera de maíz con los dos primeros ejes del análisis de componentes principales	225
5.2.4	Relación entre los contenidos de materia seca, proteína bruta, almidón, pared celular y digestibilidad in vivo de la materia orgánica de la colección de muestras de ensilaje de planta entera de maíz	228
5.2.5	Relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz determinada in vivo y por técnicas in vitro (celulasas y líquido ruminal)	230

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. El escenario de la producción de leche en Galicia

Las producciones derivadas de la cría de ganado vacuno en Galicia, y en particular el vacuno de leche, representan una actividad de importancia fundamental, no sólo por el valor económico generado de forma directa o inducida¹, sino por su contribución al mantenimiento de un espacio rural vivo y dinámico, esencial para la estructuración del país.

Fernández Leiceaga y López Iglesias (2000) indican, en un análisis de la dinámica del sector agrario gallego en la década 1987-1997, que la reducida superficie agraria de las explotaciones ganaderas constituye el problema estructural básico de la agricultura gallega. La acelerada disminución del número de explotaciones se tradujo, entre otros efectos, en una reducción global de la superficie agraria útil (SAU) de Galicia, estimada por los autores en cerca de 90 mil ha en dicho período. Paralelamente, se asiste a una creciente intensificación productiva en una porción reducida del territorio con una notable dependencia de las importaciones de alimentos para el ganado.

Particularmente importante es el proceso de ajuste del sector productor de leche de vacuno, donde la progresiva desaparición de explotaciones de menor dimensión se corresponde con la concentración de la producción en un número cada vez más reducido de granjas, manteniéndose el volumen total de producción de leche que desde 1996 se sitúa a niveles ligeramente superiores a los dos millones de toneladas, que representan el 30% de la producción española (Anuario de Estadística Agraria, 2000). Según datos del Instituto Gallego de Estadística (2000), entre los años 1993 y 2000 desaparecieron más del 50% de las explotaciones lechera gallegas, a un ritmo superior a 5 mil explotaciones por año, estimándose que en la actualidad el número de explotaciones con cuota no supera las 27 mil. Según el anterior informe, si en 1993 el número de explotaciones con más de 20 vacas representaban el 6.5% del total y producían el 34% de la leche de Galicia, en 2000 la

¹ La aportación a la Producción Final Agraria de Galicia de los subsectores de carne y leche de vacuno es prácticamente del 40% do total, ascendiendo a 712 millones de euros según el Anuario de Estadística Agraria de la Xunta de Galicia de 2000. Por otra parte, se estima que cada empleo directo en la producción genera otros tres empleos indirectos en el complejo agroindustrial.

contribución de dicho estrato ascendía al 25% de las explotaciones y al 66% de la leche producida.

Los resultados del Programa de Gestión Técnica y Económica de las explotaciones de vacuno de leche de Galicia indican que la partida de gasto más importante en la cuenta de explotación de los productores de leche gallegos corresponde a los alimentos comprados, que supone aproximadamente algo más del 50% del coste total de producción, excluida la remuneración de los factores de producción propios. Por otra parte ponen de manifiesto que el mantenimiento de los resultados económicos de estas explotaciones en los últimos años se basó en la adopción de modelos de producción intensivos, aprovechando la favorable relación entre el precio de la leche y del concentrado (Barbeyto, 1999). En la actualidad el gasto de concentrado asciende en las explotaciones lecheras gallegas a algo más de 400 g por litro de leche, frente a los 290 g por litro para la media de UE-15. Según la misma fuente, si en 1990 únicamente el 20% de la leche era producido con forrajes, lejos del 40% considerado como objetivo por el autor, en 2000 dicha contribución era todavía más reducida, estando próxima al 10%. Este hecho refleja, por una parte, la mencionada escasez de base forrajera de las explotaciones (aspecto cuantitativo) así como un uso subóptimo de los forrajes producidos en las mismas (aspecto cualitativo), que cabe atribuir a problemas fundamentalmente de manejo.

A comienzos del año 2003 fue aprobada la reforma de la Política Agraria Común², que modifica substancialmente la situación actual de los mecanismos de sostenimiento de las rentas de los agricultores europeos, lo que podría afectar de forma drástica a la situación del sector ganadero gallego. Entre otros aspectos se prevé una reducción del precio indicativo de la leche a partir de la campaña 2004/2005 y el establecimiento de ayudas directas a la renta para compensar dicho descenso. A este respecto Calcedo (2003) calcula que la compensación sólo alcanzaría a algo más de la mitad de la reducción del precio y, considerando el conjunto de la propuesta, se estima que la caída neta del precio percibido por los ganaderos por la leche producido pudiera estar en torno al 10% del precio actual.

Otra importante novedad de la propuesta de reforma de la PAC es que la percepción de ayudas directas estaría condicionada al cumplimiento de determinadas normas legales sobre medio

ambiente y salubridad alimentaria, entre otras, por parte de los sistemas de producción empleados en las explotaciones.

Se configura así un escenario donde más que nunca se hace necesaria la necesidad de producir a precios competitivos, con un horizonte de precios de la leche claramente a la baja y aproximándose a los del mercado mundial unido a una fuerte presión social para emplear sistemas de producción respetuosos con el medio ambiente y con altos estándares de seguridad alimentaria e higiénica, para los animales y consumidores.

1.2. La conservación de forrajes en las explotaciones lecheras

Las características de estacionalidad de la producción de pastos en Galicia implica que parte de los excedentes de primavera deban ser conservados para su consumo durante las épocas de escasez o carencia de forraje verde, como son el verano y el invierno. La técnica de conservación básica es el ensilado, que desde hace años reemplazó casi totalmente a la tradicional henificación de la hierba debido, entre otros factores, a la imposibilidad de realizar el secado natural del forraje en el campo en primavera (baja insolación, elevada humedad relativa del aire, riesgo de precipitaciones), cuando la hierba presenta un valor nutritivo adecuado. Actualmente la conservación de la hierba como heno sólo se realiza en explotaciones marginales o en cortes tardíos de las de mayor tamaño, por lo que en la práctica el forraje conservado en las explotaciones lecheras es únicamente ensilaje. Las diferencias de calidad entre muestras medias de heno y ensilaje procedentes de explotaciones gallegas se refleja en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Calidad media de las muestras de henos y ensilaje de hierba que han sido analizados en el Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Mabegondo en 1997

	n	MS	FAD	PB	DMO	UFL
Henos	85	87.3	41.2	8.0	59.2	0.67
Ensilajes de hierba	1240	24.5	34.3	13.2	68.7	0.79
Ensilajes de maíz	365	31.5	29.7	7.2	70.3	0.92

n: número de muestras; MS: materia seca (%); FAD: Fibra ácido detergente (%MS); PB: Proteína bruta (%MS); DMO: Digestibilidad de la materia orgánica (%); UFL: Unidades forrajeras leche kg⁻¹ MS
Fuente: Cardelle (1998)

Habitualmente, las explotaciones lecheras gallegas dependen del ensilaje durante un período anual de cuatro a más de seis meses, siendo observada en los últimos años una dependencia

² COM(2003) 23 final.

creciente de los ensilajes en detrimento de la utilización de forrajes verdes para la alimentación del ganado. Muestra de lo cual es el incremento del número de explotaciones, en general las de mayor dimensión, que practican el sistema de "todo ensilado" combinado con la utilización de carros mezcladores para la elaboración de raciones completas (forrajes+concentrados). En la Tabla 1.2. se refleja la práctica del ensilado en función del tamaño de explotación, expresado como la cantidad de cuota láctea asignada, pudiéndose comprobar como dicha técnica de conservación es practicada por la totalidad de las explotaciones a partir de las 36 t de cuota (Rodríguez-Beceiro, 1999).

Tabla 1.2. Práctica del ensilado en las explotaciones lecheras gallegas por tamaño de cuota láctea asignada en 1996

	Estrato de cuota asignada por explotación (% explotaciones)					
	<4 t	4-16 t	16-36 t	36-76 t	76-196 t	>196 t
No ensila	91.1	46.6	12.6	0.00	0.00	0.00
Sí ensila	8.9	53.4	87.3	100.0	100.0	100.0
Ensilado sólo hierba	6.7	37.5	61.3	64.1	63.8	42.0
Ensilado hierba y maíz	2.2	13.3	25.2	34.8	35.7	56.4
Ensilado otros cultivos	0.00	2.6	0.8	1.1	0.5	1.6

Fuente: Rodríguez-Beceiro (1999)

La superficie agraria útil de la explotación media productora de leche en Galicia se estimaba para el año 1996 en 8.9 ha, de las que 5.5 ha correspondían a praderas y 1.2 ha a cultivos forrajeros (López- Garrido, comunicación personal)³. El forraje ensilado por excelencia es la hierba de pradera, si bien en los últimos años se asiste a un incremento de la superficie dedicada al maíz forrajero, particularmente marcado en las explotaciones de mayor dimensión. Los resultados del Proyecto INIA SC96-103, donde se estudiaron las características técnicas y económicas de la producción de leche en ocho comunidades autónomas españolas⁴, cifran en unas 245 000 ha la superficie de pradera ensilada en las explotaciones lecheras gallegas (sumadas las del primer y segundo corte), lo que equivaldría a 3.5 millones de toneladas de hierba puesta en el silo. Con la salvedad de que las

³ Información extraída de los resultados del Proyecto INIA SC95-014 "Análisis del sector lechero gallego y su posible evolución tras la asignación definitiva de cuotas e identificación de los obstáculos para su reordenación" realizado en el CIAM bajo la dirección de C. López Garrido, donde se analizan los resultados de más de 1300 entrevistas realizadas a titulares de explotaciones lecheras gallegas en el año 1996.

⁴ Información extraída de los resultados del Proyecto INIA SC96-103 "Estudio comparativo de los costes de producción de leche en diferentes comunidades autónomas españolas", coordinado por C. López-Garrido, en el transcurso del cual se estudió la información obtenida mediante más de 500 entrevistas realizadas a productores de leche de ocho CCAA en 1998. En el caso gallego, las estimaciones están proyectadas a las 49 mil explotaciones que figuraban en el directorio de explotaciones con cuota asignada en la campaña 96/97.

comunidades de Navarra y Euskadi no estaban incluidas en el estudio, los resultados indican que a las explotaciones de Galicia le correspondería aproximadamente el 70% del total de la superficie de pradera ensilada en las explotaciones lecheras españolas, dando idea de la importancia comparativa de esta producción (Tabla 1.3.).

Tabla 1.3. Estimación de la superficie destinada a ensilaje de hierba y maíz en ocho comunidades autónomas españolas productoras de leche (año 1997)

Comunidad Autónoma (CA)	Media por explotación (ha)		Total por CA (x 1000 ha)	
	Hierba ⁽¹⁾	Maíz	Hierba ⁽¹⁾	Maíz
Andalucía	-	2.41	-	7.4
Aragón	-	2.43	-	1.2
Asturias	3.48	0.29	53.8	4.5
Cantabria	4.82	0.46	36.3	3.2
Castilla-León	0.75	2.95	8.9	34.9
Cataluña	0.76	11.73	2.1	32.4
Galicia	5.0	0.66	245.0	33.3
Valencia	-	0.1	-	0.01
TOTAL	3.98	1.11	346.1	100.5

⁽¹⁾ Considerando primer y segundo corte de la hierba

Fuente: elaboración propia a partir de los resultados del Proyecto INIA SC96-103

La importancia relativa de las superficies de hierba y maíz para ensilar, así como su evolución en el período 1992-1996 en explotaciones especializadas en la producción de leche se presenta en la Tabla 1.4, donde se reflejan valores medios de una muestra de 300 explotaciones especializadas en la producción láctea situadas en la provincia de A Coruña, que han sido estudiadas a lo largo del citado período en el transcurso del proyecto de investigación INIA-9626, realizado en el CIAM⁵.

Tabla 1.4. Superficie agraria útil, tamaño del rebaño, rendimiento por vaca y superficie ensilada de una muestra de explotaciones lecheras de la provincia de A Coruña en el período 1992-1996.

	1992	1993	1994	1995	1996	Media
Vacas, nº	24.4	25.8	26.8	28.6	29.8	27.1
Leche/explotación, t	135.3	115.4	155.4	162.8	171.3	150.4
Leche/vaca, t	4.8	4.6	5.4	5.5	5.3	5.3
Superficie Agraria Util, ha	12.8	13.9	14.0	14.0	14.6	13.9
Ensilaje maíz, ha	1.3	1.4	1.7	2.0	2.9	1.9
Ensilaje hierba 1º Corte, ha	4.5	4.9	5.8	6.2	6.7	5.6
Ensilaje hierba 2º Corte, ha	3.2	2.9	2.5	2.7	4.5	3.2

Fuente: elaboración propia a partir de los resultados del Proyecto INIA-9626

⁵ Proyecto INIA-9626 "Mejora de la calidad del ensilado de hierba en las explotaciones lecheras gallegas", realizado en el CIAM y coordinado por G. Flores.

Según estas estimaciones, la cantidad media de hierba de pradera ensilada por explotación en esta muestra es de 180 t, de las que un 70% sería hierba de primer corte. Otras 60 t de maíz, planta entera, completan la provisión de forraje ensilado de la explotación. El ensilaje de hierba aporta, como media, el 75-80% de la materia seca y el 70-75% de la energía respecto del total ensilado anualmente en las explotaciones de la muestra.

1.3.- Objetivos

El objetivo genérico de este trabajo es contribuir a mejorar la eficiencia con la que son usados los ensilajes de hierba y maíz en las explotaciones lecheras gallegas. En cada uno de los tres capítulos en los que se ha dividido, se abordan los siguientes objetivos específicos:

Capítulo I: A fin de detectar puntos críticos que afectan a la calidad del ensilaje de hierba en las explotaciones lecheras gallegas y proponer medidas para su corrección, se estudia la relación entre la metodología de realización del ensilado de hierba y la calidad del ensilaje en una muestra de explotaciones a lo largo del período 1991-2002

Capítulo II.- Para contribuir a incrementar el conocimiento acerca de los factores que afectan al rendimiento y calidad del maíz forrajero en Galicia, se evalúa el efecto de los factores ambientales, genotípicos y del estado de madurez sobre la producción, digestibilidad y composición química de la planta de maíz en estado fresco en un estudio de dos años de duración, en el cual se evaluaron nueve híbridos comerciales cultivados en dos localidades y cosechados en cinco momentos de madurez diferentes.

Capítulo III.- Su objetivo es desarrollar métodos fiables de estimación del valor energético de los ensilajes de hierba y maíz producidos en las explotaciones gallegas. A partir de dos colecciones de 197 y 93 muestras que habían sido evaluadas *in vivo* en el CIAM a lo largo de diferentes años y que procedían en su mayor parte de granjas lecheras gallegas, se estudia la capacidad de diversos métodos (empíricos y basados en determinaciones de digestibilidad *in vitro*) para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de dichos forrajes.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El valor alimenticio de un forraje representa el nivel de producción animal potencial que puede conseguirse cuando se utiliza como único alimento. Dicho valor depende de la ingesta voluntaria de materia seca, de la concentración de nutrientes por unidad de materia seca ingerida, de la disponibilidad de los nutrientes para el animal y de la eficiencia con la que son usados para los propósitos de mantenimiento, crecimiento, lactación y gestación (Thomas y Chamberlain, 1982).

A diferencia de otros alimentos para el ganado, la ingesta voluntaria y el valor nutricional del ensilaje no depende sólo de su contenido en principios nutritivos (energía y proteína, fundamentalmente) sino también del tipo de fermentación acontecida en el silo y del contenido del ensilaje en productos de fermentación que pueden limitar la ingesta. Existe amplia evidencia experimental acerca del hecho que el proceso de ensilado invariablemente reduce el valor nutricional de un forraje respecto del que presenta antes de ensilar, afectando negativamente, en mayor o menor medida, a la ingesta voluntaria o a la digestión y utilización de nutrientes por el animal (Wilkins, 1974, 1978; Thomas *et al.*, 1980).

Debe tenerse en cuenta que, independientemente del nivel productivo de los animales, un sistema eficiente de producción de carne y leche de vacuno sobre la base de forrajes exige la utilización de ensilajes de elevado valor nutricional. Por lo tanto, objetivos básicos en la obtención de un ensilaje de calidad son a) ensilar forrajes de alto valor nutritivo y b) minimizar las pérdidas ocurridas en la recogida y almacenamiento del forraje, aspectos que se revisan a continuación.

2.1. Valor nutricional del forraje verde

Desde un punto de vista nutricional, un forraje se caracteriza por su valor nutritivo (valor energético, valor nitrogenado, contenidos en minerales y vitaminas) y por su ingestibilidad, es decir, la cantidad de materia seca que voluntariamente ingerida por un rumiante que recibe el forraje a voluntad. La digestibilidad de la materia orgánica determina el valor energético del forraje, que en la mayoría de los casos es el factor

limitante principal del valor nutritivo de los forrajes en las zonas templadas (Demarquilly y Andrieu, 1992). La digestibilidad de la materia orgánica de una planta forrajera depende esencialmente de su contenido en constituyentes de la pared celular y de su digestibilidad, disminuyendo ésta a medida que aumenta el contenido en paredes celulares y su grado de lignificación (Demarquilly y Jarrige, 1981).

2.1.1. Forrajes pratenses

En la Tabla 2.1 se exponen los resultados de composición química, digestibilidad de la materia orgánica e ingestibilidad de hierba de praderas sembradas y naturales, que fueron objeto de evaluaciones de digestibilidad *in vivo* en el CIAM, con ovinos, desde mediados de los años 70 hasta mediados de los 80, comprendiendo muestras de primer corte y rebrotes del período de primavera-verano, y otoño-invierno.

Tabla 2.1.- Composición química, digestibilidad *in vivo* e ingestión voluntaria, medida con ovinos, de hierba de pradera temporal y pasto natural en diferentes épocas del año en Galicia. Valores medios y rango de variación (entre paréntesis)

	Primavera-Verano		Otoño	
	Pradera temporal n=75	Pasto natural n=38	Pradera temporal n=29	Pasto natural n=9
DMO (%)	68.9 (46.0-84.6)	65.8 (48.5-81.0)	73.8 (41.3-83.2)	76.2 (72.4-80.9)
IMS (g kg ⁻¹ P ^{-0.75})	60.9 (33.1-89.3)	53.2 (31.8-79.3)	47.9 (23.2-66.4)	44.9 (37.0-57.3)
MS (%)	23.1 (11.4-42.9)	19.2 (13.3-33.9)	15.2 (1.0-31.2)	13.7 (11.3-17.9)
<i>Composición química (%MS)</i>				
CZ	8.1 (2.4-13.2)	11.6 (6.6-16.9)	11.1 (7.8-15.3)	11.9 (8.0-13.3)
PB	11.6 (3.2-18.8)	12.3 (6.4-19.9)	17.2 (11.7-24.5)	17.8 (14.0-20.3)
FND	58.9 (45.5-76.8)	59.5 (41.0-66.6)	51.9 (44.9-58.7)	52.5 (45.9-58.6)
FAD	35.7 (25.7-49.1)	35.4 (22.8-43.3)	29.9 (25.6-33.7)	29.0 (24.2-34.8)
CEL	29.2 (23.1-39.5)	27.3 (19.4-31.6)	23.7 (19.8-28.3)	24.0 (20.4-28.6)
CSA	13.3 (2.2-29.9)	8.6 (2.2-27.1)	9.7 (3.0-21.4)	8.6 (4.8-14.2)

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica *in vivo*; IMS: ingestión voluntaria de materia seca; MS: materia seca; CZ: cenizas; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; CEL: celulosa; CSA: carbohidratos solubles en agua.

Fuente: elaboración propia a partir de datos de Castro (1994)

Los contenidos medios de materia seca (MS), cenizas (CZ, %MS), proteína bruta (PB, %MS), fibra neutro detergente (FND, %MS), fibra ácido detergente (FAD, %MS),

celulosa (CEL, %MS), lignina (LAD, %MS), carbohidratos solubles en agua (CSA, %MS), digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* (DMO_{in vivo}, %) e ingestión voluntaria de materia seca (IMS, g kg⁻¹ P^{-0.75}) fueron de 20.0, 9.7, 12.2, 57.3, 34.1, 29.2, 4.91, 69.52 y 55.5, respectivamente, para la media de todas las muestras evaluadas. La variabilidad correspondiente a la DMO y a la ingestión voluntaria (medida en términos del coeficiente de variación, c.v.) fueron de 13.3 y 21.1 %, respectivamente. El parámetro más variable, además del contenido en carbohidratos solubles en agua, fue el contenido en proteína bruta (c.v. de 52.2 y 39.4%, respectivamente).

En la Tabla 2.2. se muestran los valores medios de composición química, digestibilidad *in vivo* e ingestibilidad de diversos forrajes evaluados en Francia hasta 1992 (Demarquilly y Andreu, 1992), tanto durante su primer ciclo de crecimiento (estado vegetativo a floración) como los rebrotes sucesivos de 4 a 8 semanas para las especies pratenses.

Tabla 2.2.- Composición química, digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica e ingestión voluntaria, medidas en ovinos, de los forrajes clásicos estudiados en verde en Francia

Forraje	n		DMO (%)	IMS (g kg ⁻¹ P ^{-0.75})	MS (%)	CZ (%MS)	PB (%MS)	FB (%MS)
Praderas temporales de gramíneas	916	Media	71.5	68.0	19.1	10.8	14.3	26.8
		Rango	49.2-84.1	37-106	10.2-34.5	5.2-24.8	5.2-27.4	15.7-38.3
		cv(%)	9	16	27	22	29	15
Praderas naturales	295	Media	69.5	66.0	19.2	9.4	14.3	27.0
		Rango	50.0-82.0	41-93	11.1-35.0	5.2-21.0	8.0-23.3	17.0-36.0
		cv(%)	8	16	17	20	24	12
Praderas temporales (año de siembra)	141	Media	76.0	68.0	16.5	13.0	18.9	24.3
		Rango	60.0-84.1	47-106	10.2-25.9	8.3-20.1	10.1-27.4	16.6-31.7
		cv(%)	6.0	16	18	18	17	12
Alfalfa	172	Media	66.0	79.0	21.3	11.2	22.1	27.8
		Rango	56.5-80.9	56-121	14.0-27.3	4.2-17.1	16.1-28.0	16.9-37.4
		cv(%)	7	15	25	15	13	16
Trébol violeta	56	Media	72.0	79.0	15.7	11.8	19.2	22.3
		Rango	57.6-83.2	60-100	11.2-24.3	9.0-16.1	12.8-24.5	12.8-31.0
		cv(%)	8	11	22	14	16	22
Hierba en estado pastoreo	139	Media	74.4	-	19.2	12.1	15.9	27.2
		Rango	66.3-85.8	-	12.5-38.0	7.1-20.1	7.8-26.0	18.6-36.8
		cv(%)	7	-	25	15	13	16
Maíz tras floración	82	Media	71.5	53	23.4	5.7	8.8	20.1
		Rango	67.7-79.5	38-76	13.9-33.0	3.9-7.9	5.8-11.1	14.3-25.9
		cv(%)	7	15	25	15	13	16

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica *in vivo*; IMS: ingestión voluntaria de materia seca; MS: materia seca; CZ: cenizas; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta.

Fuente: Demarquilly y Andrieu (1992)

Como en el caso de los forrajes gallegos, los valores correspondientes a las praderas temporales muestran, de media, un mayor valor nutricional frente al los pastos naturales. Como puede observarse, las leguminosas son claramente más ricas en proteína bruta que las gramíneas, de semejante o inferior digestibilidad (caso de la alfalfa), y de una

ingestibilidad claramente superior (+16%). De media, la variabilidad de la ingestión prácticamente duplica a la observada para la digestibilidad de la materia orgánica, confirmando lo observado para el grupo de muestras evaluadas en el CIAM.

Tanto la digestibilidad de la pared celular como la tasa de digestión desciende con la madurez de la planta. A modo de ejemplo, en la Tabla 2.3. se resumen los cambios en proteína, lignina, celulosa y digestibilidad de la celulosa del dactilo en función de su estado de madurez. Estos datos enfatizan la importancia de cosechar la hierba en un estado precoz para maximizar el contenido celular y la digestibilidad de la fibra.

Tabla 2.3. Efecto del estado de madurez en la composición química y digestibilidad del dactilo

	Fecha de corte											
	23/4	27/4	1/5	5/5	9/5	13/5	17/5	21/5	25/5	29/5	2/6	6/6
PB (%MS)	22.5	21.4	21.0	19.3	18.5	15.7	15.6	14.3	13.8	12.5	12.4	11.5
Celulosa (%MS)	24.0	24.9	25.5	29.0	30.2	28.5	31.6	31.4	32.7	33.8	33.7	35.3
Lignina (%MS)	5.4	4.8	5.8	6.6	7.0	6.9	7.0	7.5	7.8	8.7	8.9	9.6
Digestibilidad ⁽¹⁾ (%)	69.5	76.5	70.7	71.9	59.8	68.9	65.5	64.0	55.4	61.0	58.1	53.8

⁽¹⁾ Digestibilidad de la celulosa medida *in situ* (%)

Fuente: Murdock *et al.*, (1964)

Conrad *et al.* (1962) y Reid *et al.* (1959) estudiaron la digestibilidad de forrajes en el primer corte mediante evaluaciones *in vivo*. Las ecuaciones que desarrollaron fueron $Y=71.4-0.286X$ y $Y=85-0.48X$, respectivamente para los dos autores citados, donde Y =% de MS digestible y X =fecha de corte, en días desde comienzos de Mayo y Abril, respectivamente. Los datos sugieren que el descenso en digestibilidad de la MS del forraje es de 2.0 a 3.4 unidades porcentuales por semana durante Mayo y Junio.

Demarquilly y Andrieu (1992) indican que la digestibilidad de las forrajeras pratenses es máxima al comienzo del crecimiento del primer ciclo, en primavera, con valores de DMO cercanos al 85%. En el caso de las gramíneas, la digestibilidad disminuye lentamente hasta el estado del comienzo de espigado, a razón de 0.15-0.20 ud diarias y, a partir de aquí, con mucha mayor rapidez, del orden de 0.4 a 0.5 ud d⁻¹, siendo el rango aproximado de variación de DMO a lo largo del primer ciclo desde valores del 80-85% unas tres semanas antes del comienzo de espigado hasta el 60-65%, unas tres semanas después. Para las leguminosas el descenso es prácticamente lineal a lo largo del primer ciclo, con un valor medio de -0.4 ud d⁻¹.

Distintos autores han indicado diferencias en el comportamiento de las distintas especies en cuanto al rango de variación de digestibilidad a lo largo de la estación de crecimiento, tanto para gramíneas como para leguminosas. Davies *et al.*, (1966) mostraron que la digestibilidad del trébol blanco era más elevada y descendía a menor velocidad que la del trébol violeta y la de la alfalfa en el período de crecimiento primavera-verano, con rangos de variación 82-74%, 78-60% y 74-61% para trébol blanco, trébol violeta y alfalfa, respectivamente. En el caso de gramíneas, Minson *et al.*, (1964) indicaron que la digestibilidad de los raigrases (*Lolium* spp.) era consistentemente más elevada que la del dactilo o de la festuca elevada en el momento del comienzo de espigado (valores medios de digestibilidad de la energía de 77, 74 y 67%, respectivamente). Por otra parte, Michell, (1973) observó que la digestibilidad media de la materia seca de distintos cultivares de trébol blanco (77%) era superior a la de los raigrases inglés e italiano (71% de media) o dactilo (68%), cuando todas estas especies se sometían a un régimen frecuente de corte.

Es interesante señalar, tal y como destacan Demarquilly y Andrieu, (1992), que si bien existen diferencias de digestibilidad entre especies, medida en el mismo estado de madurez, así como entre variedades de la misma especie (las variedades precoces de gramíneas son algo más digestibles que las tardías, y las variedades tetraploides algo más digestibles que las diploides), dichas diferencias son mucho menores que las debidas al efecto de la madurez para una misma especie.

La digestibilidad de los rebrotes es siempre inferior a la de la hierba del primer ciclo al comienzo de su crecimiento en primavera y el descenso en digestibilidad es también menor que la experimentada durante el primer ciclo de crecimiento. Cherney *et al.*, (1993) observaron, para un conjunto de gramíneas pratenses, un descenso medio de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (%) de 0.68 ud. d⁻¹ en los primeros cortes, mientras que el correspondiente valor para los rebrotes fue únicamente de 0.13 ud. d⁻¹. Por su parte Demarquilly y Andrieu, (1992) indican que la digestibilidad de los rebrotes está mucho menos ligada a la edad del forraje que en el primer ciclo de crecimiento, citando valores medios de depresión de la DMO de los rebrotes foliáceos de gramíneas del orden de 0.1 a 0.2 ud d⁻¹.

El principal factor que causa el descenso de la digestibilidad de la materia orgánica con la madurez es la lignificación de las paredes celulares (Smith *et al.*, 1972, Van Soest y Mertens, 1977). Su capacidad de establecer enlaces covalentes con las cadenas de hemicelulosa y celulosa ejerce un efecto de protección que limita la degradación ruminal de dichas fracciones. A este respecto Mertens (1973) y Chandler *et al.*, (1980) indican que el grado de protección de la pared celular equivale a entre 2.4 y 3.0 veces su peso. La familia botánica a la cual pertenece la planta determina fundamentalmente las proporciones de pectina, hemicelulosa y lignina de las paredes celulares (Van Soest, 1985). En general, las gramíneas presentan una fibra baja en pectina, mientras que la pared celular de las leguminosas está más lignificada y con un contenido en pectina superior al de las gramíneas.

Para el mismo nivel de digestibilidad de la materia seca las leguminosas presentan aproximadamente el doble de lignina que las gramíneas y, consecuentemente, menor digestibilidad de la pared celular. Sin embargo este factor es compensado por la menor proporción de paredes celulares en la materia seca de las leguminosas (Smith *et al.*, 1972, Van Soest, 1985). El aumento de la lignificación de la planta con la maduración se debe a cambios en la proporción de las diferentes fracciones de la planta así como a un incremento del contenido en lignina en cada fracción (Sosulki *et al.*, 1960). Las hojas contienen la menor proporción de lignina, seguidas de los tallos e inflorescencias. Estos autores, en una evaluación de 22 variedades de cuatro especies gramíneas, encontraron que las variedades de menor contenido en lignina presentaban la mayor proporción de hojas, menor porcentaje de espigas y menor contenido en lignina en todas las fracciones de la plantas.

Dentro de las condiciones de medio, el efecto de la temperatura ambiente tiende a superar el efecto de los demás factores que afectan a la lignificación (Deinum *et al.*, 1968) A este respecto Van Soest (1982) indica que el nivel de lignificación se mantiene relativamente bajo en los forrajes cultivados en las regiones templadas en comparación con los de las zonas tropicales, cuya digestibilidad es típicamente más baja comparada con la de los anteriores. Diferentes medios climáticos implican distintos grados de lignificación de la pared celular, por lo que en forrajes con el mismo contenido en lignina la digestibilidad de la pared celular puede ser diferente.

La ingestibilidad de las forrajeras pratenses depende del estado de madurez de la planta y del número de ciclo (Demarquilly *et al.*, 1981), explicando la edad, en el primer ciclo, del 71 al 90% de la variabilidad de aquella para una especie dada, en el caso de las gramíneas, y del 37 al 40% para el caso del trébol violeta y la alfalfa, respectivamente. Existe una estrecha relación entre ingestibilidad y digestibilidad para los forrajes en el primer ciclo de vegetación, descrita por tendencia rectilínea o ligeramente curvilínea. Al mismo nivel de digestibilidad, la ingestibilidad de las leguminosas es claramente superior al de las gramíneas (Jarrige *et al.*, 1974) situándose la disminución media de la ingestibilidad con la edad entre 0.41 a 0.65 y 0.34 a 0.37 g kg⁻¹ P^{-0.75} por día, para gramíneas y leguminosas, respectivamente. La ingestibilidad de los rebrotes disminuye también con la edad, pero las relaciones de este atributo con la edad, digestibilidad y composición química son mucho menos estrechas que para el crecimiento en el primer ciclo.

2.1.2. Maíz

Entre las ventajas que presenta el cultivo de maíz destinado a ser ensilado para su empleo en la alimentación de rumiantes, Phipps y Wilkinson (1985) citan las siguientes: i) presenta una elevada calidad nutricional durante un período de cosecha relativamente largo; ii) produce altos rendimientos de materia seca, con alta densidad energética y buena ingestibilidad; iii) fermenta consistentemente bien en el silo sin necesidad de aditivos; iv) sólo se requiere una operación de cosecha, en lugar de dos o más en el caso de las forrajeras pratenses.

El valor nutritivo del ensilaje de maíz depende de la digestibilidad de las fracciones mazorca y caña, que están a su vez influenciadas por factores genéticos y ambientales y por el estado de madurez en la cosecha (Bolsen, 1995). El estado de madurez de la planta en el momento de la cosecha es el factor que condiciona más estrechamente el valor nutritivo del ensilaje.

La planta de maíz se compone de diferentes fracciones morfológicas, cuya composición química y proporción respecto al total de la planta se ve afectada durante el avance hacia

la madurez . En la Tabla 2.4. se muestra la aportación de diferentes partes de la planta entera de maíz al rendimiento total y su digestibilidad, evidenciando que la digestibilidad de la planta entera depende de la proporción de las diferentes fracciones en cada estado fenológico.

Tabla 2.4.- Distribución de la materia seca de la planta entera de maíz en el momento de la cosecha y contenido en materia seca y digestibilidad de las fracciones

Parte	Contribución al rendimiento de materia seca (%)	Contenido en materia seca (%)	Digestibilidad (%)
Penacho	1.3	53.8	47.6
Grano	43.5	431	88.6
Zuro	10.1	33.1	68.4
Espatas y pedúnculo	11.8	24.8	65.5
Nervio central de las hojas	2.1	26.8	56.3
Mesofilo de la hoja	9.2	35.9	76.7
Lámina de la hoja	4.5	28.8	55.6
Corteza del tallo	13.2	18.3	54.4
Médula del tallo	4.3	12.2	73.6
Planta entera	100	29.3	75.4

Fuente: Struik, (1984)

El contenido en materia seca de la planta entera de maíz aumenta desde la floración hasta que se alcanza el estado de grano vítreo, existiendo una correlación positiva entre la proporción de espigas y la MS (Wilkinson y Phipps, 1979). El contenido en carbohidratos solubles, que es elevado en el estado de grano lechoso, desciende con la madurez, acompañado de un simultáneo incremento del contenido en almidón del grano como se refleja en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5.- Efecto de la fecha de cosecha en el contenido de materia seca, carbohidratos no estructurales y ácidos de fermentación en la planta de maíz fresca y ensilada

		27 Agosto	18 Septiembre	8 Octubre
Materia seca (%)	Fresco	23.6	26.9	33.5
	Ensilado	19.8	26.8	31.8
Carbohidratos solubles (%MS)	Fresco	30.7	13.6	8.0
	Ensilado	3.3	2.0	1.1
Almidón (%MS)	Fresco	6.8	19.0	27.8
	Ensilado	6.7	17.4	24.4
Ácidos de fermentación (% MS)	Ensilado	9.7	7.1	6.5

Fuente: Wilkinson y Phipps, (1979).

En general, la evolución de la composición química de la planta entera de maíz con la edad muestra un descenso apreciable de la proporción de la pared celular (fibra) que no necesariamente se ve reflejada en un incremento de la digestibilidad. Russell (1986) y Russell *et al.*, (1992) estudiaron la digestibilidad de la caña del maíz en el período

comprendido entre la madurez fisiológica y las cinco semanas anteriores observando un descenso en el contenido en carbohidratos estructurales y la digestibilidad de la materia seca, acompañado con un aumento en la concentración de fibra con el avance hacia la madurez e indicaron que la digestibilidad de la caña estaba altamente correlacionada con los contenidos en ADF y lignina. La variación de la digestibilidad de la planta entera con el incremento de la madurez entre los estados de grano lechoso a vítreo es generalmente moderado, asumiéndose que el descenso de digestibilidad registrado por la parte vegetativa de la planta se compensa con el incremento proporcional de grano altamente digestible en la mazorca (Van der Honig, 1979), produciéndose un descenso de digestibilidad de la planta una vez alcanzada la fase de grano en estado vítreo. Según Deinum *et al.* (1984), mientras que la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de la mazorca es prácticamente constante (84-85%), la de la caña muestra una variación amplia (58-74%), lo que constituye la base para la mejora genética de la digestibilidad de los nuevos híbridos de maíz. Wilkinson (1979) sugiere que se pueden esperar incrementos en el valor energético e ingestibilidad del ensilado de maíz cuando la MS aumenta hasta el 35%, coincidiendo el estado de grano pastoso-vítreo con el de máximo rendimiento en MS de la cosecha.

El rendimiento en grano de la planta y la digestibilidad de la fracción caña son factores de gran importancia en la selección de los híbridos de maíz forrajero para ensilar, dado que mientras que el grano tiene una alta densidad energética, la fracción caña representa aproximadamente el 45-60% del total del rendimiento en MS de la planta entera (Verbic *et al.*, 1995; Wolf *et al.*, 1993). Por tanto la calidad de esta fracción es un factor que condiciona estrechamente el valor nutricional de la planta entera. Este puede ser mejorado incrementando la proporción de grano y/o la calidad nutritiva de la caña. Las posibilidades de la mejora genética de la calidad del grano son limitadas a causa de su menor variabilidad comparada con la exhibida por la fracción caña (Deinum y Bakker, 1981).

La madurez explica un alto porcentaje de la variabilidad encontrada en el rendimiento y, con cierta frecuencia, también de la digestibilidad de la planta entera. Los genotipos tardíos pueden tener mayor rendimiento de materia seca pero menor proporción mazorca/fracción caña, comparados con los genotipos más precoces cosechados en la

misma fecha. Consecuentemente, el contenido en fibra de la planta entera y su digestibilidad suele ser inferior para los primeros (Russell *et al.*, 1992).

Los factores de medio afectan a la digestibilidad de la materia orgánica de la planta de maíz. Su variación está influenciada por la relación entre las fracciones mazorca/resto de la planta, el contenido en paredes celulares y su digestibilidad. Según Struik (1983), la digestibilidad es afectada positivamente por el incremento de la irradiación solar, mientras que las temperaturas excesivamente elevadas tienden a deprimirla. Este autor observó que períodos prolongados de baja irradiación solar reducían el desarrollo y crecimiento de la mazorca más que el crecimiento del tallo y deprimían la digestibilidad de la planta, en particular si ocurrían durante la floración. Por otra parte, las altas temperaturas estimulan el desarrollo y reducen la digestibilidad, en particular cuando ocurren en el momento en el cual el tallo aún está creciendo. Determinadas prácticas culturales afectan también a la digestibilidad de la planta de maíz. Las siembras tardías suelen estimular el crecimiento vegetativo a causa de que la temperatura es más elevada a finales de primavera, posponiendo el desarrollo reproductivo y reduciendo, por tanto, la digestibilidad final de la planta en la cosecha (Struik, 1983). Por su parte Cusicanqui y Lauer, 1999 estudiaron el efecto de cinco densidades de siembra (rango 45 a 105 mil plantas ha^{-1}) en dos híbridos de diferente calidad nutritiva, en tres años diferentes, observando que: i) las diferencias en composición química y digestibilidad entre los híbridos se mantenía en todo el rango de densidades ensayado; ii) el rendimiento de MS por ha se incrementaba con la densidad; iii) el aumento de densidad implicaba un descenso de la digestibilidad *in vitro*, % (de 1.6 a 2.3 ud) y del contenido en proteína bruta, % MS (de 0.6 a 0.8 ud) y un aumento del contenido en fibra, % MS (de 2.0 a 3.5 y 1.9 a 2.9 ud, FND y FAD, respectivamente), estando todos los valores referidos a la planta entera. Cox *et al.*, (1998) evaluaron el efecto de cinco densidades de siembra (rango 45 a 104 mil plantas ha^{-1}) con ocho genotipos de maíz sembrados a dos distancias entre líneas (76 y 38 cm), en tres años diferentes, sobre la calidad, rendimiento y aspectos económicos de la producción de ensilaje de maíz. El rendimiento de la planta entera fue ligeramente superior para el interlineado de 38 cm comparado con el de 76 cm (55.8 vs. 53.6 t materia fresca ha^{-1} , respectivamente), observándose un máximo retorno económico a 97.6 mil plantas ha^{-1} . En concordancia con lo observado por los autores anteriores, el

incremento de la densidad redujo la digestibilidad *in vitro* e incrementó el contenido en fibra de la planta entera de maíz.

El momento adecuado de recolección de la planta de maíz debe asegurar la existencia de un compromiso entre rendimiento de materia seca, suficiente concentración de azúcares solubles para la fermentación en el silo y máximo valor nutricional para el ganado. Mahanna (1996) sugiere un contenido en carbohidratos solubles del orden de 6-8% MS de la planta entera como suficiente para garantizar una correcta fermentación (pH final alrededor de 4.0) cuando la planta es cosechada con un contenido en MS $\geq 27\%$. La proporción de grano y, consecuentemente, el contenido en almidón en la planta entera se incrementan con el avance hacia la madurez (en particular entre los períodos 1/3 ML y BL), descendiendo el contenido en azúcares solubles.

Es de gran interés para el manejo del cultivo, desde el punto de vista práctico, el contar con criterios objetivos de determinación del momento óptimo de cosecha. El estado de madurez de la planta de maíz puede ser determinado por la localización de la “línea de leche” (ML) del grano (Shaver, 1993; Havilah *et al.*, 1995). Esta línea es la interfase entre las porciones de endospermo lechoso y sólido del grano, señalando la zona de deposición de almidón en el proceso de llenado del grano. Cuando la planta madura, dicha línea avanza desde el extremo distal del grano hacia el punto de inserción del mismo en el zuro, lugar a través del cual se produce la transferencia de nutrientes de la planta al grano. El estado de madurez fisiológica de la planta viene indicado por la aparición de una capa de células muertas en la base del grano (estado de “línea negra” o BL), indicando que el transporte de nutrientes al grano ha llegado a su fin. Para Bal *et al.*, (1997), el estado óptimo de cosecha del maíz ensilado destinado a la alimentación de vacas de leche se sitúa entre los estados de $\frac{1}{4}$ ML y $\frac{2}{3}$ ML, intervalo en el cual, según dichos autores, el ensilaje de maíz proporciona mayor ingestión de materia seca digestible y mayor producción de leche que cualquier otro estado de madurez. Otros autores, sin embargo, indican que el óptimo se encontraría en estadios más tardíos, entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ ML (Mahanna, 1998). Por su parte Bolsen, (1995), indica que el rendimiento de materia seca y de materia seca digestible por ha de la planta entera de maíz se maximiza en el intervalo de tiempo comprendido entre el momento en que la línea de leche está a $\frac{3}{4}$ de su recorrido ($\frac{3}{4}$ ML) y unos 7 a 10 días tras la madurez fisiológica.

El contenido en humedad de la planta entera está inversamente relacionada con el estado de madurez (Wiersma *et al.*, 1993). Aunque idealmente el maíz debería ser cosechado cerca del estado de madurez fisiológica para maximizar el valor nutritivo del grano, el contenido en MS recomendado para ensilar varía según el tipo de silo en el que se vaya a almacenar el forraje. Para silos trinchera o bunker se recomienda realizar la cosecha cuando el contenido de la planta entera se encuentre entre el 27 y 32%, indicando que en este intervalo se maximiza la ingesta por el ganado, se elimina la producción de efluente y se consigue una adecuada compactación del forraje en el silo (Phipps y Wilkinson, 1985; Mahanna, 1996). En el caso de ensilar en silos herméticos tipo “Harvestore”, el rango de materia seca recomendado se eleva hasta el 40-50% (Mahanna, 1996). La Tabla 2.6. resume las recomendaciones en cuanto al momento óptimo de cosecha, contenido de materia seca y longitud de picado, y la Tabla 2.7. refleja la evolución del valor nutricional y rendimiento de la planta entera de maíz en tres fases de madurez diferentes.

Tabla 2.6. Recomendaciones acerca del momento óptimo de cosecha y longitud de picado para diferentes forrajes para ensilar

Cosecha	Grado de Madurez	Contenido en materia seca (%) en función del tipo de silo		Longitud teórica de corte (mm)
		Tipo Bunker	Tipo Hermético	
Planta entera de maíz	½ ML a ¾ ML	28 a 33	40 a 50	10-18
Gramíneas pratenses	Comienzo de espigado. Presecar	28 a 33	40 a 50	15-30
Alfalfa	Botón floral a 1/10 floración. Presecar	28 a 33	40 a 50	15-30
Trébol violeta	¼ a ½ floración. Presecar	28 a 33	40 a 50	15-30

Fuente: Mahanna, (1998)

Tabla 2.7. Valor nutricional de la planta entera de maíz en tres fases de madurez diferentes (medias de seis genotipos en dos localidades)

	Estado de Madurez (posición de la línea de leche del grano)		
	1/3 ML	2/3 ML	BL
Materia Seca (%)	31.7	39.1	45.4
Contenido en grano (% MS total)	32.4	41.8	46.1
Proporción de la fracción mazorca (%MS total)	40.9	49.8	54.3
Proporción de la fracción caña (%MS total)	59.1	50.2	45.8
FAD (%MS)	27.0	25.3	25.5
FND (%MS)	46.3	43.8	44.5
Azúcares (%MS)	9.8	7.1	6.6
Almidón (% MS)	22.1	28.4	31.0
Desaparición de MS in situ (24 h) (%)	60.3	58.9	56.4
Total de Nutrientes Digestibles (TDN, %)	66.2	68.4	68.2
Rendimiento en materia seca (base 100=BL)	90	101	100

Fuente: Mahanna, (1998)

Está generalmente aceptado que el incremento del contenido en grano con la madurez aumenta el rendimiento de MS y de MS digestible (Allen *et al.*, 1997). Asimismo es conocido que ciertos híbridos mantienen la digestibilidad de la fracción caña con la

madurez a niveles más elevados que en otros híbridos, donde sufre un descenso mucho más marcado conforme la planta se acerca al estado de madurez fisiológica (Allen *et al.*, 1997). Hunt *et al.* (1989) estudiaron los efectos de la madurez de seis híbridos en dos años y dos localidades, observando que las concentraciones de FND y FAD de la planta entera disminuyeron desde el estado de 1/3 ML hasta el de 2/3 ML, manteniéndose constantes desde este momento hasta la madurez fisiológica. Sin embargo, la degradabilidad *in situ* de la materia seca de la planta entera descendió desde el 60.3% en el primer estado hasta el 56.4% en el último, poniendo de manifiesto el interés de identificar variedades de maíz que mantengan la calidad de la parte vegetativa de la planta en estados avanzados de madurez mientras incrementen el contenido en grano de la mazorca (Johnson *et al.*, 1999).

Los granos de maíz destinados a ser ensilados deben tener textura blanda para incrementar la digestión del almidón en el tracto digestivo del ganado vacuno (Allen *et al.*, 1997). Debe ser tenido en cuenta que los granos de maíz duros y secos pueden reducir el contenido en energía digestible del ensilaje comparado con el cosechado en un estado menos maduro (Honig y Rohr, 1982), en particular cuando el forraje es picado a una longitud teórica de corte (LTC) de entre 10 y 15 mm y la cosechadora no está dotada de un mecanismo de procesamiento de granos que garantice su rotura. En este caso, la presencia de una proporción relativamente elevada de granos enteros puede provocar la aparición de una substancial proporción de almidón no digerido en las heces del ganado vacuno. A este respecto, Harrison (1996) comparó dos ensilajes de planta entera de maíz, cosechados en los estados de ½ ML y BL y ofrecidos a vacuno lechero, observando que el maíz cosechado en el momento de madurez fisiológica mostraba una disminución en la digestibilidad ruminal e intestinal del almidón, así como un menor flujo de N ruminal de origen microbiano, comparado con el cosechado en el estado más precoz.

Por otra parte, el aplastado del grano en la cosechadora tiene un efecto importante en la velocidad de fermentación del forraje en el silo cuando la planta se cosecha en un estado avanzado de madurez. Harrison *et al.* (1997) indican que, mientras que el procesamiento del grano no influenciaba el modelo de fermentación del ensilaje de planta entera de maíz cosechado en un estado 1/3 ML, cuando la cosecha se retrasaba hasta el estado 2/3 ML el ensilaje de maíz que había sufrido el procesamiento del grano fermentó más rápidamente y

tenía un pH más bajo a los 10 días tras el ensilado que el forraje no procesado cosechado en el mismo estado de madurez.

Debe ser tenido en cuenta que la demanda de energía de las vacas en lactación, particularmente las de alta producción, es cubierta con raciones de elevado contenido en cereales y carbohidratos no estructurales (Beauchemin y Rode, 1997). Los rumiantes requieren una determinada proporción de forraje basto en la ración para estimular la rumia (Beauchemin *et al.*, 1994; NRC, 2001) y es conocido que un suministro inadecuado de fibra larga puede inducir un pH ruminal y un ratio acetato:propionato anormalmente bajos (Grant *et al.*, 1990), acidosis ruminal subclínica o clínica (Owens *et al.*, 1998) o laminitis (Nocek, 1997). Con el incremento de la intensificación productiva en las explotaciones de leche, el tamaño de partícula del forraje se ha ido reduciendo a fin de facilitar el procesado de los alimentos, su mezcla en raciones completas y su distribución a los animales. Los sistemas de alimentación detallan los requerimientos de las vacas de leche en términos “químicos” (porcentaje de FND y FAD mínimos en la ración y procedentes del forraje, por ejemplo), pero no especifican la naturaleza física del componente ni las necesidades de los animales. El concepto de fibra efectiva surge de la necesidad combinar la naturaleza física y química del forraje, y cuantificar su valor en el mantenimiento de la funcionalidad del rumen, siendo propuesto por Buckmaster (2000) un índice de fibra efectiva que liga explícitamente la distribución de partículas, en función de su tamaño, con su contenido en FND. Las recomendaciones prácticas de manejo recogen este planteamiento, indicando Mahanna (1998) que la dieta de la vaca lechera debe incluir un 15-20% de la ración total (en peso fresco) en forma de forrajes con un tamaño de partícula superior a 35 mm, para asegurar un correcto funcionamiento del rumen.

En un trabajo encaminado a estudiar los factores que afectan al valor nutritivo del ensilado de maíz (Andrieu, 1976), en el que se determinó la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de 122 ensilajes procedentes de 15 variedades cultivadas en distintas localidades francesas en el período 1969-1973, se indican, entre otros, los siguientes resultados:

- La digestibilidad media de los ensilajes (DMO) fue de 70,1%, con rango 59.5-76.0%.

- Para una determinada variedad, cosechada en diferentes estados vegetativos, la influencia de la fecha de recolección sobre la digestibilidad fue baja (menos de 2 unidades de DMO%).
- Las diferencias de digestibilidad entre variedades fueron significativas, aunque la variación fue relativamente pequeña (máxima diferencia, 4.2 unidades de DMO%).
- Los factores de medio (localidad, año, fecha de siembra) tuvieron, a este respecto, una influencia muy superior, registrándose una diferencia máxima de casi 8 puntos de DMO%.

El rango de digestibilidades observado en este ensayo es similar al referido por Deinum *et al.* (1984) en las condiciones de Holanda en los años 60 (59-73% DMO), destacando que veinte años más tarde la variabilidad entre los híbridos cultivados se había estrechado hasta el 70-75% DMO. Resultados de un trabajo de Aufrère *et al.* (1992) cifran en 10 unidades porcentuales de DMO la variabilidad observada en 118 muestras de planta entera de maíz cosechadas a distinto grado de madurez y cultivadas en tres localidades francesas durante dos años, llegando prácticamente a las mismas conclusiones que Andrieu (1976) con relación al efecto significativo de la localidad y el año sobre la digestibilidad. Más recientemente, Argillier y Barrière (1996) afirman que las diferencias de valor energético existentes entre las variedades cultivadas en Europa son lo suficientemente notorias como para que el valor característico de la digestibilidad de una variedad sea tomado en consideración para su inclusión en los registros de híbridos existente en cada país.

Deinum y Struick (1986) revisaron la bibliografía relativa a los datos de digestibilidad de la materia orgánica de la planta entera de maíz obtenidos por autores de diferentes países y climas, observando la existencias de apreciables diferencias entre regiones y climas, tal y como se resume en la Tabla 2.8. Estas diferencias pueden ser debidas a diferentes factores: tipos de híbridos elegidos, condiciones de medio y procedimiento de ejecución de los ensayos de digestibilidad. En Holanda, la digestibilidad *in vivo* es medida en condiciones estándar, a un nivel de alimentación de mantenimiento, suplementando el maíz con una fuente proteica. En otros centros, la digestibilidad puede ser medida alimentando os animales *ad libitum*, sin suplementación proteica, o con vacas. Las diferencias en el procedimiento seguido pueden explicar diferencias de 2-3 unidades (%). Dentro de las condiciones ambientales, la temperatura ejerce la mayor influencia sobre las

diferencias observadas, de forma que la elevación de unos 10 °C en la temperatura media del período de cultivo puede inducir, según Struik *et al.*, (1995) un descenso de digestibilidad de 3 unidades (%). El restante factor es la influencia media debida a los diferentes genotipos, la cual puede explicar hasta 5 puntos de diferencia, pudiendo observarse que los híbridos utilizados en los ensayos de Alemania y EEUU eran de digestibilidad relativamente baja comparados con los de los restantes países. El descubrimiento de diferencias varietales en digestibilidad hizo que la medida o estimación de la digestibilidad se adoptase como un criterio es el testaje de variedades. Según Deinum y Struik, (1986) las variedades introducidas en Holanda desde finales de los años 60 a mediados de los 70 eran más digestibles que los híbridos incorporados al mercado entre esta ultima fecha y mediados de los años 80, observándose una correlación negativa entre año de introducción y digestibilidad ($r=-0.66$).

Tabla 2.8 . Digestibilidad media del ensilaje de maíz en diferentes países.

País	Digestibilidad (%)	Nivel de alimentación	Referencia
Holanda	73.5 (DMO)	restringido	Deinum <i>et al.</i> , (1984)
Bélica	73.0 (DMS)	restringido	Aerts <i>et al.</i> , (1978)
Alemania	68.8 (DMO)	restringido	Gross y Averdunk, (1974)
Francia	70.4 (DMO)	<i>ad libitum</i>	Andrieu, (1985)
EEUU	65.3 (DMS)	<i>ad libitum</i>	Goering <i>et al.</i> , (1969)
EEUU	64.0 (DMS)	<i>ad libitum</i>	Schmid <i>et al.</i> , (1975)

Fuente: Struik, (1984)

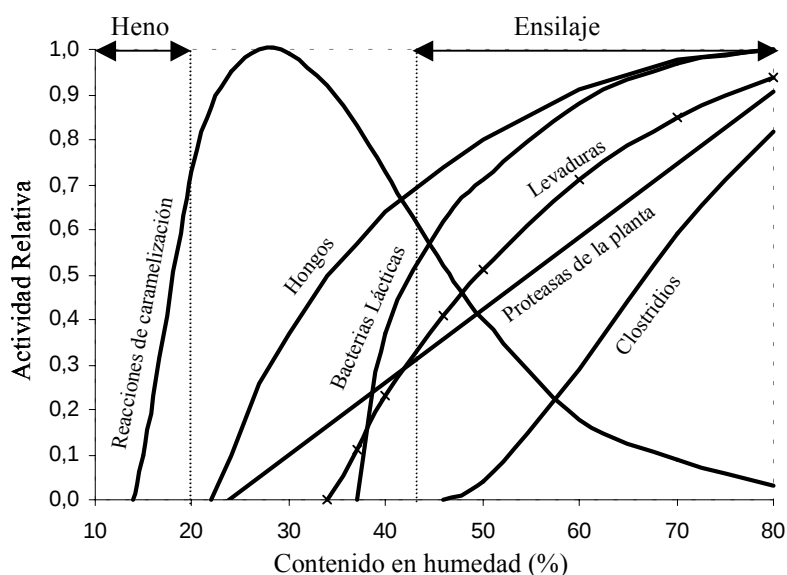
2.2. Las pérdidas en los procesos de conservación del forraje

El manejo del forraje como ensilaje proporciona la oportunidad de realizar la cosecha al nivel de digestibilidad deseado. La conservación de las forrajeras pratenses mediante el ensilado es poco (cosecha por corte directo) o menos (cosecha de forraje presecado) dependiente de las condiciones climatológicas en comparación con la práctica de la henificación. El objetivo de la técnica de ensilado es retener el máximo potencial para la producción animal que el forraje posee en el momento de cosecha (O'Kiely, 1997). Esto incluye minimizar las pérdidas cuantitativas y controlar los cambios cualitativos que tienen lugar en la masa de forraje.

Las técnicas de henificación y ensilado difieren acerca de cómo se maneja el contenido en humedad del forraje como estrategia de preservación (Demarquilly, 1986). En las cercanías del momento en que el forraje es usualmente cosechado, el contenido medio en humedad de las forrajeras pratenses está en torno al 75-85%, mientras que el de la planta

entera de maíz se sitúa entre el 73 y el 67% (Reid, 1982; Phipps *et al.*, 1979). La composición del jugo de la planta, donde se encuentran disueltos entre otros compuestos azúcares solubles, ácidos orgánicos y proteínas, proporcionan un sustrato ideal para el crecimiento de levaduras, hongos y bacterias, así como para la actividad de las enzimas de la planta. Cuando el forraje se seca después de la cosecha, el agua del forraje se evapora lo que conduce a una elevación de la concentración de los solutos en el líquido. En este jugo concentrado, el crecimiento de los microorganismos se ve restringido. La Figura 2.1. muestra el efecto del contenido en humedad del forraje sobre la actividad microbiana y de los enzimas de la planta. La disminución de la humedad del forraje por debajo del 20% impide dichos procesos, lo que constituye la base de la henoificación. Sin embargo, por encima del 40% de humedad es posible el crecimiento de los microorganismos y la actividad de las proteasas de la planta, por lo que se necesita otra estrategia de conservación. La estrategia fundamental en la conservación del forraje mediante ensilado es la exclusión de oxígeno de la masa del forraje y reducir el pH rápidamente a través de la fermentación bacteriana (Pitt, 1990).

Figura 2.1.- Efecto del contenido en humedad del forraje sobre la actividad microbiana y enzimática



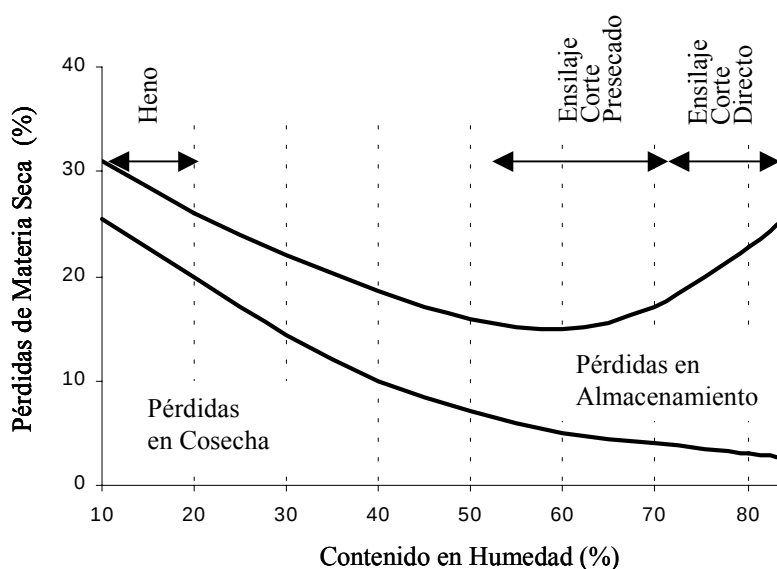
Fuente: Pitt, (1990)

Cada paso en el proceso de conservación (siega, hilerado, volteo, picado, empacado, almacenamiento, descarga del silo y distribución a los animales) causa pérdidas de

materia seca del forraje. . Puesto que estas pérdidas representan la fracción más digestible de la hierba (McDonald *et al.*, 1991), la reducción en valor nutricional del producto suele ser considerable cuando las pérdidas de MS son elevadas.

Como se muestra en la Figura 2.2., las pérdidas totales de materia seca se encuentran habitualmente en el rango 15-30%. Mientras que en las operaciones de henificado la mayor parte de las pérdidas son atribuibles a la manipulación mecánica y a la exposición del forraje a los agentes meteorológicos, en el ensilado la mayor parte de las pérdidas se derivan de los procesos biológicos que tienen lugar durante el almacenamiento y posterior utilización del ensilaje (Hoglund 1964). Sin embargo la pérdidas en la práctica pueden situarse a niveles superiores, como ocurre en el caso de ensilajes realizados con hierba de alta humedad.

Figura 2.2. Pérdidas de materia seca durante la cosecha y el almacenamiento en función del contenido en humedad del forraje en el momento de recolección



Fuente: Hoglund (1964)

Resultados del proyecto INIA SC97072 (Flores *et al.*, 2000b) indican pérdidas de materia seca cercanas al 33% del total ensilado en silos trinchera de 20-30 t a lo largo del período de almacenamiento y utilización del ensilaje cuando el contenido en MS de la hierba era del 16%. El incremento de materia seca del forraje permitió reducir estas pérdidas, que se situaron en valores medios cercanos al 20% cuando la humedad natural del forraje

ensilado por corte directo se situaba alrededor del 78%. En estas condiciones la realización del presecado de la hierba desde el citado valor del 22% MS a niveles del 29-30% MS, indujo una ulterior reducción de las pérdidas en el almacenamiento y utilización a valores próximos al 16%. Sin embargo dicha ventaja a favor del presecado se vio prácticamente anulada por las pérdidas registradas durante el secado en el campo, estimadas aproximadamente en un 4% adicional. Esto viene a confirmar parcialmente los resultados del proyecto europeo Eurowilt (Zimmer y Wilkins, 1984) donde se obtuvieron valores medios de 2,5 y 8,6% para las pérdidas de campo, y 16,1 y 8,5% para las pérdidas en el silo referidas a ensilajes realizados por corte directo y presecado, respectivamente, con el que ascienden a 18,6 y 17,1 % las pérdidas totales medias de estas dos formas de ensilado. McGechan, (1990) amplía el rango del nivel de pérdidas, situándolo en la práctica entre el 10 y el 50% de la materia seca ensilada, dependiendo del tipo de forraje cosechado y la técnica empleada en los procesos de ensilado, carga y compactación del forraje en el silo, características del silo, estanqueidad de la cubierta y modo de utilización del ensilaje una vez abierto el silo, advirtiendo que, en casos extremos, puede llegarse a la pérdida total de la cosecha.

En la Tabla 2.9., tomada de Zimmer (1980), se detallan las pérdidas energéticas durante el proceso de ensilado con relación a la energía aportada por el forraje en pie, antes de la recolección, relacionándolas con el factor causal.

Tabla 2.9.- Pérdidas energéticas durante el proceso de ensilado y sus causas

Proceso	Clasificada como	Pérdidas (% total)	Factor causal
Respiración residual en el silo	Inevitable	1-2	Enzimas de la planta
Fermentación en el silo.	Inevitable	2-4	Microorganismos
Efluente o Pérdidas en el campo por presecado	Mutuamente inevitables	5 a >7 2 a >5	Humedad del forraje, meteorología, técnica, manejo, recolección
Fermentación secundaria (clostrídica)	Evitable	0 a >5	Humedad del forraje, contenido en azúcares, poder tampón, caída de pH
Deterioro aeróbico:			
• Antes de la apertura del silo	Evitable	0 a >10	Densidad, tipo de silo, calidad del sellado, tipo de recolección
• Después de la apertura del silo	Evitable	0 a >15	Además de las anteriores, técnica de desensilado, estación del año
Total pérdidas		7 a >40	

Fuente: Zimmer (1980)

Una de las circunstancias que pueden incrementar notablemente las pérdidas de materia seca, no detallada en el cuadro anterior, es la acción de la lluvia sobre la hierba segada en el campo, en el que suele permanecer el forraje durante un período más o menos extenso hasta ser recogido por la cosechadora. En el caso de pretender hacer presecado, las pérdidas ocasionadas por la lluvia pueden ser muy elevadas, como se refleja la Tabla 2.10, donde se comparan las pérdidas totales de materia seca en la obtención de ensilaje con las del heno. Es necesario destacar que el forraje alcanzado por la lluvia presenta los niveles de pérdidas subsiguientes (esparcido, volteo, hilerado), situadas en el extremo superior del estrato correspondiente. Si para el caso de ensilajes realizados en condiciones "normales", se asumen valores de pérdidas totales de materia seca (respecto de la producción total en pie en la parcela, antes de la recogida) en el rango 20-30% (Pitt, 1990), en el caso de que una lluvia intensa afecte a la hierba segada es fácil alcanzar valores de pérdidas totales del 40-50%, pudiendo llegarse en casos extremos de lluvia persistente a la pérdida total de la cosecha.

Tabla 2.10.- Pérdidas de materia seca en la realización de ensilado y heno de hierba de pradera

Tipo de pérdidas		Pérdidas de Materia Seca (%)	
		Rango	Normal
Respiración ¹		2-8	5
Efecto de la lluvia ²	5 mm	1-3	2
	25 mm	4-14	8
	50 mm	8-27	15
Siega/Acondicionado		1-2	1
Esparcido		1-3	1
Volteo		1-3	1
Hilerado		1-20	5
Empacado del heno	Pacas cuadradas, pequeñas	2-6	4
	Pacas redondas	3-9	6
Cosecha de hierba para ensilar con máquina picadora		1-8	3
Almacenamiento de heno (en pajar, bajo cubierta)		3-9	5
Almacenamiento en el silo (tipo bunker)		10-16	12

¹ incluye pérdidas por respiración de la planta y por la acción microbiana para hierba dejada en el campo con buen tiempo.

² incluye pérdida de hojas, lixiviado de nutrientes y acción microbiana resultantes del daño por lluvia

Fuente: Rotz y Muck, (1994)

Otro aspecto importante relacionado con el nivel de humedad del forraje es la producción de efluente, que aumenta con la presencia de lluvia en las operaciones de ensilado, no sólo por las pérdidas de materia seca y energía a que antes se aludió, sino por el riesgo medioambiental que conlleva su producción debido a su elevado poder contaminante.

Spillane y O'Shea (1973) compararon la demanda biológica de oxígeno (DBO) de varios productos generados en las explotaciones ganaderas y demostraron que el efluente del ensilaje es de los contaminantes potencialmente más poderosos que pueden alcanzar a los cursos de agua, como se indica en la Tabla 2.11. A este respecto Clarke y Stone (1995) advierten que un litro de efluente que alcanza un curso de agua puede bajar el contenido en oxígeno de 10 m³ de agua a un nivel crítico para la vida de la fauna piscícola existente.

Tabla 2.11.- Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) de algunos productos generados en explotaciones ganaderas

	DBO (mg O ₂ /litro)
Efluente de ensilaje	90 000
Purín de cerdo	35 000
Orina de vacuno	19 000
Purín de vacuno	5 000
Aguas residuales domésticas	500

Fuente: Spillane y O'Shea (1973)

En la Tabla 2.12. se reflejan algunas regresiones que permiten estimar el efecto de la humedad del forraje sobre la producción total de efluente y el consiguiente nivel de pérdidas de MS (% sobre el total ensilado) por este concepto.

Tabla 2.12.- Relación entre el contenido en materia seca del forraje, producción de efluente durante el ensilaje y pérdidas de materia seca por efluente

Ecuación de regresión	Nivel de MS (%) mínimo para evitar efluente	Referencia
P (%pérdidas MS en efluente)= 17,614 – 0,538 x MS(%)	32,7	Miller y Clifton (1965)
Vs= 669,4 – 22,4 x MS(%)	29,9	Sutter (1957)

MS = materia seca

Vs = volumen de efluente producido (litros t⁻¹ de forraje ensilado)

En una revisión sobre la producción de efluentes de ensilaje en las explotaciones gallegas, Flores (2000) concluía que el vertido habitual de los mismos al terreno sin ningún tipo de control constituye un método de eliminación, potencialmente peligroso y prohibido en la mayor parte de los países europeos occidentales, que debe ser revisado. Dado que la forma más usual en estos países de eliminación de efluentes es su distribución como abono al terreno, mezclado con el purín, se requiere la adaptación de las instalaciones existentes en las explotaciones gallegas (silos y conducciones a las fosas).

2.3. Aptitud de los forrajes para ensilar (Ensilabilidad).

La ensilabilidad de una planta está relacionada con su contenido en azúcares (carbohidratos solubles en agua, CSA), poder tampón y su contenido en materia seca. Weissbach *et al.*, (1974) establecieron una correspondencia entre estos tres factores, para ensilajes de hierba picados finamente, mediante la siguiente ecuación: $Y=450-80X$, donde X es la relación entre el contenido en azúcares solubles (g kg^{-1} MS) y el poder tampón ($\text{g de ácido láctico kg}^{-1}$ MS); e Y es el contenido en materia seca (g kg^{-1}) mínimo requerido para evitar el desarrollo de las bacteria butíricas. Muck *et al.*, (1991) indican que el poder tampón está fuertemente correlacionado con el contenido en proteína bruta. Por su parte, Braithwaite, (1987) concluye que el factor más importante que determina el grado de degradación de la proteína en el silo es la relación CSA/N de la cosecha fresca, indicando que para valores del citado ratio inferiores a 6, es necesario el empleo de aditivos eficaces para garantizar una correcta fermentación.

Según Demarquilly (1986), un contenido en carbohidratos solubles igual o superior al 12-13% MS sería adecuado para obtener una buena calidad de fermentación de ensilajes cosechados por corte directo. Por su parte, Chamberlain y Wilkinson (1996) indican que, como regla general, se necesita una concentración de CSA en torno al 3% del peso fresco para reducir el riesgo de mala fermentación. En el caso de la planta entera de maíz, como se comentó anteriormente, parece suficiente un contenido del 6-8% MS para garantizar una correcta fermentación cuando la planta se cosecha, como es usual, con más del 27% de materia seca (Mahanna, 1996). Los factores que condicionan de forma más marcada la concentración de azúcares solubles en la planta pueden resumirse como sigue:

- a) Especie vegetal: Las gramíneas contienen más azúcares solubles, por lo general, comparadas con las leguminosas (Demarquilly, 1986; McDonald *et al.*, 1991; Wilson y Collins, 1980). Según estos autores, dentro de las gramíneas, los raigrases y el dactilo muestran los valores máximo y mínimo, respectivamente.
- b) Las condiciones climáticas afectan al balance entre fotosíntesis y consumo de azúcares por el metabolismo de la planta, habiendo sido descrito por Deinum (1966) el efecto de la insolación, temperatura y disponibilidad de agua sobre los contenidos en materia seca y carbohidratos solubles del forraje. Una intensidad

luminosa elevada incrementa tanto el contenido en MS como en CSA; las altas temperaturas incrementan el contenido en MS y reducen la concentración de CSA, mientras que una mayor disponibilidad de agua para la planta tiende a reducir ambos contenidos. Berthiaume *et al.*, (1998) indican que las condiciones climáticas son el factor responsable de las mayores variaciones en el contenido en azúcares solubles de las forrajeras pratenses. Temperaturas frías por la noche y una alta insolación durante el día permiten maximizar el contenido en azúcares solubles en las gramíneas y leguminosas. Esto explica porqué el contenido en azúcares es consistentemente más bajo en el segundo corte comparado con el primero. Estos autores observaron que las temperaturas cercanas al punto de congelación hacen aumentar los azúcares de forma espectacular, habiendo notado incrementos de hasta 7 unidades para el dactilo cuando la temperatura mínima de la noche anterior a la cosecha había llegado a -2°C .

- c) En general, un incremento de la fertilización nitrogenada disminuye el contenido en azúcares solubles (O'Kiely, 1991; O'Kiely *et al.*, 1997), mientras que el aporte de P o K ejerce un escaso efecto sobre la ensilabilidad de la cosecha (O'Kiely y Tunney, 1997; Keady y O'Kiely, 1996).
- d) Estado de madurez. Para las gramíneas, los azúcares solubles aumentan con la madurez de la planta hasta el estado de pleno espigado, disminuyendo a continuación. Para las leguminosas, el contenido permanece relativamente constante, si bien aumentan ligeramente en el estado de botón floral, para disminuir posteriormente en el estado de plena floración (Smith, 1973).
- e) Presecado: Los azúcares solubles disminuyen durante el presecado a causa de la respiración de la planta. Las condiciones climáticas durante la permanencia del forraje en el campo mediatizan este efecto. Así, el secado con buen tiempo puede no reducir de forma importante el contenido de azúcares o incluso aumentarlo, mientras que el secado con tiempo nublado y cálido puede reducirlo notablemente.

En la Tabla 2.13. se muestran los contenidos en MS, CSA y poder tampón de algunas gramíneas y leguminosas pratenses y de planta entera de maíz antes de ser ensiladas Demarquilly, (1986). Por su facilidad para ensilar, de mayor a menor las diferentes especies se agruparían de la siguiente forma: Maíz > Raigrás italiano > Raigrás inglés >

Festuca > Dactilo > Trébol violeta > Alfalfa, lo cual coincide con lo descrito por Chamberlain y Wilkinson, (1996).

Tabla 2.13.- Variación de los contenidos en materia seca, carbohidratos solubles (CSA) y el poder tampón de algunas leguminosas y gramíneas en el momento de cosecha óptimo del primer ciclo de vegetación

Especie	Estado de cosecha	Materia Seca %	CSA (%MS)	Poder tampón ⁽¹⁾
Alfalfa	Comienzo floración	17 (16-18)	7 (4-10)	150 (120-180)
Trébol violeta	Floración	14 (11-17)	10 (8-12)	-
Raigrás inglés	Comienzo espigado	18 (14-23)	15 (12-20)	90 (70-105)
Raigrás italiano	Comienzo espigado	18 (14-20)	17 (15-20)	95 (75-115)
Dactilo	Comienzo espigado	17 (15-19)	8 (5-10)	85 (70-95)
Festuca elevada	Comienzo espigado	19 (16-22)	10 (8-12)	80 (70-90)
Maíz	Comienzo estado vítreo	32 (30-35)	10 (7-12)	50 (45-55)

⁽¹⁾ mg de ácido láctico para bajar a 4.0 el pH de un g de materia seca de forraje seco y molido

Fuente: Demarquilly, (1986)

2.4. El proceso de ensilado

Los objetivos de la técnica de ensilado no han cambiado, básicamente, desde que fueron definidos por A. Virtanen (1933) en el primer tercio del siglo pasado, quien los sintetizó en: a) conservar el forraje con un mínimo de pérdidas y b) obtener un producto de alto valor nutricional.

Esquemáticamente, el ensilado se realiza esquemáticamente como sigue: Tras la siega, el forraje cosechado es trasladado a un silo, es decir el receptáculo donde se almacena el forraje. Los tipos más comunes, para el forraje recogido con cosechadoras o autocargadores son tipo almiar sin paredes y tipo bunker o trinchera con dos o tres paredes de hormigón. En la confección de este tipo de ensilado, el forraje es compactado a medida que se realiza el llenado del silo por rodadas sucesivas con tractor, realizándose su sellado con una o dos láminas de plástico. En el caso de la recogida del forraje con rotoempacadora, las balas cilíndricas de forraje son compactadas dentro de la máquina y el sellado se realiza mediante bolsas de plástico o lámina extensible de plástico encintada a su alrededor.

Inmediatamente tras la cosecha, los cambios bioquímicos más importantes que sufre el forraje son debidos a la actividad de las enzimas de la planta. Por una parte, en condiciones aeróbicas las enzimas respiratorias oxidan los azúcares y reducen la cantidad

de sustrato disponible para la fermentación en el silo y, por otra, las proteasas de la planta incrementan el contenido en nitrógeno no proteico (NNP) del forraje desde valores iniciales de aproximadamente el 20% del N total a cerca del 40% en un período de 12 a 24 h (McDonald, 1979). Durante el presecado del forraje en el campo la degradación proteica continúa, no cesando hasta que la materia seca de la planta alcanza valores del 40-45% (McDonald *et al.*, 1991). La permanencia de la hierba en el campo con malas condiciones meteorológicas causa una marcada aceleración de la proteólisis (Carpintero *et al.*, 1980). Los productos finales de dicho proceso son fundamentalmente péptidos y aminoácidos, si bien pueden formarse pequeñas cantidades de amoníaco ya que la actividad enzimática de la planta puede provocar la desaminación de algunos aminoácidos. En el ensilado final, la concentración de NNP puede representar hasta el 80% de N total (Papadopoulos y McKersie, 1983; Albrecht y Muck, 1991).

Los principios básicos de conservación mediante ensilado son el descenso rápido del pH de la masa de forraje mediante la fermentación láctica y el mantenimiento de las condiciones de anaerobiosis (McDonald *et al.*, 1991). Siguiendo a Pitt, (1990), el proceso de ensilado puede ser dividido en cuatro fases :

- i) La primera fase se caracteriza por la presencia de oxígeno después de que el forraje picado se compacte en el silo. La respiración de la planta continúa durante horas (o quizás días si el forraje está poco prensado), y las enzimas de la planta permanecen activas hasta que el oxígeno se agota. Durante esta fase, el exceso de oxígeno puede provocar una extensa degradación proteica, una indeseable elevación de la temperatura y crecimiento de levaduras, hongos y bacterias aerobias. La elevación de temperatura en el interior del silo por encima de los 35 °C conduce a la formación de compuestos de Maillard, mediante reacciones de caramelización en las cuales las proteínas y aminoácidos del forraje se combinan con los azúcares para formar un polímero indigestible, de comportamiento semejante a la lignina (Van Soest, 1982), lo que reduce la digestibilidad del forraje y su valor nitrogenado. La proliferación de microorganismos aerobios en el material ensilado ejerce un efecto negativo sobre la estabilidad aeróbica del ensilaje una vez abierto el silo para su consumo (Woolford, 1984). Los efectos negativos del oxígeno en esta primera

fase del ensilado puede ser minimizado por el rendimiento elevado en las labores de cosecha y llenado del silo, el picado del forraje, la compactación adecuada y el uso de silos con paredes de obra de fábrica.

- ii) La segunda fase, llamada fermentativa o de acidificación, comienza cuando se han alcanzado las condiciones de anaerobiosis, y continúa desde unas pocas semanas hasta varios meses, dependiendo de las características de la cosecha y de las condiciones de ensilado. Durante esta fase, diferentes grupos de microorganismos capaces de crecer anaeróbicamente (bacterias lácticas, enterobacterias, clostridios y levaduras), compiten por los nutrientes disponibles. En ensilajes finalmente bien conservados, las bacterias lácticas dominan rápidamente la fermentación, provocando una acusada caída del pH debido a la acumulación de ácido láctico y, en menor medida, ácido acético formado a partir de los azúcares de la planta (principalmente glucosa, fructosa y sacarosa).
- iii) La tercera fase, llamada de estabilidad o almacenamiento, dura desde varias semanas a más de un año. En la medida que el pH sea suficientemente bajo, y la penetración de aire no exista, no ocurren grandes cambios en este período. El número de microorganismos viables decrece en esta fase. Algunos microorganismos ácido-tolerantes (por ejemplo, determinadas especies de levaduras) sobreviven en un estado de relativa inactividad mientras otros, como los clostridios y bacilos sobreviven como esporas. Otros microorganismos especializados, como el *Lactobacillus buchneri*, continúan activos a un cierto nivel (Driehuis *et al.*, 1999). Durante la segunda y tercera fases, las reacciones de desaminación y decarboxilación por enzimas de origen microbiano pueden llegar a ser de importancia, continuando la acción proteolítica de las enzimas de la planta, por lo que una parte substancial de la fracción proteica del forraje es degradada a péptidos, aminoácidos, aminas y amoníaco (Oshima y McDonald, 1978).
- iv) La cuarta fase, de alimentación o de deterioro aeróbico, comienza cuando el ensilaje es expuesto al aire, lo cual es inevitable una vez que el silo ha sido abierto para su utilización. Sin embargo, con frecuencia comienza antes, debido a un sellado deficiente o a daños mecánicos en la cubierta y porque, en

la práctica, el plástico no es completamente impermeable a la entrada de oxígeno. El grado de penetración del aire dentro del material ensilado es, fundamentalmente, función de la porosidad y densidad del ensilaje, del gradiente de presión en el silo y de la velocidad de consumo del ensilaje (Honig, 1991). El proceso de deterioro aeróbico es iniciado por levaduras ácido-tolerantes y, en el caso de ensilajes de maíz, ocasionalmente por bacterias acéticas. Estos microorganismos son capaces de oxidar los ácidos que conservan el ensilaje. Cuando esto sucede, el pH aumenta y otros microorganismos comienzan a proliferar en la masa de forraje (Woolford, 1990).

En la Tabla 2.14. se indican los criterios de apreciación de la calidad de conservación de los ensilajes según Dulphy y Demarquilly, (1981) para diversas plantas forrajeras.

Tabla 2.14.- Criterios de calidad fermentativa para diferentes plantas forrajeras en función de los productos de fermentación del ensilaje

Clase	AGV ⁽¹⁾ mmol kg ⁻¹ MS	Ácido Acético %MS	Ácido Butírico % MS	N amoniacal (% N total)			N soluble (% N total)
				Maíz	Alfalfa	Otras plantas	
Excelente	<330	<2.0	0	<5	<8	<7	<50
Buena	330-660	2.0-4.0	<0.5	5-10	8-12	7-10	50-60
Mediocre	660-1000	4.0-5.5	>0.5	10-15	12-15	10-15	60-70
Mala	1000-1330	5.5-7.5	>0.5	15-20	15-20	15-20	>65
Muy mala	>1330	>7.5	>0.5	>20	>20	>20	>75

⁽¹⁾ Ácidos Grasos Volátiles

Fuente: Dulphy y Demarquilly, (1981)

Debe ser tenido en cuenta, además, el contenido en materia seca del ensilaje para juzgar acerca de la calidad de fermentación, dado que como se comentó anteriormente, dicho parámetro influye sobre el nivel de acidez crítica que garantiza una correcta calidad de fermentación. Diversos autores han relacionado un valor de pH, llamado de “estabilidad” con el contenido en MS del forraje (Dulphy y Demarquilly, 1981; Peyraud, 1989), sugiriendo que valores del pH medido en el laboratorio iguales o inferiores al pH de estabilidad serían indicativos de ensilajes correctamente fermentados. A este respecto Haigh (1987), en un estudio realizado sobre la calidad de conservación de ensilajes de hierba en explotaciones ganaderas de Gales (Reino Unido) propone la siguiente ecuación

para estimar el pH de estabilidad (pHe) de un ensilaje: $pHe = 0.0359MS + 3.44$, donde MS es el contenido en materia seca del ensilaje (%), determinada en estufa de aire forzado.

Debe recordarse que una vez que el ensilaje alcanza la fase de estabilidad en el período de almacenamiento, esto no implica que la masa de forraje convenientemente acidificada sea un biosistema “estático” o totalmente predecible (Mahanna, 1994). Antes bien, el ensilaje se encuentra siempre en un estado dinámico dependiendo de: 1) el grado de penetración de aire; 2) nivel residual de substratos fermentables; 3) número y tipo de microorganismos aerobios (levaduras, hongos y bacterias); 4) concentración y tipos de ácidos de fermentación presentes en el ensilaje y 5) manejo del frente del silo durante los procesos de aprovechamiento del ensilaje para la alimentación animal.

2.4.1. La microflora del ensilado

La microflora del ensilado juega un papel central en el éxito del proceso de conservación. La flora puede ser dividida básicamente en dos grupos, los organismos deseables y los indeseables. Los primeros son las bacterias productoras de ácido láctico. El segundo grupo está constituido por los microorganismos implicados en los procesos de deterioro anaeróbico (clostridios y enterobacterias) y en el deterioro aeróbico (levaduras, hongos y listeria). Muchos de estos microorganismos no solamente disminuyen el valor nutricional del ensilaje sino que pueden tener un efecto negativo en la calidad de la leche y la salud animal y humana (Driehuis *et al.*, 2000).

Bacterias lácticas

Las bacterias productoras de ácido láctico pertenecen a la microflora epifita del material vegetal. Entre los factores que influyen en la dominancia de las bacterias lácticas durante la fermentación se pueden citar las características relacionadas con la ensilabilidad del forraje y las propias de la flora láctica, como la velocidad potencial de crecimiento, tolerancia al ácido, osmotolerancia y capacidad de utilización del substrato. Las bacterias lácticas comúnmente asociada con el ensilaje pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* y *Enterococcus* (McDonald *et al.*, 1991). La mayoría de las bacterias lácticas tienen un óptimo de crecimiento en el rango de temperaturas mesofílicas (20 a 40 °C), con un óptimo alrededor de 30 °C. Una característica de las bacterias lácticas

es su capacidad de tolerar altas concentraciones de ácido, siendo capaces de bajar el pH hasta valores de 4-5, dependiendo de la especie y del tipo de forraje. Todas las bacterias lácticas son aerobias facultativas, pero algunas tienen preferencia por las condiciones de anaerobiosis. En base al metabolismo de los azúcares, las especies de bacterias lácticas se pueden clasificar como homofermentativas obligadas, heterofermentativas facultativas y heterofermentativas obligadas. Las especies homofermentativas obligadas (p. ej.: *L. acidophilus*, *Pediococcus damnosus*) producen más del 85% del ácido láctico a partir de hexosas como la glucosa, pero son incapaces de fermentar pentosas como la xilosa. Los heterofermentativos facultativos (p. ej.: *L. plantarum*, *L. casei*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* y *Enterococcus faecium*) también producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero adicionalmente son capaces de fermentar algunas pentosas a ácidos láctico y acético y/o etanol. Las especies heterofermentativas obligada (p. ej.: *L. brevis*, *L. buchneri* y *Leuconostoc mesenteroides*) utilizan tanto hexosas como pentosas pero a diferencia de las homofermentativas producen cantidades equimolares de ácido láctico, acético o etanol, y CO₂ a partir de las hexosas.

Enterobacterias

Algunas especies bacterianas de la familia *Enterobacteriae*, anaerobios facultativos, pertenecen a la microflora epifita de la mayoría de los forrajes. *Erwinia herbícola* y *Rahnella aquitilis* frecuentemente dominan en la planta fresca, pero tras el ensilado estas especies son rápidamente substituidas por otras, como *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* y *Serratia fonticola* (Heron *et al.*, 1993). La especie más importante del grupo desde el punto de vista del riesgo para la salud es *E. coli*, cuya presencia en el forraje se debe a contaminación de origen fecal (purines y estiércoles, fundamentalmente). Durante las primeras fases de la fermentación, las enterobacterias compiten con las bacterias lácticas por los nutrientes. Aquellas poseen débiles propiedades proteolíticas y son capaces de desaminar y decarboxilar algunos aminoácidos. Estas actividades contribuyen a la formación de aminas biogénicas en el ensilaje (Oshima y McDonald, 1978). Estas aminas son compuestos tóxicos que ejercen un efecto adverso sobre la palatabilidad y la ingestibilidad del forraje ensilado (Van Os *et al.*, 1997). Sin embargo la microflora ruminal es capaz de degradar estas aminas (Van Os *et al.*, 1995), lo que podría explicar porqué animales previamente adaptados a una dieta elevada de aminas no sufren depresión en la ingesta diaria de materia seca.

Una característica especial de las enterobacterias es su capacidad de reducir el nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-), y el nitrito a amoníaco, óxido nitroso (N_2O) y óxido nítrico (NO) (Spoelstra, 1985). En presencia de aire el óxido nítrico es oxidado a una mezcla de óxidos de nitrógeno gaseosos (NO_2 , N_2O_3 , y N_2O_4), a veces visibles como un gas amarillo-marrón que escapa del silo. Kemp *et al.*, (1977) demostraron en sus ensayos que vacas alimentadas con forraje fresco, ensilado y heno que contenidos en nitrato de 3-4 g por 100 kg de peso vivo administrados en una sola toma no producían efectos adversos, mientras que 15 g causaban un incremento del 50% del contenido normal en metahemoglobina de la sangre, con efectos letales sobre los animales.

Estos gases y ácidos pueden causar irritación respiratoria a causa de sus efectos dañinos en el tejido pulmonar. En humanos esto puede causar una enfermedad con síntomas semejantes a una pulmonía, llamada “la enfermedad del llenador de silos” (silo-filler’s disease), descrita inicialmente por Lowry y Schumann, (1956), cuya posible incidencia es de gran importancia en el caso de silos herméticos tipo torre, en particular cuando la descarga del forraje se realiza en ambientes confinados. Sin embargo en los silos confeccionados al aire libre, tipo almiar, bunker o trinchera, el problema para los manipuladores es mucho menor, dada la baja concentración de los gases tóxicos en el ambiente. En cualquier caso, la probabilidad de formación de estos óxidos durante el ensilado es reducida si el pH del material ensilado cae rápidamente a 4.0 (Spoelstra, 1985).

La reacción de aminas secundarias con ácido nitroso forma nitrosaminas de las cuales algunas son carcinogénicas. Como se dijo anteriormente, las aminas secundarias son formadas durante la degradación de proteínas, mientras que el ácido nitroso es un paso intermedio de la reducción del nitrato, o puede ser liberado del nitrito sódico, el cual es un componente de algunos aditivos comerciales. No obstante, en vacas alimentadas con ensilajes donde se habían detectado nitrosaminas en cantidades de 3000 a 34000 ppb no se pudo comprobar la transferencia de dichos productos a la leche (Terplan *et al.*, 1978).

A pesar de los problemas anteriormente mencionados, una moderada reducción del nitrato es considerada beneficiosa para la calidad del ensilado, a causa de que el nitrito y óxido

nítrico formados son efectivos inhibidores del crecimiento de los clostridios (Spoelstra, 1985).

La mayor parte de las enterobacterias no proliferan y su viabilidad decrece a valores de pH inferiores a 4.5-5.0, por lo que un descenso rápido del pH a valores bajos disminuye la presencia y actividad de las enterobacterias en el ensilaje. Sin embargo, la presencia de oxígeno prolonga su supervivencia en el silo (Courtin y Spoelstra, 1990). Las enterobacterias que sobreviven pueden reanudar su crecimiento y alcanzar valores de más de 10^8 unidades formadoras de colonias g^{-1} de materia fresca cuando el pH se incrementa en la fase de deterioro aeróbico.

Clostridios

Las bacterias del género *Clostridium* se encuentran en muchos ecosistemas anaeróbicos. Muchas especies de estas bacterias (anaerobias obligadas y formadoras de esporas) pueden fermentar carbohidratos y proteínas. Las especies de *Clostridium* típicamente asociados con el ensilaje son *C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes* y *C. bifermentans* (McDonald *et al.*, 1991) Las primeras dos especies son débilmente proteolíticas, mientras las dos últimas son altamente proteolíticas. La degradación de proteínas y aminoácidos por los clostridios da lugar a productos que ejercen un efecto negativo sobre el valor nutritivo (p. ej.: aminos biogénicas).

La especie más estudiada es el *C. tyrobutyricum*. Esta especie ácido-tolerante se caracteriza por su capacidad de fermentar el lactato a ácido butírico, H_2 y CO_2 . Cuando su crecimiento es alto en el ensilaje, se produce un incremento del pH y el subsiguiente crecimiento de clostridios menos tolerantes al ácido y otros microorganismos putrefactivos. Las esporas de clostridios pueden sobrevivir el tránsito por el tracto digestivo de la vaca de leche. Las esporas pueden ser transferidas a la leche por vía fecal, principalmente a través de la contaminación de la ubre, causando un deterioro en su calidad. Para la industria láctea, *C. tyrobutyricum* es la especie más relevante, ya que su capacidad de metabolizar el lactato no sólo pone en riesgo la conservación y calidad del ensilaje, sino la de los diferentes tipos de queso, siendo responsable del defecto llamado “hinchazón tardía” (late blowing) en quesos curados y semicurados (Goudkov y Sharpe, 1965).

Algunas especies de *Clostridium* son extremadamente patógenas para animales y humanos, siendo *C. botulinum* la causa del botulismo. Esta bacteria puede representar un riesgo sanitario para los animales alimentados con ensilado. Afortunadamente tiene un tolerancia limitada a la acidez y no crece bien en ensilaje bien fermentado. Sin embargo se ha referenciado la ocurrencia de botulismo animal causado por ensilaje contaminado con *C. botulinum* (Kehler y Scholz, 1996), aunque estos casos casi siempre podían ser atribuidos a la presencia de un cadáver (p. ej.: de un ratón o un pájaro) en el ensilaje.

Un ensilaje con fermentación típicamente clostrídica se caracteriza por alto pH y altos contenidos en ácido butírico, amoníaco y aminas. Un descenso rápido de pH a valores suficientemente bajos (proximidad de 4.0-4.2) de forma suficientemente rápida disminuye la posibilidad de crecimiento clostridiano en el silo. Otros factores importantes en la prevención del crecimiento de clostridios son la actividad de agua (a_w) y el contenido en nitrato del forraje. Greenhill (1964) indicó que a_w del jugo de la planta está relacionado con el contenido en materia seca del forraje, proponiendo la siguiente relación: $a_w = 1 - (c/m)$, donde a_w es la actividad de agua, medida en términos de presión de vapor relativa, m es el contenido en humedad expresado en g de agua por g de materia seca y c una constante, que oscila entre 0.02 y 0.04 para gramíneas (raigrás) y 0.03-0.05 para leguminosas (trébol y alfalfa). El pH crítico por debajo del cual los clostridios no crecen varía con el valor a_w de la planta, estableciendo Silliker *et al.*, (1980) que el crecimiento de los clostridios se ve inhibido para valores de a_w por debajo de 0.94. Por otra parte, puesto que los clostridios son más susceptibles a condiciones de baja actividad de agua que las bacterias lácticas, el descenso en el valor de a_w del forraje, por ejemplo incrementando el contenido en materia seca por presecado del mismo, es una forma de inhibir selectivamente los clostridios (Wieringa, 1958). Como se indicó anteriormente, en la masa del forraje ensilado el nitrato es parcialmente degradado a nitrito y óxido de nitrógeno, compuestos que son inhibidores de clostridios muy efectivos (Spoelstra, 1985). La susceptibilidad del ensilaje al desarrollo de clostridios depende del contenido en nitrato (Weissbach, 1996), el cual depende del uso de fertilizante nitrogenado en la cosecha.

Levaduras

Las levaduras son microorganismos eucarióticos, anaerobios facultativos. Las especies típicamente asociadas con el ensilaje son especies ácido-tolerantes, pertenecientes a los géneros *Cándida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* y *Torulopsis* (Middelhoven y van Baalen, 1988). Su actividad en el proceso de ensilado, en condiciones tanto anaeróbicas como aeróbicas, es considerada indeseable. En ausencia de oxígeno, las levaduras fermentan azúcares a etanol y CO₂. La producción de etanol no solamente disminuye el contenido en azúcares disponible para la fermentación láctica, sino que incrementa las pérdidas de materia seca y puede tener conferir sabores indeseables a la leche (Randby *et al.*, 1999). Bajo condiciones aerobias, las levaduras oxidan el ácido láctico, causando un incremento en el pH del ensilaje, lo cual dispara el crecimiento de muchos otros microorganismos potencialmente putrefactivos. Las levaduras están consideradas como el grupo más importante de microorganismos responsables de la iniciación de los procesos de deterioro aeróbico del ensilaje (Woolford, 1990).

Bacterias acéticas

Las bacterias productoras de ácido acético son aerobios obligados y ácido-tolerantes. Las especies asociadas con el ensilaje pertenecen al género *Acetobacter*, habiendo evidencias de que, al igual que las levaduras, pueden iniciar el deterioro aeróbico en ensilajes de planta entera de maíz (Spoelstra *et al.*, 1988), pero usualmente juegan un papel menor en este proceso. Se ha demostrado que la inhibición selectiva de las levaduras causa un incremento en la proliferación de las bacterias productoras de ácido acético (Driehuis y van Wikselaar, 1996).

Bacillus

Las bacterias del género *Bacillus* son microorganismos formadores de esporas, aerobios o anaerobios facultativos. Las especies típicamente asociadas con el ensilaje son *B. cereus*, *B. lentus*, *B. firmus*, *B. sphaericus*, *B. licheniformis* y *B. polymyxa* (Woolford, 1990)⁴². La presencia de estas especies en el ensilaje pueden tener un impacto negativo en la calidad de la leche, en particular para el caso de *B. cereus*, cuyas esporas contaminan la leche tras pasar a través del tracto alimentario de las vacas, de la misma forma que las esporas de *Clostridium*, pudiendo causar problemas alimentarios en humanos (Johnson, 1984). La proliferación de los *Bacillus* usualmente tiene lugar en los últimos estados de la

fase de deterioro aeróbico del ensilaje (Lindgren *et al.*, 1985), habiendo sido detectados grandes números de esporas de *Bacillus* en las capas más superficiales de ensilajes de maíz y hierba.

Listeria

Las bacterias del género *Listeria* son aeróbicas o anaerobias facultativas. Se ha detectado su presencia en grandes números en diferentes tipos de ensilajes, lo cual se relaciona con la ocurrencia de procesos de deterioro aeróbico. El ensilado en balas redondas (ya sea en bolsas o encintado con film estirable) parece ser particularmente sensible a la contaminación con listerias, lo cual se ha atribuido al mayor riesgo de entrada de aire en este tipo de silos comparado con el de silos tipo plataforma con paredes de hormigón (Fenlon *et al.*, 1989). No solamente han sido aisladas numerosas cepas de *Listeria* spp. de forrajes ensilados, particularmente en las capas más superficiales del silo, sino que el proceso de ensilado parece incrementar substancialmente la susceptibilidad de los animales a la infección. El mecanismo por el cual esto sucede no está suficientemente claro.

La especie *Listeria monocytogenes* es de particular importancia a causa de su capacidad patogénica para humanos y animales. La aparición de listeriosis en ovejas y cabras ha sido asociada con el consumo de ensilaje contaminado con *L. monocytogenes* (Wilesmith y Gitter, 1986; Wiedmann *et al.*, 1994). Adicionalmente, hay evidencias de que el ensilaje mal fermentado es una de las fuentes primarias de contaminación por *L. monocytogenes* (Sanaa *et al.*, 1993).

El crecimiento y supervivencia de las listerias en el ensilaje depende del grado de anaerobiosis y del pH. Cuando se añade *L. monocytogenes* al forraje antes de ensilar, esta bacteria desaparece rápidamente bajo condiciones de estricta anaerobiosis y a pH inferior a 4.4. Sin embargo, a una tensión de O₂ del 0.5% (v/v), la supervivencia se prolonga, siendo observado crecimiento incluso a pH 4.2. Mayor presencia de oxígeno estimula fuertemente el crecimiento de *L. monocytogenes* (Donald *et al.*, 1995). El posible desarrollo de este microorganismo en ensilajes gnotobióticos (ambiente microbiológico controlado) fue estudiado por Gouet *et al.*, (1977), observando que, cuando el ensilaje era de buena calidad no solamente no había desarrollo de *L. monocytogenes*, sino que el

inóculo inicial era rápidamente eliminado. Por su parte Gershun (1973) demostró que *L. monocytogenes* no sobrevivía más de cinco días en el extracto de ensilado de maíz fermentado correctamente, con pH 4.2, indicando que aquellas condiciones que reduzcan la acidez del ensilaje son favorables a la proliferación de listerias. En este sentido, Forsek y Aganovic (1967) indican que existe cierto número de hongos (p. ej. *Geotrichum candidum*) que tienen la capacidad de reducir la acidez del ensilaje debido a que utilizan el ácido láctico como sustrato y por lo tanto crean condiciones que favorecen el crecimiento de *L. monocytogenes*.

Hongos

Los hongos son microorganismos eucarióticos, usualmente aerobios. El principal problema potencial del ensilaje, desde el punto de vista higiénico se refiere a la presencia de poblaciones elevadas de hongos. El crecimiento de hongos en el ensilaje está usualmente restringido a las capas más superficiales y habitualmente es indicativo de un sellado y/o compactación deficiente. Adicionalmente, los hongos se desarrollan durante los estados más avanzados de deterioro aeróbico del ensilaje. Las especies más frecuentemente aisladas en este forraje pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssosclamyces*, *Absidia*, *Arthrrium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma* (McDonald *et al.*, 1991; Pelhate, 1977). Además del crecimiento de hongos durante el proceso de ensilado, los forrajes están sujetos durante su permanencia en el campo a infecciones por otras especies diferentes de hongos (*Alternaria*, *Cladosporium* y *Claviceps* entre otros géneros).

Los hongos no solamente causan una reducción en el valor nutritivo y la palatabilidad del ensilaje, sino que pueden tener un efecto negativo en la salud animal. Esto se relaciona con la capacidad de producir toxinas las cuales, dependiendo de su tipo y concentración del forraje, pueden causar problemas desde trastornos digestivos ligeros y menores problemas de fertilidad hasta una severa supresión de la respuesta inmunitaria o serios daños en riñones e hígado de los animales y abortos (Scudamore y Liversey, 1998).

2.4.2. Modificaciones de la composición química y valor nutritivo causadas por el ensilado

El valor como alimento del ensilaje refleja tanto las características relativas al contenido en nutrientes digestibles como la ingestibilidad del producto. Mientras que las primeras están condicionadas fundamentalmente, para una especie dada, por el estado de madurez en el momento de cosecha, la ingestibilidad del ensilaje refleja un amplio conjunto de efectos, que incluyen, además del estado de madurez de la planta, el tipo de fermentación que tuvo lugar en el silo (Mayne, 1992) .

Composición química La composición química del forraje, en general, se ve poco modificada por el ensilado. El contenido en materia seca del forraje ensilado es más elevada que la del forraje verde puesto en el silo cuando ésta es inferior al 23% (Michalet-Doreau y Demarquilly, 1981). Este aumento de la materia seca en el ensilaje se debe fundamentalmente a las pérdidas de efluente y depende, por tanto, de la materia seca inicial del forraje. Los anteriores autores señalan incrementos en el contenido de la materia seca del forraje de +2.8, +1.4 y 0% cuando la materia seca inicial es de 15.0, 19.0 y 23.0%, respectivamente. Las modificaciones en el contenido de cenizas y nitrógeno total provocadas por el proceso de ensilado son relativamente poco importantes cuando los correspondientes valores del ensilaje resultante se expresan sobre la base de la materia seca corregida por las pérdidas de volátiles que tienen lugar durante el proceso de secado en estufa (Dulphy y Demarquilly, 1981 ; Andrieu *et al.*, 1990; Demarquilly *et al.*, 1999). Sin embargo, el contenido en fibra suele verse afectado significativamente por el ensilado, debido al incremento pasivo provocado por pérdidas de materia seca no celulósica en el efluente o como gas durante la fermentación (Michalet-Doreau y Demarquilly, 1981). Los carbohidratos solubles, sin embargo, desaparecen casi totalmente durante el proceso de fermentación, siendo convertidos en ácidos de fermentación (láctico, ácidos grasos volátiles y alcohol), salvo en los casos de ensilajes muy presecados o preparados con la adición de cantidades elevadas de ácido fórmico ($>5 \text{ L t}^{-1}$ de forraje fresco), lo que induce un modelo de fermentación restringida (Demarquilly *et al.*, 1999).

El efecto del ensilado sobre la composición química del maíz se ejerce fundamentalmente sobre el contenido en carbohidratos solubles y la consiguiente producción de ácidos de fermentación, estando la intensidad de ésta inversamente correlacionada con el contenido en MS de la planta en la cosecha. Si no hay pérdidas de efluente (MS>27-29%), las variaciones en el valor energético de la cosecha son mínimas respecto al forraje original. La composición del ensilaje en proteína bruta, fibra, almidón y cenizas (expresados en porcentaje sobre MS corregida por pérdida de volátiles) es asimismo sensiblemente semejante a la de la planta fresca (Phipps y Wilkinson, 1985). En la Tabla 2.15. y 2.16. se muestran ejemplos de los cambios que se producen en la composición química de diferentes tipos de forraje debidas al proceso de ensilado.

Tabla 2.15.- Cambios en la composición química de tres tipos de forraje debidos al ensilado

	Pradera mixta		Alfalfa		Maíz	
	Fresca	Ensilada	Fresca	Ensilada	Fresco	Ensilado
Materia Seca (%)	20.9	25.8	35.4	35.0	29.4	29.0
pH	-	4.6	5.5	4.5	5.2	3.9
Proteína Bruta (%MS)	17.9	19.6	20.2	20.9	8.2	8.0
Nitrógeno Amoniacal (% N total)	2.9	8.0	3.0	11.9	5.5	8.0
Fibra Ácido Detergente (%MS)	34.0	40.4	34.2	36.4	24.5	24.5
Fibra Neutro Detergente (%MS)	45.3	52.8	44.0	43.1	45.5	45.3
Azúcares (%MS)	5.1	0.6	6.4	1.4	10.8	1.6
Ácido Láctico (%MS)	-	6.6	-	7.4	-	4.6
Total ácidos (%MS)	-	11.2	-	11.7	-	6.7

Fuente: Mahanna, (1994).

Tabla 2.16.- Cambios en la composición química y digestibilidad *in vivo* del raigrás inglés debidos al modo de ensilado

	Ensilajes			
	Fresco	Sin aditivo		Fórmico (3 L t ⁻¹)
		No presecado	Presecado	Presecado
MS (%)	17.5	18.6	31.6	33.6
pH	6.1	3.94	4.18	4.39
N total (%MS)	2.27	2.30	2.28	2.42
N proteico (% N total)	64.8	23.5	28.9	31.4
N-NH ₃ (% N total)	4.0	7.8	7.9	6.6
Azúcares (%MS)	14.0	1.0	4.7	15.1
Ácido Láctico (%MS)	-	10.2	5.9	4.3
Etanol (%MS)	-	1.2	6.4	6.1
DMO <i>in vivo</i> (%)	79.7	80.9	76.8	78.8

Fuente: Donaldson y Edwards (1976)

Energía Bruta

El contenido en energía bruta de los ensilajes es, en general, ligeramente superior a la que poseen los forrajes verdes a la entrada en el silo. Las fermentaciones anaerobias que tienen lugar en la masa del forraje, por ejemplo, la fermentación heteroláctica de la

glucosa y fructosa, o la fermentación butírica del ácido láctico dan lugar a determinados productos de fermentación con mayor contenido en energía bruta que los substratos de los que proceden, tal como se refleja en la Tabla 2.17., por lo que las pérdidas en materia seca son proporcionalmente superiores a las pérdidas en energía durante el proceso fermentativo (McDonald *et al.*, 1991).

Tabla 2.17. Valores de energía bruta (MJ kg⁻¹ MS) de algunos compuestos del forraje verde y ensilado

Compuesto	E. Bruta	Compuesto	E. Bruta	Compuesto	E. Bruta
Glucosa	15.64	Ácido Acético	14.60	Fibra Bruta	17.45
Fructosa	15.70	Ácido Butírico	24.93	Extracto Etéreo	38.53
Sacarosa	16.51	Ácido Láctico	15.16	Proteína	24.60
Almidón	17.70	Etanol	29.80	Ácido Cítrico	10.33
Celulosa	17.49	Manitol	16.73	Ácido Málico	10.00

Fuente: McDonald *et al.* (1991)

El rango de variación en el incremento de energía bruta ocasionada por el ensilado varía en función de las características del forraje en pie y la fermentación en el silo, indicando McDonald *et al.*, (1991) que el contenido en EB del ensilaje dependerá, para un forraje dado, de la intensidad y el tipo de fermentación que tiene lugar en el silo, las pérdidas de materia seca en el efluente y del contenido en EB del mismo. En un experimento con raigrás cuyo contenido en MS era del 16%, Henderson y McDonald (1975) obtuvieron valores de EB (MJ kg⁻¹ MS) de 18.1, 21.5 y 15.3 para el forraje verde, el ensilaje y el efluente, respectivamente. Para ensilajes de gramíneas bien conservados, McDonald y Edwards (1976) indican un incremento medio de entre 8.7 a 3.8 % en el contenido de EB debida al ensilado, con valores de 18.4, 20.0 y 19.1 MJ EB kg⁻¹ MS para el forraje verde, el ensilaje no presecado y presecado, respectivamente.

Digestibilidad

En la mayor parte de los estudios revisados, la digestibilidad del ensilado es igual o ligeramente inferior a la del forraje original (Harris y Raymond, 1963; Wilkins *et al.*, 1971). Sin embargo, Demarquilly *et al.*, (1998) indican que puede haber una importante disminución de la digestibilidad en el caso de ensilajes que hayan desarrollado una muy mala conservación (ensilajes más o menos putrefactos), o de forrajes ensilados con bajo contenido en materia seca, en razón a las importantes pérdidas de efluente, cuya materia seca contiene nutrientes altamente digestibles. En este sentido, Rogers *et al.*, (1979) señalan una importante caída de digestibilidad e incremento de la concentración de fibra

debida al ensilado para hierba de praderas de raigrás y trébol cuando el contenido en materia seca del forraje original era bajo, indicando valores medios de 75.8 y 68.8% para la digestibilidad de la materia seca; 29.7 y 35.3% MS para el contenido en fibra ácido detergente modificada y 13.7 y 15.7 % para el contenido en materia seca de la hierba y el ensilaje, respectivamente. Para la planta entera de maíz, cosechada con un contenido en materia seca superior al 25-27 %, la producción de efluente es nula, por lo que las diferencias de digestibilidad entre la planta en pie y el correspondiente ensilaje pueden considerarse despreciables (Andrieu, 1976; Andrieu *et al.*, 1993; Demarquilly, 1994).

El efecto del presecado de las forrajeras pratenses sobre la digestibilidad fue revisado por Marsh (1979), quien indican que, como media de 22 ensayos realizados con ensilaje, los valores medios de la digestibilidad de la materia seca fueron de 68.5 y 70.0% para los ensilajes presecado y de corte directo procedente del mismo forraje, respectivamente. Coincidiendo con esta opinión, Demarquilly *et al.*, (1998) señalan que el presecado del forraje conlleva una disminución de digestibilidad, cifrada por los citados autores en una unidad (% DMO) por día de permanencia en el campo, advirtiendo que, en caso de secado del forraje con climatología adversa, las pérdidas pueden ser muy superiores.

En una amplia revisión de 238 evaluaciones en las que se comparó la digestibilidad de forrajes verdes y ensilados, y cuyo resumen se muestra en la Tabla 2.18, Michalet-Doreau y Demarquilly, (1981) observaron que la disminución media de digestibilidad del ensilaje respecto de la del forraje fresco antes de ensilar es, de media, 0.7 unidades (%), si bien el rango de variación, dependiendo de la familia botánica y el modo de conservación es relativamente amplio, de +0.3 a -3.1 unidades, (%).

Tabla 2.18. Digestibilidad de forrajes verdes y de los ensilajes correspondientes

Forraje	Modo de conservación	n	Digestibilidad de la materia orgánica (%)	
			Forraje verde	Ensilaje
Gramíneas	Sin conservante	64	71±5	70±5
“	Con conservante eficaz	96	70±4	71±4
“	Con formol	24	72±4	70±5
“	Presecado	10	70±5	68±6
Alfalfa	Sin conservante	9	64±3	63±4
“	Con conservante eficaz	17	64±3	64±3
Trébol violeta	Con conservante eficaz	18	70±3	66±3

Fuente: Michalet-Doreau y Demarquilly, (1981)

Con las salvedades reseñadas, existe acuerdo en señalar la estrecha correlación existente, en general, entre las características de composición química y digestibilidad del ensilaje y las correspondientes al forraje verde original. En la Tabla 2.19. se muestran ecuaciones de predicción de composición química y digestibilidad del ensilaje a partir de las características del forraje verde.

Tabla 2.19. Ecuaciones de regresión entre composición química y digestibilidad de la materia orgánica (Y) de ensilajes y los valores del forraje en pie (X)

Forraje y Modo de conservación	Proteína bruta (%MS)	Fibra Bruta (%MS)	Digestibilidad de la materia orgánica (%)
Ensilaje de Gramíneas y de pastos permanentes ⁽¹⁾			
Corte directo (n=184)	$Y=1.61+0.8062X+0.0627MS$	$Y=12.49+0.766X-0.216MS$	$Y=6.0+0.92X$
Presecado (n=11)	$Y=.63+0.8594X$	$Y=3.1+0.935X$	$Y=4.0+0.92X$
Ensilaje de Alfalfa ⁽²⁾			
Corte directo (n=32)	$Y=2.84+0.7203X+0.0827MS$	$Y=10.49+0.713X$	$Y=5.0+0.92X$
Presecado (n=10)	$Y=.X$	$Y=11.19+0.657X$	$Y=3.0+0.92X$
Ensilaje de Trébol violeta ⁽²⁾			
Corte directo (n=18)	$Y=6.71+0.5094X+0.0864MS$	$Y=9.22+0.831X-0.1955MS$	$Y=3.0+0.92X$

MS: materia seca (%), corregida por pérdida de volátiles en estufa

⁽¹⁾ Picado fino, medio y largo; ⁽²⁾ Picado fino y medio.

Fuente: Demarquilly *et al.*, (1989)

Energía metabolizable

En vista del contenido relativamente alto en EB del ensilaje, cabe pensar que el contenido en energía metabolizable del mismo es superior al del forraje verde de partida, toda vez que no hay evidencia de que el proceso de ensilado ejerza una influencia substancial en las pérdidas de energía en forma de metano (McDonald *et al.*, 1991). Debe ser tenido en cuenta, sin embargo, que las pérdidas de energía en orina son usualmente más elevadas cuando los animales alimentados con ensilaje que cuando lo son con el correspondiente forraje verde (McDonald y Edwards, 1976), lo cual es atribuido fundamentalmente al aumento en la excreción de N derivada por una peor utilización del N del ensilaje en el rumen. En una evaluación de 32 ensilajes de gramíneas pratenses, Wainman *et al.*, (1978) indican que el porcentaje medio de pérdidas de EB en orina alcanzó el 4.8% (rango 2.5 a 7.3%) sobre el valor de EB total ingerida, siendo esta pérdida notablemente inferior a la observada por dichos autores para 16 ensilajes de maíz, la cual se redujo al 2.6% de la EB total.

McDonald y Edwards, (1976), como resultado de un ensayo donde se midió el contenido en EM de raigrás en verde y ensilado por diferentes métodos, concluyen que los ensilajes bien conservados, cosechados por corte directo (sin presecar) y que sufrieron una

fermentación natural (sin aplicación de aditivos inhibidores de la fermentación) es probable que presenten contenidos en energía metabolizable superiores a los del forraje de partida y a los de ensilajes presecados o ensilajes de fermentación restringida. Por su parte, Michalet-Doreau y Demarquilly (1981) concluyen que el ensilado no afecta o aumenta sólo ligeramente el contenido en EM de los forrajes cuando la digestibilidad de éstos no se ve afectada por el proceso de conservación, como es el caso de los ensilajes no presecados.

Valor nitrogenado

Como se comentó anteriormente, el mantenimiento de la calidad de los forrajes ensilados se ve limitada por la degradación proteica que ocurre durante la fermentación, lo cual es causa directa de una reducción del valor nutricional del ensilaje respecto de la del forraje original (McKersie, 1985; Charmley y Thomas, 1987; Albrecht y Muck, 1991). Aunque la concentración de nitrógeno amoniacal es tomada usualmente como criterio del nivel de degradación proteica, las reacciones de desaminación parecen ser más importantes que las de decarboxilación en la reducción del valor nutricional del ensilaje, por lo que el contenido en aminas y otros productos de decarboxilación serían un índice más adecuado para medir el valor nitrogenado del ensilaje (Thomas y Thomas, 1985). Por su parte Waldo (1985) concluyó que ensilajes que sufrieron una intensa degradación proteica durante su permanencia en el silo presentan baja ingestión y reducida eficiencia de utilización del N en el animal. Debe asimismo ser tenido en cuenta, como señala Tamminga, (1992), que la ineficiencia en el uso del N ingerido por los rumiantes, además de representar un coste económico extra en la cuenta de explotación, ejerce un impacto medioambiental potencialmente negativo debido a la excreción en la orina del N en exceso.

La degradación proteica en el silo está influenciada por diversos factores, incluyendo la especie forrajera (Papadopoulos y McKersie, 1983; Albrecht y Muck, 1991), pH (Brady, 1961; Finley *et al.*, 1980; Scalet *et al.*, 1984; McKersie, 1985), contenido en materia seca de la cosecha a la entrada en el silo (Carpintero *et al.*, 1979; Muck, 1987), y temperatura (Brady, 1961; Muck y Dickerson, 1988). El pH de ensilajes bien fermentados debe descender rápidamente por debajo de 4.5- 5.0 para mantener la calidad del forraje y limitar el alcance de la degradación proteica, puesto que la actividad de las proteasas de la

planta descende linealmente entre pH 6 y 4 (McKersie, 1985; Jones *et al.*, 1995). Las prácticas de manejo recomendadas para provocar una rápida caída del pH durante el ensilado incluyen el rápido llenado del silo, compactación adecuada, y un buen sellado (Muck, 1988).

La vaca en lactación, como el resto de los rumiantes, obtiene proteína de dos fuentes: i) o bien los compuestos nitrogenados del alimento son utilizados por las bacterias ruminales y protozoos para sintetizar proteína microbiana, o ii) las proteínas del alimento escapan de la acción de los microbios del rumen y son digeridas y absorbidas en el intestino delgado. Una substancial parte del suministro proteico de la vaca se deriva de la población microbiana del rumen. Incluso cuando la proporción de NPN de la dieta es baja, la proteína microbiana contribuye del 50 al 80% del N total que alcanza el intestino delgado. En un estudio de Teller *et al.* (1992) se observó que la proteína microbiana cubría del 84 al 92% de los requerimientos para la producción de leche. El perfil de los AA de la proteína microbiana es relativamente constante y de alto valor biológico. De hecho, la composición de la proteína microbiana es notablemente similar a la de la leche (Harrison *et al.*, 1994), por lo que, la maximización de la producción de proteína por los microbios del rumen es esencial.

En la práctica, la cantidad de proteína microbiana sintetizada en el rumen está limitada por el nivel de nitrógeno procedente de la degradación ruminal de la proteína de la dieta y por el de energía disponible para su crecimiento (AFRC, 1993; NRC 2001; Verité y Peyraud, 1989). En el caso de los ensilajes, la energía puesta a disposición de la microbiota ruminal es más baja que la correspondiente a los forrajes verdes o desecados, debido a que los ácidos de fermentación no son usados por los microorganismos del rumen como fuentes de energía, o sólo lo son en muy baja proporción (Chamberlain, 1987). Siguiendo la terminología del AFRC (1993), la energía disponible para el crecimiento microbiano se denomina “energía metabolizable efectiva” (EMF), y es calculada deduciendo de la energía metabolizable del alimento la energía bruta correspondiente a los ácidos de fermentación y a la grasa. Existe, por tanto, una relación directa entre el valor de EMF y la digestibilidad de los ensilajes y una relación inversa entre el valor de EMF y el contenido en ácidos de fermentación. Como indican Chamberlain y Wilkinson, (1996), los ensilajes que fermentaron intensamente en el silo

tienden a ser más húmedos y a tener elevadas concentraciones de ácidos totales y menores concentraciones de azúcares residuales (ratio EMF/EM bajo), mientras que los que sufrieron una fermentación restringida en el silo (en concreto, los ensilajes de hierba presecados) muestran menores concentraciones de ácidos y mayor contenido en azúcares (ratio EMF/EM más alto). En la Tabla 2.20. se muestra el efecto de utilizar dos ensilajes de la misma digestibilidad y contenido en proteína que difieren sólo en la relación entre EMF y la energía metabolizable en la formulación de la ración para vacas lecheras, evidenciando el hecho de que mientras que la fermentación es el precio a pagar por la conservación de la hierba como ensilaje, la intensidad de aquella debe ser mantenida al mínimo nivel compatible con una buena calidad de conservación (Chamberlain, 1987).

Tabla 2.20. Efecto del ratio EMF/EM de ensilajes de hierba sobre la suplementación necesaria para la producción de leche

	Ratio EMF/EM	
	Bajo	Alto
Características del ensilaje		
Materia seca (%)	Baja (<25%)	Alta (>25%)
Contenido en ácidos de fermentación (%MS)	Alto (>10%)	Bajo (<10%)
Nivel de azúcares residuales	Bajo	Alto
Composición del ensilaje		
Energía metabolizable (EM), MJ kg ⁻¹ MS	11.1	11.1
Energía metabolizable efectiva (EMF), MJ kg ⁻¹ MS	7.3	9.5
Fermentabilidad en el rumen (EMF/EM)	0.66	0.86
Proteína Bruta (% MS)	16.0	16.0
Suplementación necesaria (kg) para 30 L de leche		
Suplemento energético (cereal)	4.0	4.0
Suplemento proteico (torta de soja)	0.7	0.2

Fuente: Chamberlain y Wilkinson, (1996)

Ingestión voluntaria

Los resultados de numerosos experimentos han mostrado que la ingestión voluntaria del ensilaje es menor que la del correspondiente forraje en pié y que la magnitud de la depresión varía en un amplio rango (Wilkins *et al.*, 1971; Demarquilly, 1973; Thomas y Thomas, 1985; O'Kiely y Flynn, 1987; Poole *et al.*, 1992). El efecto del proceso de ensilado parece tener un efecto más marcado en la depresión de la ingesta en ganado ovino comparado con vacuno (Dulphy *et al.*, 1984), siendo la reducción superior para el ensilaje de gramíneas pratenses comparado con el de leguminosas (Thomas *et al.*, 1985) o el ensilaje de maíz (Wilkinson *et al.*, 1976; Dulphy, 1980)

Es conocido desde hace tiempo que las "características ingestivas" de un ensilaje tienen tanta o más importancia en términos de producción animal que el contenido energético y proteico del forraje. Por ejemplo, en la revisión de Harris y Raymond (1963) se establece que el valor del ensilaje como alimento puede estar limitado tanto por su baja digestibilidad como por la baja ingesta cuando es de alta digestibilidad. Mientras que para ensilajes bien fermentados existe una respuesta positiva de la ingesta voluntaria al incremento de digestibilidad del forraje, la revisión de resultados de alimentación con un amplio rango de ensilajes de diferente calidad por métodos de regresión muestra que el porcentaje de varianza de la ingestión voluntaria de ensilaje explicada por la digestibilidad del forraje es comparativamente inferior a la debida a las características físicas del forraje y a los productos de fermentación (Thomas y Thomas, 1984).

La evidencia de que la ingestibilidad del ensilaje es inferior a la del forraje fresco original ha dirigido la atención de los investigadores hacia el contenido en metabolitos resultantes de la fermentación en el silo para intentar explicar dicha reducción, así como las diferencias existentes en la ingestión voluntaria entre diferentes ensilajes (Thomas y Chamberlain, 1982). Algunos estudios han intentado relacionar aquella con la composición química del ensilaje, habiéndose obtenido correlaciones significativas entre la ingesta voluntaria y la concentración en ácidos de fermentación y el pH (correlaciones negativas) y con diversos índices de "calidad fermentativa", que incluyen la relación entre las concentraciones de N amoniacal y total (negativa), la proporción de ácido láctico respecto del total de ácidos (positiva) y el índice de Flieg (positiva), que se calcula a partir de la proporción relativa de ácidos láctico, acético y butírico (Zimmer, 1966).

En este sentido McDonald y Edwards (1976) clasifican los ensilajes en función del modelo de fermentación desarrollado en el silo en los tipos láctico, butírico y acético (dependiendo del ácido predominante en aquellos casos en que la intensidad de fermentación de los azúcares fue prácticamente completa); tipos presecado y de fermentación químicamente restringida cuando la actividad fermentativa microbiana fue atenuada, bien por la reducida humedad del forraje o por la adición de agentes esterilizantes, respectivamente. En los casos en que tuvo lugar en la masa del forraje una fermentación de tipo butírico, con presencia de aminas y valores de N amoniacal elevados, los niveles de ingesta voluntaria observados son típicamente bajos comparados

con ensilajes bien fermentados, como se documenta ampliamente en la revisión de Harrison *et al.* (1994). En ciertos casos, un pH excesivamente bajo en ensilajes que fermentaron extensivamente ha sido relacionado con su baja ingestibilidad (Erdman, 1993). Otros autores señalan factores físicos propios de la estructura del forraje ensilado, como un tiempo superior de retención en el rumen comparado con la hierba fresca (por ejemplo, Thomas y Thomas, 1985).

Existen evidencias acerca de que la longitud de picado del forraje tiene también un pronunciado efecto en la ingesta de ensilaje. Castle *et al.*, (1979) señalan que un picado corto incrementa la cantidad de ensilaje consumida por los animales, bien por el efecto directo que la disminución del tamaño de las partículas de forraje ejerce sobre la permanencia del mismo en el rumen, bien indirectamente debido a la mejora de la calidad fermentativa. Gordon, (1984) revisa la influencia del grado de picado del forraje procedente de praderas de gramíneas y utilizado con ganado ovino y vacuno a distintos niveles de producción. Los resultados más relevantes son los siguientes: i) el tipo de cosechadora puede influenciar la ingesta y la productividad animal directamente a través de la reducción del tamaño de partícula o indirectamente a través del efecto positivo que el picado fino ejerce sobre la calidad de conservación del ensilaje; ii) es más probable un efecto positivo derivado de la reducción del tamaño de partícula del forraje en el caso de forrajes presecados o cuando el ensilaje se realiza en condiciones difíciles (bajo contenido del forraje en azúcares solubles, por ejemplo); iii) cuando el ensilaje está bien conservado, no se observan efectos positivos para el caso de ganado vacuno de carne; iv) con ganado vacuno de leche, el efecto de un picado fino del forraje depende del nivel de suplementación con concentrado, observándose respuestas positivas únicamente cuando el porcentaje de concentrados en la dieta es bajo o nulo; v) únicamente en situaciones donde el ganado aprovecha el ensilaje en autoconsumo (directamente del frente del silo) se aprecia una ventaja consistente de la reducción del tamaño de partícula del forraje. Demarquilly *et al.*, (1998) revisaron una serie de ensayos donde se estudiaba el efecto de la utilización de ensilajes con diverso grado de picado, algunos de los cuales estaban tratados con ácido fórmico y de ensilajes presecados cosechados con rotoempacadora (sin picar) sobre la ingestión y productividad de vacuno lechero. Los resultados muestran que la calidad de conservación del ensilaje tiene mayor influencia que el grado de picado del forraje sobre utilización del ensilaje y que el estado de madurez del forraje en el momento

de la cosecha ejerce, a este respecto, una influencia mucho más importante que el método de cosecha del forraje.

Otro factor que ejerce una influencia negativa en la ingesta es el exceso de humedad del forraje. Mahanna (1994) señala que con raciones ricas en ensilaje, la MS ingerida bajará un 0,02% del peso vivo del animal por cada unidad porcentual de incremento de humedad por encima del 50% en la ración total. Tomando como cierta esta relación, una vaca de 600 kg, consumiendo el 2,2% de su peso vivo de ensilaje de hierba con el 30% MS y 8,5 kg de concentrado (ingestas de 13,2 kg MS de ensilaje y 8 kg MS de concentrado), reduciría en 2,5 kg MS el consumo diario de forraje si se sustituyera aquel ensilaje por otro con el 15% MS. En las condiciones gallegas cortes precoces de hierba a finales de abril, bajo lluvia ligera, pueden producir ensilajes con contenidos de MS semejantes al anteriormente citado (Flores *et al.*, 1999).

Según Erdman (1993) el ensilaje que fue moderadamente presecado se compara favorablemente con el cosechado directamente (sin presecar) en términos de porcentaje de MS que llega a ser finalmente consumido por el ganado respecto del total presente en la pradera, incluyendo en este cálculo tanto los efectos sobre ingesta voluntaria como las pérdidas de materia seca en el campo y durante el almacenamiento originadas por el método de ensilado elegido. En una revisión realizada por Waldo (1977), tomando la producción de leche producida con heno como valor 100, ésta era maximizada por el ensilaje cuando el forraje se recogía entre el 60 y 70% de humedad (valores relativos de 104, 114 y 103 para ensilajes de <30, 30-40 y >40% MS, respectivamente).

Considerando los factores de variación de la ingestibilidad de ensilajes de hierba para alimentación de bovinos Dulphy y Michalet-Doreau (1981) indican que estos animales son especialmente sensibles al contenido en humedad del forraje, la calidad de fermentación y la finura de picado, efectos que se resumen en la Tabla 2.21. Aunque el nivel y tipo de suplementación puede modificar la relación entre las anteriores características del ensilaje y su ingesta voluntaria, es destacable la reducción de ingesta causada por un exceso de humedad en el forraje, en particular con picado largo y calidad de conservación deficiente. Con relación al ensilaje de referencia en cuanto a ingesta voluntaria para dicho autor (picado finamente, con conservante, 23% MS), un ensilaje

del 17% MS, picado largo y sin conservante, tendría únicamente el 68% de su ingestibilidad potencial.

Tabla 2.21. Efecto del contenido en materia seca del forraje, finura de picado y uso de conservante sobre la ingestibilidad relativa de ensilajes de hierba

Materia Seca %	Picado largo		Picado fino	
	Conservante NO	Conservante SÍ	Conservante NO	Conservante SÍ
17	68	78	80	92
20	72	81	85	96
23	76	85	90	100
32	89	92	97	102
35	94	97	100	103

Fuente: Dulphy y Michalet-Doreau (1981).

La mayor parte de los ensayos que han evaluado la ingesta potencial de los forrajes han sido realizados cuando aquellos eran ofrecidos como único alimento. Sin embargo en la práctica las raciones de vacas de alta producción suelen contener del 40 al 60% de concentrados o subproductos. Cuando el porcentaje de concentrados en la dieta se incrementa se reducen las diferencias entre métodos de conservación siempre y cuando el forraje sea de digestibilidad y longitud de partícula semejante y no está dañado por condiciones meteorológicas adversas (Flipot *et al.*, 1984; Gordon, 1980).

2.4.3. Uso de aditivos para ensilado

En una revisión acerca de la calidad de conservación de ensilados realizados por corte directo, Demarquilly, (1986) define una excelente calidad de conservación como "aquella que se observa clásicamente en los ensilados de maíz: pH $\leq$ 4, salvo si la MS es $\geq$ 30%; N-NH₃ $\leq$ 5.7% N total; N soluble alrededor del 50% N total; A. Acético $\leq$ 2-2.5% MS; ausencia o trazas de A. Butírico". Esta calidad de conservación, que situaría el nivel de ingestibilidad y la retención de N a niveles comparables con los del forraje verde original, según el mismo autor, sólo puede ser conseguida por un presecado correcto (MS $\geq$ 35%) o mediante un aditivo eficaz, particularmente en los casos de forrajes de baja ensilabilidad.

El uso de aditivos para ensilado tiene como objetivo el controlar la fermentación que tiene lugar en el silo reduciendo en consecuencia las pérdidas de valor nutritivo que tienen lugar durante el proceso. Según Woolford (1984), de una forma general los aditivos pueden dividirse en: a) inhibidores (ácidos, mezclas de ácidos/formalina y sales de

ácidos) y b) estimulantes de la fermentación (azúcares, cultivos de lactobacilos y enzimas). De ellos, se considera tradicionalmente que el ácido fórmico es el método más efectivo para conseguir una buena fermentación de forma consistente (Steen, 1988), existiendo un acuerdo generalizado acerca de que los ensilados tratados con fórmico son el testigo frente al que se debe testar la efectividad de otros aditivos (O'Kiely y Flynn, 1987). En diferentes países de nuestro entorno (Alemania, Francia, Reino Unido, Dinamarca, Países Bajos e Irlanda) existen sistemas de evaluación oficiales a los cuales, de forma obligatoria (para obtener autorización de venta) o voluntaria (para ganar la acreditación de efectividad), son sometidos los aditivos comercializados, de manera que pueda ser comprobada su supuesta eficacia (Wilkinson y Stark, 1992; Pflaum *et al.*, 1998). Debe señalarse, a este respecto, que en España no está en uso de forma oficial ningún sistema de evaluación semejante. Sin embargo en el CIAM, como parte del proyecto INIA-9626 (1992-1994) fue desarrollada una metodología de evaluación utilizando silos de laboratorio que permitió realizar desde 1994 la evaluación sistemática de los aditivos presentes en el mercado para ensilado de hierba y realizar la transferencia de resultados a técnicos y ganaderos.

La efectividad del fórmico ha sido comprobada experimentalmente en condiciones de Galicia, con hierba de alta humedad, tanto en la calidad de fermentación y digestibilidad (Flores, 1985) como en el incremento de la ingestión y la mejora de la productividad animal (Zea *et al.*, 1985) frente a un control sin aditivo que presentaba una calidad de fermentación deficiente. Estos resultados concuerdan con los referidos por numerosos autores, entre ellos Mayne y Steen (1990) quienes, resumiendo los resultados de 25 ensayos, concluían que en las situaciones donde el ácido fórmico mejora la calidad de fermentación respecto al ensilado control son observados de forma casi sistemática efectos positivos en la digestibilidad, ingestión de ensilado y producción animal. Sin embargo, es bien conocido el hecho de que la utilización de fórmico puede incrementar notablemente la producción de efluente respecto del control con hierba de alta humedad (Mc Allen *et al.*, 1991), lo que puede causar graves problemas de polución debido al elevado volumen de efluente que se llega a producir (hasta 300 litros/t de forraje ensilado) y al alto poder contaminante del mismo, existiendo en la mayor parte de los países europeos una severa legislación medioambiental que regula específicamente el manejo de efluentes en las explotaciones (Wilkinson y Toivonen, 2003).

La creciente sensibilidad hacia el desarrollo de actividades agrícolas respetuosas con el medio ambiente, junto al hecho de las dificultades de aplicación y corrosividad del ácido fórmico motivan el cuestionamiento de su uso, a pesar de su eficacia, para un cierto porcentaje de ganaderos y técnicos (Henderson, 1993). Esta falta de atractivo se agudiza cuando, como en el caso de las explotaciones gallegas, es incorporado a la masa de forraje en el silo con regadera, multiplicando los riesgos que conlleva su manipulación (Flores *et al.*, 2000a).

Otros aditivos, ampliamente utilizados, están actualmente cuestionados en base a sus posibles efectos negativos en la salud humana, como el caso del formol, que ve empañada su probada efectividad en la protección de la proteína de la hierba por el hecho de ser posiblemente cancerígeno (Henderson, 1987; Pitt, 1990) o en la salud animal, como el caso del ácido sulfúrico, por aportar un exceso de azufre que puede deprimir la utilización del cobre en el metabolismo del animal (O'Kiely *et al.*, 1989). Por otra parte, las sales de ácido han revelado en la práctica un comportamiento irregular o escaso (Haigh, 1987). Esta observación ha sido confirmada en condiciones de Galicia, tanto en silos de explotaciones ganaderas como en silos de laboratorio, donde se han mostrado en general ineficaces para mejorar la calidad de conservación en condiciones de hierba de baja ensilabilidad (Flores *et al.*, 1993b).

En el reciente estudio de Wilkinson y Toivonen, (2003) se hace notar que los inoculantes son el tipo de aditivo más empleado en Europa para ensilaje de hierba y maíz, situación que contrasta con la observada a comienzos de los años 90, momento en el cual los aditivos más populares en las explotaciones europeas eran los ácidos (principalmente fórmico y sulfúrico), y las sales de ácido (Wilkinson y Stark, 1992). Esta tendencia refleja las mejoras habidas en la formulación del producto, el incremento de resultados positivos observados en los ensayos más recientes y la creciente preocupación por prácticas de ensilado que ofrezcan mínimo riesgo de accidentes en las explotaciones y de agresión al medio ambiente, dada su seguridad de manejo, ausencia de corrosividad y de efecto sobre la producción de efluente (Henderson, 1987).

Como indican McDonald *et al.*, (1991) la fermentación homoláctica es más deseable que otros tipos de fermentaciones debido a su mayor eficiencia en la recuperación de materia

seca (100%) y energía (99%) comparada con otros tipos de fermentaciones. Las poblaciones naturales de bacterias lácticas (LB) presentes en el forraje oscilan entre un amplio margen, usualmente de 10^3 a más de 10^6 unidades formadoras de colonias (ufc) g^{-1} de forraje fresco, siendo en ocasiones demasiado bajas para conseguir dominar el proceso de fermentación en el silo. El objetivo perseguido con el uso de inoculantes es el añadir bacterias lácticas homofermentativas (ho LB) capaces de crecer vigorosamente para dominar la fermentación y mejorar la calidad del ensilaje. Demarquilly, (1986) establece dos condiciones para que la adición de ho LB consiga los objetivos anteriores: la cosecha debe tener un contenido en azúcares suficiente (aproximadamente el 3% de la materia fresca) y el número de microorganismos viables debe superar ampliamente en número a la población microbiana natural del forraje, sugiriendo valores mínimos de 10^5 ufc g^{-1} (materia fresca). Weiss y Underwood (1992) sugieren que cuando la inoculación multiplica por un factor de 10 la población indígena de LB, son de esperar respuestas positivas en fermentación del ensilaje y productividad animal.

Desde 1986 se han realizado numerosos ensayos con inoculantes, cuyo efecto ha sido revisado por Mayne y Steen (1990). Se concluye en este trabajo que los inoculantes no mejoraron sistemáticamente la calidad de conservación de los ensilados (que procedían en su mayoría de hierba de ensilabilidad media-alta), a pesar de lo cual en un número relativamente elevado de ensayos se obtuvieron respuestas en la mejora del valor nutritivo del ensilado y de la producción animal frente al control sin aditivo, tanto en ganancia de peso vivo (mejora del 17% como media de 9 ensayos) como en producción de leche (mejora del 4% como media de 7 ensayos). Según los mismos autores esta forma de actuación diferencia a este grupo de aditivos de la clásica respuesta con ácido fórmico, ya que revisados los datos de 21 ensayos donde se evaluaba el efecto del fórmico sobre la calidad de fermentación del ensilado y la producción animal, concluyeron, al igual que Parker y Crawshaw (1982), que los efectos positivos del fórmico sobre digestibilidad, ingestión y producción animal estaban condicionados a la mejora de la calidad de fermentación respecto del control sin aditivo. La aparición de respuestas positivas en producción animal sin que, según los criterios usuales de considerar la concentración de los “tradicionales” productos finales de la fermentación, se haya mejorado la conservación, sugieren que puede haber componentes no identificados en los ensilajes inoculados que son responsables de la mejora en la productividad animal (Gordon, 1989; Kung *et al.*, 1993; Rooke, 1991).

Estudios más recientes han permitido encontrar respuestas positivas del inoculante a calidad de fermentación, ingestibilidad y digestibilidad (Rooke y Kafilzadeh, 1994) así como al modelo de fermentación ruminal incrementado la concentración de ácido propiónico (Keady *et al.*, 1994), con hierba de bajo contenido en azúcares. Keady y Steen, (1994) observaron con hierba de similares características efectos positivos del inoculante en la ingestión de MS y ganancia de peso vivo de novillas respecto del control sin aditivo, señalando una superior eficiencia en la utilización de la energía ingerida respecto del fórmico. Cabe señalar que en estos tres ensayos fue evaluado el mismo inoculante, una patente comercial a base de *L. Plantarum* (ECOSYL, ICI plc), del que la bibliografía refleja en general resultados altamente positivos. En otros casos, utilizando un inoculante diferente, pero con cepas de la misma especie no ha sido posible encontrar respuestas positivas en producción animal, si bien aumentaba la calidad de fermentación, la ingestión de MS y ejercía un efecto positivo en el incremento molar del ácido propiónico en el rumen (Sharp *et al.*, 1994). Por otra parte, estos autores señalaban también que es la evolución de los primeros estadios de la fermentación, más que el resultado final de la misma, lo que podría determinar las características ingestivas del ensilado y, parcialmente, su respuesta productiva, recomendando por tanto que en los estudios de fermentación se proceda al seguimiento del curso de la misma a lo largo del período de permanencia del forraje en el silo.

Muck y Kung (1997), en una revisión de los resultados de trabajos realizados sobre los efectos de la inoculación en la fermentación del forraje, indican que la inoculación del forraje produjo, en el 60% de los estudios, ensilajes con valores bajos de pH, ácido butírico y N amoniacal y ratios láctico: acético elevados; en el 35% mejoró la recuperación de materia seca y en el 35% se mejoró la estabilidad aeróbica del ensilaje. La digestibilidad de la materia seca se vio afectada positivamente por la inoculación en el 30% de los estudios. Por su parte Kung y Muck (1997), sintetizando los resultados de estudios realizados para evaluar el efecto de la inoculación del forraje sobre producción de ganado vacuno (15 con vacuno de carne y 36 con vacuno lechero), indican que la ganancia de peso vivo se vio mejorada significativamente en el 53% de los casos y la producción de leche en el 47%. Los mismos autores indican que la ingestión de materia seca se vio mejorada únicamente en el 28% de los casos por la adición de inoculante. Debe ser tenido en cuenta que, como ha sido puesto de manifiesto por diferentes autores, entre ellos Dennis (1992), productos con la

misma especie de ^{ho}LB pueden no tener la misma efectividad, ya que ésta se ve influida por el tipo de cepa, la viabilidad de los microorganismos en la preparación y la humedad del forraje, entre otros factores. Aunque se admite generalmente que los inoculantes son más efectivos con forrajes presecados (Henderson, 1987), en ensayos realizados en el CIAM se han encontrado respuestas positivas a su aplicación en hierba de alta humedad en cuanto a la mejora de la calidad fermentativa y productividad con ganado ovino (Cropper *et al.*, 1991), y vacuno lechero (Flores *et al.*, 1998; Flores *et al.*, 1999). Como conclusión de un ensayo de cuatro años de duración donde se evaluó la efectividad de la utilización de inoculantes en el ensilaje de hierba de pradera en comparación con el uso del ácido fórmico, destinados a la alimentación de vacuno de leche, Flores *et al.*, (2000b) indican que el uso de inoculantes permite incrementar substancialmente los resultados productivos y económicos respecto del testigo sin aditivo, en el caso de hierba presecada. Para hierba de alta humedad, el ácido fórmico mejora dichos resultados comparado con los inoculantes y el testigo, sin que se haya detectado un aumento significativo en la producción de efluente derivada de su uso, confirmándose como aditivo de referencia en condiciones difíciles para ensilar. A pesar de haberse obtenido respuestas favorables al uso de inoculante en uno de los dos años de ensayos realizados con hierba de alta humedad, su utilidad en estas condiciones no está confirmada. El resumen de resultados productivos se indica en la Tabla 2.22.

Tabla 2.22. Estimación de la rentabilidad de la aplicación de inoculante en el ensilado de hierba de pradera para la producción de leche

	Hierba presecada (1999-2000)		Hierba de alta humedad (1997-1998)		
	Inoculante	Testigo	Inoculante	Fórmico	Testigo
Producción de hierba (kg MF ha ⁻¹ corte ⁻¹)	11010	11010	29173	29173	29173
Pérdidas en el silo (% MF)	10.84	10.81	35.24	35.44	38.67
Provisión neta de ensilaje (kg MF ha ⁻¹)	9817	9820	18893	18834	17892
MSc ensilaje (corregida por pérdida de volátiles, %)	28.43	27.78	16.44	17.25	16.03
Provisión neta de ensilaje (kg MS ha ⁻¹)	2791	2728	3106	3249	2868
Consumo de MSc ensilaje (kg vaca ⁻¹ d ⁻¹)	14.14	13.46	9.64	10.35	9.67
Días-vaca con ensilaje (d ha ⁻¹)	197.4	202.7	322.2	313.9	296.6
Leche producida con ensilaje ² (kg vaca ⁻¹ día ⁻¹)	17.04	14.66	7.72	8.84	7.62
Leche producida con ensilaje ² (kg ha ⁻¹)	3363	2971	2487	2775	2260
Leche adicional debido al uso de aditivo (kg ha ⁻¹)	392	-	227	515	-
Precio de venta de la leche (pts kg ⁻¹)	50	-	50	50	-
Incremento de ingresos por uso de aditivo (pts ha ⁻¹)	19604	-	11364	25743	-
Gasto adicional por uso de aditivo					
pts kg ⁻¹ hierba (materia fresca)	0.3667	-	0.3667	0.405	-
pts ha ⁻¹	4037	-	10697	11815	-
Diferencia entre ingresos y gastos debida al uso de aditivo (pts ha ⁻¹)	15567	-	667	13928	-

MF: materia fresca; MS: materia seca; MSc: materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa
Fuente: Flores *et al.*, (2000b)

2.5. La necesidad de conocer el valor nutricional de los forrajes

El rumiante ocupa una posición estratégica con relación al hombre produciendo alimentos para su consumo a partir de alimentos fibrosos y fuentes de nitrógeno no proteicas que no pueden ser utilizadas por aquel, no compitiendo con la especie humana, al menos parcialmente, por alimento (Van Soest, 1983). Por otra parte Tamminga (1996) en una revisión sobre los impactos medioambientales de las estrategias de alimentación en rumiantes indica que el uso de energía fósil en la obtención de alimentos para rumiantes oscila, por kg de materia seca producida, de 1 a 3 MJ para el forraje a más de 8 MJ para los concentrados, indicando que la intensificación forrajera de las explotaciones es una vía de reducir el input de energía fósil destinada a la producción de alimentos para el ganado, contribuyendo por tanto a disminuir el impacto medioambiental de la producción ganadera.

Los forrajes constituyen de forma casi general las fuentes alimenticias más baratas para la producción de rumiantes. En un análisis de los costes de producción de forrajes en las explotaciones de Galicia, Rodríguez-Pérez (1989) estima que la relación entre el coste de la unidad de materia seca puesta a disposición del ganado para el forraje en pie, ensilado y un concentrado medio para vacuno de leche se encuentra en torno a 1:3:6, respectivamente, mientras Kertz *et al.*, (1998) establecen una relación de 1:3.4 entre el coste del ensilaje de maíz y el concentrado, por unidad de materia seca.

El conocimiento preciso de la composición de los alimentos para el ganado es una condición necesaria para su utilización eficiente en la alimentación animal, a través de la preparación de dietas equilibradas. Tal información es vital cuando se trata de alcanzar los altos niveles de producción animal hoy en día requeridos para una producción competitiva, sin olvidar los requerimientos del mercado y consumidores en general acerca de la calidad y salubridad de los productos, así como la sensibilidad del público hacia sistemas de producción no agresivos para el medio ambiente. Por otra parte, el conocimiento de la composición química y el valor nutricional de los alimentos para el ganado es fundamental para la planificación de la producción forrajera de las explotaciones, de forma que los cultivos elegidos y su manejo respondan a las

necesidades de una dieta equilibrada y económica para los animales a cuyo consumo van destinados. Desde un punto de vista político, la información acerca de la composición química y valor nutricional de los forrajes y alimentos para el ganado en general proporcionan información básica a los gestores políticos a fin de permitirles planificar una agricultura sostenible y competitiva.

Los alimentos para el ganado se describen usualmente en función de su composición química y de su valor nutricional. Los nutrientes esenciales incluyen agua, energía, aminoácidos, vitaminas y minerales, valorándose los alimentos en razón a su capacidad de suministrar energía y proteína a los animales (Van Soest, 1983). Las posibles deficiencias en vitaminas o minerales, en su caso, son fácilmente cubiertas as mediante el uso de correctores apropiados. En general, la producción animal está limitada en primer lugar por el suministro de energía y en segundo lugar por el suministro de proteína (Weller y Jones, 2002, Anderson y Vanzant, 2000).

El valor nutritivo de un alimento es un concepto multifactorial, pero convencionalmente se clasifica por los nutricionistas en tres componentes generales: digestibilidad, consumo voluntario y eficiencia energética (Raymond, 1969). La aplicación práctica de los sistemas de evaluación de alimentos asumen que las características de los alimentos son variables mientras que las respuestas animales ante un alimento o dieta dados son comparativamente reproducibles (Van Soest, 1983). La variabilidad observada entre animales en las medidas de ingestión es marcadamente superior a la observada para las determinaciones de digestibilidad, indicando Van Soest (1983) que son de esperar coeficientes de variación entre animales del orden del 3 y 30% para las determinaciones de digestibilidad e ingestión, respectivamente.

El valor nutricional de los forrajes varía debido a su composición genética y a consecuencia de los procesos a que son sometidos (variabilidad intrínseca). Otra fuente de variabilidad surge de las diferencias en la metodología utilizada en la obtención de la información (variabilidad extrínseca). Los procedimientos de análisis y los protocolos de experimentación con animales pueden variar de acuerdo con el laboratorio o centro experimental donde se desarrollaron los trabajos. Este tipo de variabilidad debería ser minimizado para la obtención de resultados comparables y útiles. Por otra parte, la

información relacionada con las características químicas y nutricionales de un forraje deben ser cuidadosamente examinada antes de su incorporación a una base de datos y, una vez incorporada, necesita ser manejada también con cuidado. De no hacerlo así, se producirá una falsa variabilidad entre forrajes, que puede comprometer el uso en la práctica de la información generada.

En las tablas de alimentación se asume que el mismo alimento posee una composición y valor nutritivo constante. Esto puede ser asumido como cierto para algunos productos, como los cereales, proteaginosas y concentrados. En el caso de los forrajes, además del estado de madurez, los factores de medio y clima contribuyen a modificar la estructura de la planta y determinan tanto la composición química como la biodisponibilidad de nutrientes. Por ello la información de las tablas es útil solamente en el área geográfica en la cual se obtuvieron los forrajes (Susmel *et al.*, 1991).

2.6. Determinación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes.

Para un forraje dado, el balance de material que desaparece a lo largo de su tránsito por el tracto digestivo del animal es una de las determinaciones más reproducibles, indicando Van Soest (1983) que la variabilidad observada en los ensayos de digestibilidad *in vivo* está inversamente relacionada con la digestibilidad del alimento. Según dicho autor, la mínima variabilidad esperada en dichos ensayos, expresada en términos de desviación estándar del valor medio es de ± 2 unidades de digestibilidad, para ensayos correctamente planteados y ejecutados, con un nivel de alimentación restringido. Dicho valor usualmente se incrementa para forrajes de baja calidad, para mayores niveles de ingesta o con animales de características heterogéneas, pudiendo tomarse esta diferencia de 2 unidades como el límite inferior de significación biológica en la discusión de los resultados de digestibilidad de los alimentos para rumiantes.

Wilkins (1969) define el concepto de digestibilidad potencial de un forraje como “la máxima digestibilidad alcanzable cuando las condiciones y duración de la fermentación no son factores limitantes”. Como indica Minson (1990), para cada muestra de forraje hay sólo un valor de digestibilidad potencial (DP) pero existen una serie de valores de digestibilidad aparente *in vivo* (DA), dependiendo de la cantidad de material

potencialmente digestible que escapa a la digestión en el animal (E) y de la inevitable producción de material metabólico que aparece en las heces (M), relacionándose dichos parámetros mediante la ecuación $DA = DP - (E + M)$. La cantidad de material metabólico inevitablemente perdido en las heces es directamente proporcional a la cantidad de materia seca ingerida, independientemente del tipo de forraje, secretándose 0.129 g de material de origen metabólico por cada g de materia seca ingerido (Van Soest, 1967). Por otra parte, la digestibilidad verdadera (DV) de un forraje (ocasionalmente usada en estudios de digestibilidad) se corresponde con el valor de la digestibilidad aparente adicionado del valor del material metabólico fecal $DV = DA + M$. Aunque fisiológicamente la digestibilidad verdadera representa la parte del alimento que es realmente incorporada a la sangre del animal, los procesos de digestión requieren sustancias procedentes del alimento que producen pérdidas fecales de origen metabólico. Por lo tanto el valor de la digestibilidad aparente describe con mayor exactitud el resultado neto del proceso que la digestibilidad verdadera (Van Es, 1979).

Mientras que la digestibilidad de los contenidos celulares del forraje es prácticamente total, la digestión de la pared celular es variable y depende, fundamentalmente, del grado de lignificación de la misma (Van Soest, 1983). Según Wilkins (1969), cualquier factor que reduzca el tiempo de exposición del alimento a la microflora del rumen, o que reduzca la actividad de los microorganismos celulolíticos conducirá a una depresión de la digestibilidad de la pared celular. Entre otros autores, Alwash y Thomas, (1971) y Tyrrell y Moe (1975) estudiaron el efecto del nivel de alimentación de los forrajes en la eficiencia con la que son digeridos por el ganado ovino, concluyendo que el incremento de la ingesta reduce la digestibilidad de la fibra de los forrajes debido, entre otros factores, a la reducción del tiempo de permanencia del alimento en el rumen. Por otra parte Doreau *et al.*, (2000) indican que, en condiciones donde los animales son alimentados por debajo de las necesidades de mantenimiento, la digestibilidad de la dieta es con cierta frecuencia deprimida, indicando que una posible causa sería la reducción del crecimiento bacteriano en el rumen. Según señalan Tyrrell y Moe (1975), la depresión de la digestibilidad con el incremento del nivel de alimentación se hace claramente patente para las dietas con alto contenido en concentrado, mientras que cuando los forrajes se ofrecen como único alimento los cambios en la eficiencia digestiva con el incremento del nivel de alimentación son más reducidos. De la revisión efectuada por Doreau *et al.*, (2000), en la

que se examinan unas 70 publicaciones que estudiaron la variación de la eficiencia digestiva en ovinos y bovinos con el incremento del nivel de alimentación en dietas de diferente contenido en concentrado, se deduce que para dietas con menos del 20% de concentrado, a una variación del nivel de alimentación entre una y dos veces mantenimiento le correspondería una disminución de la digestibilidad de la materia orgánica (%) de 2 a 3 unidades.

El ganado vacuno digiere la materia seca del forraje más eficientemente que el ganado ovino (Cipolloni *et al.*, 1951; Playne, 1978), en particular cuando el forraje ofrecido es de baja calidad. Se ha relacionado la mayor eficiencia digestiva del ganado bovino en estas condiciones a un mayor tiempo de retención del alimento en el rumen comparado con el ovino (Poppi *et al.*, 1981). La diferencia media a favor de la especie bovina es establecida por Minson (1990) en algo más de dos unidades (%DMS), indicando dicho autor la ecuación $DMS_{BOVINO} = 0.039 + 0.970DMS_{OVINO}$ para describir la relación entre la digestibilidad (%) medida en las dos especies. Dicha ecuación fue obtenida para forrajes de gramíneas de digestibilidad media-baja, en el rango 40-60% DMS. A este respecto Heaney (1979) indica que cuando la digestibilidad de los forrajes es superior al 55-60%, los resultados de digestibilidad obtenidos con ganado ovino pueden ser aplicados al vacuno, lo cual es el caso general para los ensilajes obtenidos a partir de forrajes producidos en las explotaciones destinados a la alimentación de vacuno lechero.

Según Blaxter *et al.*, (1956), en las determinaciones de digestibilidad con rumiantes el forraje es ofrecido “en cantidades exactas por largos períodos, a fin de asegurar que se alcanza una excreción regular de heces, momento a partir del cual se realiza la colección de las heces producidas durante un determinado intervalo de tiempo”. Las determinaciones de digestibilidad *in vivo* representan los datos de referencia para los nutricionistas y son considerados generalmente como los datos más útiles acerca de un forraje (ENFIC, 1997), siendo los estándares frente a los cuales debe probarse la exactitud de los métodos indirectos de estimación del valor energético (Minson, 1990). El equipamiento y los protocolos de actuación necesarios para las determinaciones de digestibilidad *in vivo* con ovinos han sido objeto de numerosas revisiones (Raymond *et al.*, 1953; Gálvez y Roselló, 1977; Cammell, 1977; Cochran y Galyean, 1994; Ørskov, 1999), en las que se derivan recomendaciones en cuanto a las instalaciones, tipo de

jaulas, preparación y conservación del alimento a evaluar, tipo de animales y número a utilizar, duración de los períodos de adaptación y de control de la excreción de heces, toma de muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces y conservación de las muestras hasta su análisis (Tabla 2.23).

Tabla 2.23. Recomendaciones sobre el procedimiento de realización de las evaluaciones de digestibilidad *in vivo* de forrajes con ovinos

Característica	Recomendación
Instalación	Establo cubierto, bien ventilado, preferiblemente en condiciones de ambiente controlado. Las evaluaciones no deben hacerse fuera de la zona termoneutra del ganado ovino (-3 a 20 °C)
Jaulas metabólicas	Dotadas con separadores de heces y orina, diseñadas de forma que se minimice el estrés de los animales y se evite la contaminación de las muestras.
Tipo de animal (ovinos)	Machos, castrados, que hayan alcanzado su peso vivo maduro (≥ 2 años), en buenas condiciones físicas y sanitarias. Debe prestarse atención acerca de la homogeneidad de los grupos de animales en cuanto a peso y alimentación previa al ensayo
Conservación del alimento a evaluar	La congelación rápida a <15 °C ejerce un efecto mínimo sobre la digestibilidad.
Número de animales por alimento a evaluar	Depende de la digestibilidad del alimento y del tamaño del error asumible en la estimación de la media. El coeficiente de variación entre individuos disminuye con el incremento de digestibilidad del forraje a evaluar. Utilizando un mínimo de 4 animales si sólo se mide digestibilidad y de 8 si se mide también ingestión permitirá detectar diferencias de digestibilidad (%) de 2-3 unidades y diferencias en ingestión voluntaria (g MS $P^{0.75}$) de 6-10 unidades en la mayor parte de forrajes frescos y ensilados producidos en las explotaciones de vacuno lechero.
Duración del ensayo	El período de adaptación, dependiendo del forraje a evaluar y de la dieta previa de los animales, no debería ser inferior a 7-10 días. Para ensilajes, henos y forrajes de mala calidad debería ser de 14-20 días como mínimo, en particular si el nivel de alimentación es <i>ad libitum</i> . Un período de control de la producción de heces, alimento ofrecido y rechazado (en su caso) de 8-12 días es suficiente para la mayoría de forrajes, frescos y conservados.
Frecuencia de alimentación	Se recomiendan dos aportes diarios del alimento a evaluar, si bien hay escasa evidencia de que la frecuencia de alimentación afecte a la eficiencia digestiva (Bunting <i>et al.</i> , 1987).
Presentación del alimento	En función de la heterogeneidad de las características del forraje debe considerarse un picado suficiente para minimizar la selección por el ganado, particularmente en el caso de ser ofrecido a voluntad.
Nivel de alimentación	El alimento puede ser ofrecido a voluntad o a nivel próximo a mantenimiento (40 g MS $P^{0.75}$ según ENFIC, 1997). La corrección del efecto del nivel de alimentación sobre la determinación de digestibilidad puede hacerse mediante la expresión $\Delta D = 10.7 - 0.113 D_m$, (Blaxter, 1969) donde ΔD : descenso de digestibilidad al aumentar una unidad el nivel de alimentación, D_m : digestibilidad medida a nivel de mantenimiento.
Muestreo de alimento ofrecido, rechazado y heces	Varía según las diversas fuentes. El muestreo diario del 10% del alimento ofrecido y rechazado y del 15-20% de las heces producidas, por animal, parece suficiente. La práctica de recoger las heces una sola vez al día no parece comprometer los resultados de los ensayos de digestibilidad (Cochran y Galyean, 1994)

Fuentes: Raymond *et al.*, (1953); Blaxter, (1967); Heaney, (1970); Gálvez y Roselló, (1971); Heaney, (1979); Minson, (1990); Cochran y Galyean, (1994); ENFIC, (1997); Ørskov, (1999).

Según indican Demarquilly *et al.*, (1989), las Tablas de valor nutritivo del INRA de 1998, que incluyen datos de 714 alimentos, de los cuales 609 son forrajes, proceden de evaluaciones de digestibilidad realizadas en Francia en más de 3 700 muestras, de las cuales 280 eran de ensilajes de gramíneas y leguminosas pratenses y 120 de ensilaje de maíz. En las determinaciones de digestibilidad se utilizaron 6 ovinos machos de 2 a 4

años de edad, castrados, con períodos de adaptación y de control de 8-15 y 6 días, respectivamente. En prácticamente todos los ensayos el nivel de alimentación fue *ad libitum*, (permitiendo un 10% de rechazos) a fin de medir digestibilidad e ingestión voluntaria en el mismo ensayo. En 17 comparaciones realizadas con forrajes de picado medio o largo, la digestibilidad medida *ad libitum* fue ligeramente inferior (1.6 unidades, %) a la medida en animales con alimentación restringida.

Con frecuencia se realizan evaluaciones de digestibilidad *in vivo* alimentando a los animales a voluntad con el forraje problema. Se ha hecho referencia anteriormente al hecho de que, debido a la mayor variabilidad entre animales que presenta la ingestión voluntaria comparada con la correspondiente a la digestibilidad *in vivo*, se requiere un número de animales más elevado para la obtención de resultados fiables de aquella variable. Por otra parte, ha sido cuestionada por algunos autores la utilidad del resultado de las evaluaciones de ingestión voluntaria de forrajes con ganado ovino a fin de predecir la correspondiente respuesta del ganado vacuno. Cushnahan *et al.*, (1994) estudiaron la posibilidad de estimar la ingesta en vacuno lechero a partir de los valores determinados en ganado ovino adulto con ensilajes de diferente composición química y calidad fermentativa, obteniendo ecuaciones para diferentes períodos de ensayo cuyo coeficiente de determinación (R^2) varió ampliamente, entre 0.03 y 0.86, concluyendo que el ganado ovino no es un modelo útil para predecir la ingestión relativa con ganado vacuno lechero, por lo menos para ensilajes de baja ingestibilidad potencial, en base a sus características químicas y fermentativas.

Sin embargo el sistema de las “unidades lastre” propuesto por el INRA francés (Jarrige *et al.*, 1979; Dulphy *et al.*, 1989) permite calcular la cantidad de materia seca de forrajes verdes y ensilados (gramíneas y leguminosas pratenses) ingerida por bovinos a partir de la ingestibilidad medida en ovinos. Como indican Dulphy *et al.*, (1989), el punto de partida lo constituyen las evaluaciones en las cuales se determina la digestibilidad *in vivo* y la ingestión voluntaria de forrajes frescos con ganado ovino. Las ecuaciones obtenidas por diversos autores (Dulphy y Michalet-Doreau, 1983, Dulphy *et al.*, 1989b) permiten estimar la ingestión voluntaria de distintos tipos de ganado a partir de los correspondientes valores medidos en ovino, siendo asignado a cada forraje fresco tres valores de ingestibilidad diferentes (para ovinos, bovinos en crecimiento y vacas

lecheras). La depresión en la ingestión causada por el proceso de ensilado fue estudiada por Dulphy y Michalet-Doreau, (1981) quienes midieron la ingestión voluntaria con ovinos de 150 ensilajes procedentes de forrajes frescos previamente evaluados *in vivo* y sentaron las bases para la estimación de la ingestibilidad de los ensilajes a partir de las características del forraje fresco original, y del modo de preparación del ensilaje, relativo a la finura de picado y uso de aditivos. Es importante destacar que las correlaciones observadas entre la ingesta voluntaria de vacuno y ovino son más elevada para forrajes frescos que para ensilajes. Este hecho es atribuido, tal y como señalan Dulphy *et al.*, (1984), a que la depresión causada por el proceso de ensilado en los niveles de ingestión voluntaria, respecto a la observada para el forraje fresco es comparativamente mayor para el ganado ovino respecto del vacuno. Se señala también que para el caso de los ensilajes de maíz, los valores INRA se derivan de ensayos donde la ingestión se midió directamente en novillas y vacas de leche.

2.7. Relación entre digestibilidad y aporte energético

La digestibilidad de la energía del forraje es un dato de fundamental importancia para los distintos sistemas de evaluación de alimentos utilizados en Europa, puesto que usualmente la energía es el principal nutriente que limita la producción animal (ENFIC, 1997). La cantidad de energía disponible para un animal se estima convencionalmente a partir de la siguientes ecuaciones (McDonald *et al.*, 1979):

Energía digestible (ED)= Energía bruta (EB) en el alimento – EB en las heces

Energía Metabolizable (EM)= ED – (EB de la orina y metano producidos)

Energía Neta (EN)= EM – Termogénesis inducida por la dieta (extracalor)

Energía Bruta

El valor medio en EB de las dietas para rumiantes adoptado por el AFRC (1993) es de 18.8 MJ kg⁻¹ MS (4.49 Mcal kg⁻¹ MS. En las tablas de forrajes del Reino Unido (MAFF, 1992) se indica un valor medio de 18.5 MJ EB kg⁻¹ MS para henos, hierba fresca y ensilaje de maíz (rangos 18.1-18.6, 18.1-19.0 y 18.3-18.8 MJ kg⁻¹ MS, respectivamente), mientras que para ensilajes de hierba el valor medio es de 19.0 (rango 18.6-19.5) MJ kg⁻¹ MS. En el caso de concentrados el valor de EB varía entre 18.4 a 18.8 MJ kg⁻¹ MS.

Las estimaciones del INRA francés para EB se basan en el contenido en proteína bruta (PB_o , expresada en $g\ kg^{-1}MO$) para el caso de forrajes frescos o secos o PB_o y pH para ensilajes (Velmorel, 1989) según las ecuaciones siguientes, donde la energía se expresa en kcal ($1\ kcal=4.18\ kJ$):

Forrajes frescos y secos: $EB\ (kcal\ kg^{-1}\ MO)= 4531+ \Delta + 1.735\ PB_o$, donde $\Delta= - 71$ para gramíneas pratenses; $\Delta= - 11$ para trébol violeta, cereales inmaduros y henos de praderas temporales; $\Delta= 82$ para alfalfa y henos de praderas permanentes.

Ensilajes de pradera: $EB\ (kcal\ kg^{-1}\ MO)= 3910+2.450\ PB_o +169.6\ pH$

Para ensilajes de maíz el citado autor indica un valor fijo de $EB\ (kcal\ kg^{-1}\ MO)= 4678$, que se aumenta a $4772\ kcal\ kg^{-1}\ MO$ para ensilajes con menos del 30% MS.

Relación entre Energía Digestible y Energía Metabolizable

En el cálculo del valor de EM a partir del contenido en EB del alimento, la mayor pérdida de energía se produce en las heces, existiendo normalmente una buena correlación entre los valores de energía metabolizable y energía digestible del alimento o dieta, oscilando la relación EM/ED entre 0.77 a 0.83 (Minson, 1990). La medición directa del contenido en EM de un alimento implica, además de la determinación de las pérdidas de EB en orina, el disponer de una cámara respiratoria para determinar la fracción de EB perdida como metano. Cuando esto no es posible, según se indica en el estudio de ENFIC (1997) es aceptable asumir que las pérdidas de energía en orina y metano ascienden, como media, al 19% de la energía digerida (Armstrong, 1964), por lo cual el contenido en EM de un alimento se calcula a partir de la expresión $EM=0.81\ ED$.

A causa de la relativa constancia del contenido en EB de la materia orgánica digestible para la mayor parte de los forrajes así como de las pérdidas energéticas en orina y metano es posible predecir el contenido en EM a partir del conocimiento de la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), medida en ensayos *in vivo* o estimada por métodos indirectos. Alderman (1979) indica que puede asumirse que se producen 19 MJ de ED por cada kg de materia orgánica digestible consumida. Por su parte, Barber *et al.*, (1984) en una revisión de resultados de evaluaciones *in vivo* de forrajes frescos, en las cuales se había determinado la digestibilidad de la materia orgánica y el contenido en energía

metabolizable, observó que la relación entre los contenidos en EM (MJ kg^{-1} MS) y en materia orgánica digestible (MOD, g kg^{-1} MS) era de 0.0157, la cual ha sido adoptada por el AFRC (1993) para obtener los valores de EM de este tipo de forrajes.

El valor medio de la relación EM/MOD, encontrado en la literatura para ensayos *in vivo* con ensilajes donde se midió la producción de metano, es de 0.0168, superior al referido por Barber *et al.*, (1984) para forrajes frescos, debido al mayor contenido en EB de los ensilajes. Sin embargo el AFRC (1993) adoptó un valor más bajo, de 0.016, a fin de tener en cuenta posibles pérdidas de volátiles durante el suministro y consumo del ensilaje por los animales. Los pasos a dar para estimar EM a partir de la DMO de un forraje son los siguientes (AFRC, 1993):

- i) Obtener el valor de la concentración de materia orgánica digestible en la materia seca (MOD), a partir del contenido en DMO (g kg^{-1}) y cenizas (g kg^{-1} MS) según la expresión $\text{MOD (g kg}^{-1} \text{ MS)} = \text{DMO} \times (1000 - \text{cenizas}) / 1000$.
- ii) Obtener el contenido en MS del ensilaje, corregido por el valor medio de pérdidas de volátiles en estufa durante el secado, según $\text{MS}_c (\text{g kg}^{-1}) = 0.99 \text{MS}_{\text{estufa}} (\text{g kg}^{-1}) + 18.2$
- iii) Corregir el valor de MOD incluyendo los volátiles perdidos durante el proceso de secado, según $\text{MOD}_c = 1000 - ((1000 - \text{MOD}) \times (\text{MS} / \text{MS}_c))$
- iv) Calcular el valor de EM a partir de MOD_c según $\text{EM (MJ kg}^{-1} \text{ MS)} = 0.016 \times \text{MOD}_c$.

En el sistema de valoración de alimentos del INRA francés se realiza el cálculo de la relación EM/ED a través de la ecuación

$$\text{ME/ED} = 0.8417 - (9.9 \times 10^{-5} \text{ FB}) - (1.96 \times 10^{-4} \text{ PB}) + 0.0221 \text{ NA} \quad (\text{Vermorel, 1989}),$$

donde la concentración de FB y PB están expresados en g kg^{-1} de materia orgánica y NA es el nivel de alimentación (NA=1 para mantenimiento). La validación de esta ecuación con resultados obtenidos en cámaras respiratorias mostró, según dicho autor, una diferencia media de 0.1% de EM/ED.

El cálculo del contenido en EM se realiza según la expresión $\text{EM} = \text{EB} \times \text{dE} \times (\text{EM/ED})$, donde dE es la digestibilidad de la energía. Este valor se puede estimar a partir de la

digestibilidad de la materia orgánica, mediante las siguientes ecuaciones (Andrieu y Demarquilly, 1987):

$$\begin{aligned} \text{Forrajes frescos (gramíneas o leguminosas):} \quad dE (\%) &= 0.975 \text{ DMO} (\%) - 0.07 \\ \text{Ensilajes de gramíneas o leguminosas:} \quad dE (\%) &= 1.0263 \text{ DMO} (\%) - 5.72 \\ \text{Ensilaje de maíz:} \quad dE (\%) &= 1.001 \text{ DMO} (\%) - 2.86 \end{aligned}$$

Energía Neta

La Energía Neta de un alimento representa la fracción de la EB del alimento que puede ser utilizada por el animal para el mantenimiento corporal y para propósitos productivos. La energía neta utilizada por un animal para mantenimiento equivale a la producción calórica del animal alimentado a un nivel de mantenimiento en un ambiente termoneutro (AFRC, 1993). La relación entre la energía neta y la energía metabolizable de un alimento representa la eficiencia (k) con la cual la EM es utilizada para mantenimiento y propósitos productivos, siendo (1-k) la proporción de EM perdida por extracalor. El valor de k es variable en función del uso a que vaya dirigido la EN (mantenimiento, producción de leche, engorde, etc) y depende de la relación entre la energía metabolizable y la energía bruta del alimento (metabolicidad de la EB, $q=EM/EB$) (Van Es, 1975). Las ecuaciones de predicción de las eficiencias de utilización de la EM para mantenimiento, producción de leche y engorde utilizadas por los sistemas de evaluación inglés (AFRC, 1993) y francés (Vermorel *et al.*, 1989) se indican en la Tabla 2.24.

Tabla 2.24. Valores de la eficiencia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento, producción de leche en los sistemas de valoración de alimentos inglés y francés

Lactación	Mantenimiento	Crecimiento	Referencia
$k_L=0.420+0.35 q$	$k_M=0.503+0.35 q$	$k_F=0.06+0.78 q$	AFRC (1993)
$k_L=0.463+0.249 q$	$k_M=0.554+0.287 q$ Mantenimiento y crecimiento $k_{MF}=(0.3358 q^2+0.6508 q+0.005)/(0.9235 q+0.2830)$	$k_F=0.06+0.78 q$	Vermorel <i>et al.</i> , (1987)

Mientras que en sistema de valoración inglés el valor energético de los alimentos se expresa en términos de energía metabolizable, en el sistema francés se expresa en términos de energía neta (Vermorel, 1989). En este sistema, el valor de energía neta de un alimento es diferente según se destine a la alimentación de vacas en lactación o animales

en crecimiento y cebo. En el primer caso se relaciona con la energía neta que proporciona 1 kg de cebada estándar para producción de leche consumida sobre mantenimiento por vacas en lactación (1700 kcal), calculándose la Unidad Forrajera Leche (UFL) como $UFL = EM \text{ (kcal kg}^{-1} \text{ MS)} \times k_L / 1700$. Para animales de crecimiento y engorde, el contenido en energía neta de los alimentos se refiere a la cantidad de energía neta suministrada por 1 kg de cebada estándar para mantenimiento y retención de energía en el tejido corporal de un animal en crecimiento alimentado a 1.5 veces mantenimiento (1820 kcal), calculándose la Unidad Forrajera Carne (UFC) como $UFC = EM \text{ (kcal kg}^{-1} \text{ MS)} \times k_{MF} / 1820$.

2.8. El uso de técnicas indirectas para medir el valor energético de forrajes.

La obtención de datos fiables acerca del valor energético de los forrajes es un requisito necesario para la correcta formulación de dietas para rumiantes y contribuye evidentemente a la valorización de los forrajes como alimento. Como se ha visto anteriormente, la mayor variabilidad en el valor energético de un alimento ocurre indudablemente en el valor de la digestibilidad de la energía, mientras que la magnitud de las variaciones en el contenido en energía bruta, pérdidas en orina y metano y en la eficiencia de utilización de la EM son, comparativamente, mucho menores (Alderman, 1979). Los esfuerzos de investigación dirigidos a la caracterización del valor nutricional de los forrajes en los diferentes países de nuestro entorno se ha centrado, en gran parte, en el desarrollo de métodos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de aquellos.

Debe ser tenido en cuenta, tal y señala Van Soest, (1993), que la selección de un sistema de análisis para un programa de evaluación requiere la existencia de una colección de forrajes de valor nutritivo conocido. Entre otros factores, la fiabilidad de los sistemas de regresión depende en gran medida de si los forrajes de valor nutritivo conocido de los que se derivan las ecuaciones reflejan el balance de especies y las interacciones medioambientales características de los forrajes objeto de la predicción. La falta de suficiente variabilidad en la colección de base introducirá un sesgo sistemático en las ecuaciones de predicción respecto a las muestras problema.

La digestibilidad de los forrajes puede determinarse al menos de cuatro diferentes formas: El resultado más exacto y repetible se obtiene mediante ensayos con animales (estudios *in vivo*). Este método no es práctico como una rutina de análisis a causa de las obvias limitaciones de coste, tiempo y mano de obra. Las evaluaciones *in vivo* son, como se ha indicado anteriormente, la “piedra de toque” frente a la cual se deben comparar otros métodos indirectos de estimación. Estos métodos alternativos se basan en: i) relaciones empíricas entre la composición química del forraje y digestibilidad, incluyendo las ecuaciones sumativas, ii) digestión *in vitro* e *in situ* de forrajes y iii) la estimación por el método de espectroscopia de reflectancia por infrarrojos (NIRS). Cada método tiene indudables ventajas y desventajas, siendo importante destacar que los métodos alternativos no predicen el mismo valor absoluto de digestibilidad para un conjunto de muestras dado (importante para la elaboración de raciones para el ganado) e incluso en ocasiones tampoco clasifican los forrajes por el mismo orden de digestibilidad (importante para procesos de selección y evaluación de especies y variedades forrajeras).

2.8.1. Algunas consideraciones en relación a la fiabilidad de los modelos de predicción

Los métodos de estimación requieren el establecimiento de ecuaciones de regresión que relacionan la magnitud a estimar (variable dependiente) con el predictor o predictores (variables independientes). En este caso, los atributos de exactitud y precisión se refieren a la bondad del ajuste obtenido por el modelo en la población de muestras utilizado para desarrollar la regresión (conjunto de calibración) y a la capacidad de aquel para predecir adecuadamente los valores de la variable dependiente en un conjunto de muestras no utilizadas en el proceso de calibración (prueba del modelo obtenido en el conjunto de validación). Hoffman (2003) relaciona la exactitud de una ecuación con la capacidad de predecir adecuadamente el valor medio de un amplio conjunto de muestras, mientras que la precisión está asociada con el error cometido en la predicción del valor de una muestra individual de la población.

El coeficiente de correlación r o el coeficiente de determinación R^2 son índices de la bondad del ajuste de la colección de muestras al modelo, tanto en los procesos de calibración como de validación, pero no dan información acerca de la exactitud y

precisión de la predicción. El error de la regresión puede expresarse como la desviación estándar residual (RSD) o como el error de predicción (SEP), siendo el RSD una medida de la precisión con la que la población usada para generar la ecuación (conjunto de calibración) se ajusta al modelo, mientras que el SEP es una medida del error asociado a la predicción del valor de una nueva observación (Weiss, 1994).

El valor del error de predicción es siempre mayor que la desviación estándar residual. Según Minson (1987) el RSD es el mínimo error aplicable a cualquier valor predicho por la ecuación, y para una regresión lineal simple se calcula como

$$RSD = \sqrt{(SS_y - \frac{(SP_{xy})^2}{SS_x}) / (n - 2)}, \text{ donde } x \text{ es la variable independiente (resultado}$$

analítico), y es la variable dependiente (digestibilidad), n es el número de pares de observaciones del conjunto de calibración, SS es una suma de cuadrados y SP es la suma de productos. Este error se incrementa con la desviación respecto de la media de la variable independiente, pudiendo calcularse el error de predicción de una observación

$$(y_i, x_i) \text{ como } SEP_{y_0} = RSD \sqrt{1 + \frac{(k^2 + 1)}{n}}, \text{ donde } k \text{ es la desviación de } x_i \text{ respecto de la}$$

media de la población $\bar{x}$ en múltiplos de su desviación estándar y n en número de observaciones (Givens *et al*, 1990).

Traxler *et al.*, (1998), citando a Bibby y Totenburg (1977), proponen evaluar la precisión de las estimaciones mediante el análisis del cuadrado medio del error de predicción (CMEP) calculado como la media del cuadrado de las diferencias entre los pares de valores observados y los predichos por el modelo en el conjunto de validación

$$(CMEP = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{i=n} (O_i - P_i)^2). \text{ Por su parte Williams, (1987), en una revisión de la}$$

variables que afectan a la predicción mediante NIRS, indica que el método más común de expresar la exactitud de las estimaciones es la magnitud del valor SEP, calculado como la desviación estándar de la diferencia entre los valores observados O_i y predichos P_i del conjunto de validación. Dicho autor indica que una medida de la exactitud relativa del modelo la constituye el ratio entre la desviación estándar de los valores observados (s_o) y el error estándar de predicción ($REP = s_o / SEP$), o bien el error relativo al rango (RER),

computado como $RER = R_o / SEP$, donde R_o es la diferencia entre los valores máximo y mínimo de la variable dependiente. Los estadísticos REP y RER son especialmente útiles cuando se comparan modelos obtenidos con diferentes poblaciones o con diferentes variables independientes, de forma que aquellos modelos que muestren los valores más elevados de dichos estadísticos serán los de mayor capacidad predictiva. Williams y Sobering (1996) sugieren, para las calibraciones NIRS, un valor mínimo recomendado del error de predicción SEP de 0.1 veces el rango de la población para la variable a predecir.

2.8.2. Ecuaciones empíricas

El uso de ecuaciones empíricas es una de las formas más comunes de estimar la digestibilidad de un forraje, toda vez que la determinación de la composición química del mismo es más rápido y menos costoso que la determinación de la digestibilidad por métodos *in vitro* o *in situ*. Las ecuaciones se derivan de regresiones establecidas entre la digestibilidad y la concentración de una determinada fracción química, usualmente FND, FAD, Celulosa, Fibra Bruta, Lignina o proteína. En general, la fibra está correlacionada negativamente con la digestibilidad, mientras que el contenido en PB muestra una correlación positiva (Minson, 1982; Fonnesbeck *et al.*, 1984). Una alta correlación entre un constituyente de la materia seca de un forraje y la digestibilidad de éste no es necesariamente prueba de la existencia de una relación directa causa-efecto, ni de la suficiente precisión de las estimaciones de la ecuación que utiliza dicho parámetro como predictor (Weiss, 1994). Conviene recordar asimismo que la falta de estandarización de las determinaciones de los predictores suele conllevar la inaplicabilidad de los modelos obtenidos fuera del ámbito de influencia del laboratorio donde fueron obtenidos (ENFIC, 1997).

Por otra parte, puesto que las ecuaciones representan relaciones estadísticas, son dependientes de la población donde fueron obtenidas. Los coeficientes de regresión están basados en la colección de datos a partir de la cual se generó el modelo, de forma que una población diferente, incluso para el mismo tipo de forraje, puede producir coeficientes significativamente diferentes. Una muestra de la dificultad de la obtención de ecuaciones de tipo general para un conjunto amplio de forrajes es puesta de manifiesto por Weiss (1994), quien indica que en tres ecuaciones obtenidas para estimar la digestibilidad *in*

vivo (%) de gramíneas pratenses a partir de la concentración de FAD (%MS) las pendientes oscilaron entre -1.1 y -1.4 y el intercepto entre 106 y 118. Minson (1987) subraya la importancia de generar ecuaciones de predicción para poblaciones de grandes grupos de forrajes bien definidos, en particular forrajes frescos y conservados de gramíneas y leguminosas pratenses y maíz. Coincidiendo con esta opinión, Andrighetto *et al.*, (1992), estudiando la fiabilidad de diferentes métodos de estimación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes pratenses frescos y conservados como henos y ensilaje indican que el uso de ecuaciones específicas para cada tipo de forraje mejora substancialmente la precisión de las estimaciones, independientemente del método utilizado en la predicción.

Dentro de cada clasificación, sin embargo, las condiciones de medio y clima afectan tanto a la composición química y digestibilidad del forraje como a las relaciones entre dichas variables, por lo que ecuaciones generadas para un tipo de forraje en una región específica serán más exactas y precisas en las poblaciones de dicha zona que ecuaciones generadas en otras condiciones geográficas. Para ensilajes de fleo y festuca pratense cultivados en la misma zona geográfica de Finlandia, Korva y Kuori, (1986) y Nousiainen *et al.*, (2003) encuentran que ecuaciones de predicción basadas en la composición química del forraje explicaban un alto porcentaje de la varianza de la digestibilidad *in vivo* (91%, con FB y PB como predictores en el primer caso y 80%, con FAD como predictor, en el segundo). La ampliación de la variabilidad en cuanto al tipo de especies, condiciones de cultivo y de medio suele reducir invariablemente la precisión de las estimaciones. Por ejemplo, De Boever *et al.*, (1996) no encuentra correlaciones significativas entre los contenidos de FB, FAD y PB con la digestibilidad *in vivo* de 64 muestras de ensilajes de hierba de praderas compuestas por diversas especies y cosechadas en primeros y segundos cortes entre los años 1972 y 1991 en una misma localidad de Bélgica. Para dos poblaciones de ensilaje de hierba de gramíneas donde el raygrás inglés era la especie predominante, procedentes de zonas geográficas diferentes del Reino Unido, Barber *et al.*, (1990) observaron que la varianza explicada de la DMO *in vivo* por ecuaciones que utilizaban el contenido en fibra ácido detergente modificada (Clancy y Wilson, 1966) como único predictor oscilaba entre 0.24 y 0.54% y que la línea de regresión difería significativamente en el intercepto en cerca de 8 unidades porcentuales.

La concentración de FAD en la materia seca es el parámetro utilizado más frecuentemente para predecir digestibilidad *in vivo*, en parte debido a la facilidad y bajo coste de la determinación analítica (Weiss, 1994). Como indica Minson (1987), los métodos de predicción más simples suelen ofrecer los errores de predicción más elevados. Se han observado correlaciones entre FAD y DMS *in vivo* que oscilan entre -0.5 y -0.95 y errores estándar de predicción entre 2 y 6 unidades (%), para diversos tipos de forraje, frescos y conservados (Minson, 1982). Según Adesogan (2002), en la predicción del contenido en energía metabolizable de ensilajes de hierba en el Reino Unido a partir del contenido en fibra ácido detergente modificada el coeficiente de correlación medio es únicamente de -0.34 y el valor SEP de 1.3 MJ kg^{-1} (equivalente a 8.1 unidades de digestibilidad, expresada en $\text{g MOD g}^{-1} \text{ MS}$). Para este tipo de forraje Offer (1993) indica que el error de predicción máximo para considerar útil un método de estimación es del orden de 3 ud ($\text{g MOD g}^{-1} \text{ MS}$), lo cual es difícilmente alcanzable con ecuaciones empíricas basadas en la fibra. Por otra parte, las ecuaciones basadas en FND o FB no son más fiables, en general, que las que utilizan FAD como predictor, mientras que la utilización de LAD suele generar estimaciones ligeramente más precisas (De Boever *et al*, 1996; De Boever *et al*, 1999). A pesar de esta falta de precisión, Weiss (1994) indica que el contenido en fibra puede ser útil para predecir digestibilidad, una vez que la ecuación fue convenientemente validada, cuando las muestras problema son del mismo tipo de forraje que las muestras utilizadas para generar la ecuación y la concentración en fibra de la muestra problema no difieren substancialmente del correspondiente valor medio de la población de calibración, lo cual limita notablemente el alcance general de este tipo de ecuaciones.

2.8.3. Métodos *in vitro* e *in situ*

Métodos *in vitro*

El método Tilley-Terry (1963), basado en la incubación de las muestras de alimento en líquido ruminal y pepsina, intenta simular la digestión ruminal y gástrica en el animal y es uno de los más útiles para la predicción de digestibilidad *in vivo* de forrajes (Clancy y Wilson, 1966; Van Soest, 1976; de Boever *et al.*, 1988). El principal inconveniente de esta técnica es la laboriosidad de su determinación, lo que se acomoda mal con las labores de estimación rutinaria de la digestibilidad en un laboratorio y su dependencia de una

fuelle de inóculo ruminal, proporcionada por un animal donante (ovino o vacuno), con la consiguiente necesidad de instalaciones y mano de obra para su cuidado. Por otra parte, la creciente sensibilidad de la sociedad por el bienestar animal choca con el mantenimiento de animales fistulados, siendo crecientemente difícil en algunos países el obtener los permisos necesarios para preparar quirúrgicamente a los animales (Adesogan, 2002).

Los resultados de la técnica se ven también afectados por la variabilidad y calidad del líquido ruminal, influida, entre otros factores, por la especie animal, el tipo de dieta y el momento de extracción (Weiss, 1994), así como por la medida en la cual se mantienen las condiciones de anaerobiosis, el pH óptimo y la temperatura del inóculo durante su manipulación (Clancy y Wilson, 1963). Algunos trabajos han mostrado que la capacidad predictiva del método Tilley-Terry es menor para forrajes ensilados que para forrajes frescos (Givens *et al.*, 1995) y, a su vez, para ensilajes de maíz comparados con ensilajes de hierba (De Boever *et al.*, 1988). A causa de la variabilidad de la técnica analítica y de los factores de variación atribuidos al animal donante, deben desarrollarse ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad *in vivo* a partir de los datos obtenidos *in vitro*. El error de predicción se reduce notablemente cuando se desarrollan ecuaciones específicas para distintos tipos de forrajes, frescos y conservados (Weiss, 1994; De Boever *et al.*, 1996; De Boever *et al.*, 1997; Givens *et al.*, 1993).

Algunas técnicas que reemplazan el inóculo ruminal con celulasas comerciales han mostrado su utilidad en la estimación de la digestibilidad *in vivo* de forrajes (Hartley *et al.*, 1974; Jones y Hayward, 1973; Jones y Hayward, 1975). Comparados con el método de incubación con líquido ruminal, la medida de la solubilidad enzimática es por lo general más sencilla, demanda menos tiempo de análisis y no requiere animales fistulados. Sin embargo el principal problema de esta técnica es la variabilidad en la actividad de las preparaciones enzimáticas, lo que puede afectar seriamente a su reproducibilidad, recomendando De Boever *et al.*, (1988) la utilización de muestras estándar en las diferentes tandas de ensayos. Las estimaciones de digestibilidad obtenidas mediante las técnicas de solubilidad enzimática son con frecuencia más bajas que los correspondientes valores procedentes de ensayos *in vivo* por lo que se requieren ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad a partir de la solubilidad enzimática (Weiss, 1994). Los coeficientes de regresión, además de por la fuente de

enzima, están afectados por el tipo de forraje y por el momento de cosecha (de Boever *et al.*, 1988; Givens *et al.*, 1993) por lo que deben ser elaboradas distintas relaciones predictivas para los diferentes tipos de forrajes. Por otra parte, las diferencias en el procedimiento de análisis han contribuido a limitar la adopción generalizada de la técnica. Realizado habitualmente en dos etapas, la aplicación de la celulasa puede ser precedido por un tratamiento con pepsina o con detergente neutro (Jones y Hayward, 1975; Aufrère, 1982; Dowman y Collins, 1982; Riveros y Argamentería, 1987; De Boever *et al.*, 1988). Otras modificaciones incluyen el pretratamiento con amilasa o gammanasa para alimentos ricos en almidón y extracto etéreo, respectivamente. Mientras que algunos resultados indican que el procedimiento pepsina-celulasa es más exacto y preciso, otros son favorables al método neutro detergente-celulasa, el cual requiere un menor tiempo de análisis comparado con el anterior (Dowman y Collins, 1982; Adesogan, 2002). Givens *et al.*, (1990) observaron que los valores de solubilidad enzimática (métodos FND-celulasa y pepsina-celulasa) de una amplia muestra de gramíneas pratenses (n=173) estaban afectados significativamente por la especie vegetal a la que pertenecía la muestra, mientras que los correspondientes a la incubación *in vitro* con líquido ruminal no lo estaban lo que, en opinión de los autores, confería un mayor atractivo a este último método para la estimación de la digestibilidad *in vitro* por su mayor robustez, si bien los métodos enzimáticos eran más precisos (valores de SEP: ± 2.8 , ± 3.1 y ± 3.5 para NDF-celulasa, pepsina-celulasa e incubación con líquido ruminal, respectivamente). Es interesante señalar el hecho de que el poder predictivo de los tres métodos *in vitro* fue significativamente aditivo cuando se incluían en ecuaciones multivariantes para la predicción de DMO *in vivo*, hecho que había sido observado previamente en el caso de ensilajes de hierba (Givens *et al.*, 1989).

Como resultado de un ring-test en el que se compararon los resultados de la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de 27 muestras de hierba (incluyendo 6 estándares de digestibilidad *in vivo* conocida) mediante las técnicas de solubilidad enzimática (dPC: pepsina-celulasa) e incubación con líquido ruminal (dTT: Tilley-Terry) según las rutinas habituales de 12 laboratorios europeos (Van Waes *et al.*, 1997), se obtuvieron valores medios (y desviación estándar entre laboratorios) de 66.8% (± 4.3) y 74.4 (± 5.6); 71.0% (± 1.5) y 75.6% (± 2.2) para dPC y dTT, valores no corregidos y corregidos por los estándares de digestibilidad conocida, respectivamente. De entre las

conclusiones del estudio, se destaca la mayor reproducibilidad de la técnica de solubilidad enzimática, el incremento de reproducibilidad mediante la corrección con muestras de digestibilidad conocida y el mayor valor absoluto de la estimación de DMO *in vivo* mediante el método de incubación con líquido ruminal (+7.6 y +4.6 unidades porcentuales) para los valores sin corregir y corregidos, respectivamente.

Método *in situ*

La desaparición ruminal de la materia seca (o de sus componentes) de un forraje (técnica *in situ* o *in sacco* se realiza incubando la muestra colocada en bolsas de tejido sintético que permanecen suspendidas en el rumen de un animal canulado durante un tiempo variable (Ørskov *et al.*, 1980), siendo ampliamente utilizada debido a que es una de las pocas técnicas que permiten describir la cinética de la degradación del alimento en el rumen. El método *in situ* ha permitido mejorar substancialmente el conocimiento del suministro de N al animal rumiante y el papel de la síntesis microbiana en el rumen, formando parte del sistema de descripción del valor nitrogenado de los alimentos y las necesidades en N de los animales en diversos países (Ørskov, 2000). Mientras que la obtención de datos acerca de la cinética de digestión en el rumen requiere la incubación de las muestras durante diferente tiempo, puede obtenerse una estimación de la digestibilidad de un forraje realizando una simple incubación con una duración igual al tiempo de retención esperado para el alimento problema en el animal, a un determinado nivel de alimentación. Coincidiendo con resultados publicados por otros autores, Flachowsky y Schneider (1992) y Judkins *et al.*, (1990), observaron que la desaparición de materia seca en incubaciones de 48 o 72 se correlacionaba significativamente con la digestibilidad *in vivo* y permitía clasificar diferentes forrajes en cuanto a su digestibilidad *in situ* de forma consistente con los datos *in vivo*. Mientras que la desaparición de MS en la muestra incubada durante 72 horas era sistemáticamente superior al correspondiente valor de digestibilidad *in vivo* en los dos trabajos antes citados, Flachowsky y Schneider (1992) indican que la desaparición de MS a 48 h era numéricamente muy semejante al valor de DMS *in vivo*. A pesar de esta observación, es frecuente observar diferencias numéricas relativamente elevadas, por lo cual, según indica Weiss (1994), las determinaciones de desaparición *in situ* no deben ser tomadas como estimaciones directas de la digestibilidad de la materia seca, debiendo ser desarrolladas ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad *in vivo* a partir de los datos *in situ*. La incubación directa de

las muestras de forraje en el rumen del animal representa una ventaja frente a los métodos *in vitro*, que intentan simular dichas condiciones en el laboratorio. Sin embargo, según indican Noziere y Michalet-Doreau (2000), entre otros autores, la técnica *in situ* adolece de serios problemas de repetibilidad y reproducibilidad, ya que los resultados obtenidos están afectados por el método de preparación de la muestra, el procedimiento de lavado y secado de las bolsas, las pérdidas de partículas no degradadas de la bolsa, la contaminación microbiana de la muestra, el lugar y secuencia de la incubación, la especie animal utilizada y dieta ofrecida, así como la relación entre el tamaño de muestra incubada y la superficie de la bolsa, lo que dificulta sobremanera la estandarización de los resultados. En diversos ensayos realizados con ensilajes de hierba y maíz se ha observado que la capacidad predictiva del método *in situ* para la estimación de la digestibilidad *in vivo* fue superior a la obtenida mediante incubación con líquido ruminal (Aerts *et al.*, 1997; Ferret *et al.*, 1997) o mediante solubilidad enzimática (Barber *et al.*, 1990), mientras que en otras ocasiones se ha mostrado inferior a la de los métodos *in vitro* (Basery y Camping, 1988; Mbwire y Uden, 1991) e incluso a la de ecuaciones empíricas basadas en la concentración de fibra (Von Keyserlingk y Mathison, 1989).

2.8.4. Técnica NIRS

La técnica de espectroscopía de reflectancia en la región del infrarrojo cercano es un método analítico físico, basado en la absorbancia de la luz en determinadas regiones de longitud de onda que se relacionan con la presencia de determinados enlaces químicos característicos de los constituyentes de los alimentos. Comparado con otros métodos, la técnica NIRS es única a causa de su naturaleza no destructiva, no requiere reactivos (por lo cual no es polucionante) y caracteriza la totalidad de la composición del forraje más bien que determinados componentes de interés (Williams, 1987; Williams y Sobering, 1996). Además esta técnica es especialmente adecuada para el procesado de grandes números de muestras y el coste del análisis es reducido al ser poco demandante de mano de obra, a pesar del coste relativamente elevado del equipo. La potencialidad del método NIRS para la determinación rápida y fiable de la calidad del forraje es conocida desde mediados de los años 70 (Norris *et al.*, 1976) hasta la actualidad, existiendo numerosos trabajos, en particular en los últimos 15 años, que muestran su utilidad en la predicción de un amplio rango de parámetros de calidad de los forrajes a composición química de los

forrajes (Deaville y Flynn, 2000). La obtención de estimaciones fiables por NIRS está ligada, en general, a la obtención de calibraciones para grupos específicos de forrajes desaconsejándose la utilización de las predicciones sin una adecuada validación (Adesogan, 2002). Para ensilajes de hierba, las predicciones de la digestibilidad *in vivo* mediante NIRS superan en exactitud y precisión a la alcanzada por cualquier otro método indirecto (Adamson y Givens, 1989; Barber *et al.*, 1990 ; De Boever *et al.*, 1996). A una similar conclusión llegan Dardenne *et al.*, 1993 y Andrieu *et al.*, 1999 para planta entera de maíz, antes de ensilar, mientras que para ensilajes de este forraje De Boever *et al.*, (1997) observan que la capacidad predictiva de la técnica NIRS no superó a la de los métodos *in vitro* y a ecuaciones empíricas basadas en el contenido en FAD del ensilaje.

En cualquier caso, debe ser recordado que la técnica NIRS requiere ineludiblemente la calibración con muestras de composición química y valor nutricional conocidos, determinados por métodos de referencia. Por lo tanto la validez de los datos obtenidos mediante NIRS nunca será superior a la correspondiente a las colecciones utilizadas para establecer las calibraciones (Beever y Mould, 2000). La técnica requiere un conjunto de datos suficientemente amplio y una actualización frecuente, que debe representar, en cuanto a la naturaleza de las muestras y su variabilidad, a la población de muestras objeto de la predicción. El coste de obtención de las muestras de calibración/validación y su mantenimiento es, por tanto, el factor principal que limita la adopción generalizada de la técnica, en particular para la predicción del valor energético de forrajes. Esto es puesto de manifiesto por Dardenne *et al.*, (1993), quienes indican la necesidad de que el espectro de las muestras cuya predicción de digestibilidad *in vivo* se requiere esté incluido dentro del espacio definido por las muestras de calibración. Esto requiere el mantenimiento y ampliación anual de los modelos predictivos, lo cual es sumamente demandante de recursos en la selección y análisis de nuevas muestras por los métodos de referencia. Por esta razón los citados autores aconsejan, en determinados casos, centrar los esfuerzos en la predicción por NIRS de la digestibilidad *in vitro* (solubilidad enzimática) de la materia orgánica o, preferiblemente, de la pared celular del forraje con la mayor exactitud y precisión posibles, e incorporar esta predicción en modelos matemáticos robustos que ligen dicho criterio con la digestibilidad *in vivo*.

3. CAPÍTULO I

CALIDAD DEL ENSILAJE DE HIERBA EN UNA MUESTRA DE EXPLOTACIONES LECHERAS GALLEGAS: ESTUDIO DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN

A partir de 1991 se inició un trabajo de colaboración entre el CIAM, los Servicios Técnicos de la Cooperativa LEYMA (A Coruña), y la Cooperativa COREN (Ourense), apoyado en el Proyecto INIA-9626. Su objetivo era el estudio de la relación entre la metodología de realización del ensilado de hierba en una muestra de explotaciones lecheras gallegas y la calidad del ensilaje destinado a la alimentación del ganado vacuno, a fin de detectar puntos críticos y proponer medidas para su corrección. Dicho trabajo se continuó, desde 1997 hasta 2002, con la colaboración del Laboratorio Interprofesional de Análisis de Leche de Galicia (LIGAL) y la empresa de suministros agrarios PROGANDO, S.L., de A Coruña. En esencia, el trabajo consistió en: 1) toma de datos a pie de finca sobre las características del ensilado; 2) toma de muestras, con sonda, de los silos a partir de los 1,5-2 meses de su realización; 3) análisis químico de las muestras de ensilaje; 4) estudio de la relación entre la metodología de ensilado y el resultado de los análisis.

3. 1. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1. Explotaciones incluidas en el estudio, toma de datos de campo y muestreo de los silos

Las explotaciones incluidas en este estudio pertenecían, durante los seis primeros años del mismo, a productores que realizaban las entregas de leche a la Cooperativa LEYMA, y los seis siguientes a explotaciones lecheras clientes de la empresa PROGANDO S.L., que enviaban muestras de ensilaje al LIGAL para su análisis. Prácticamente todas ellas estaban radicadas en la provincia de A Coruña, aunque la muestra incluía algunas explotaciones de la provincia de Lugo. Dentro de las actividades de los Servicios Técnicos de la citada cooperativa figuraba un programa de mejora de la calidad de los ensilajes de hierba, iniciado en 1991 y finalizado en 1997, al que voluntariamente podían acogerse los ganaderos que así lo deseaban en cada campaña de ensilado de hierba. Dicho programa fue retomado a partir de 1998 por el Servicio Técnico de PROGANDO, S. L.

La información acerca de las características del ensilado fue obtenida mediante entrevista directa con los ganaderos, a pie de finca, en el momento de realizar el muestreo de los silos, el cual tuvo lugar durante los meses de verano. Además de las características de la explotación, relativas a su ubicación, número de vacas y producción de leche, superficie forrajera total, superficie destinada a ser ensilada y fertilización aportada, se tomaron datos acerca del método de ensilado, tipo de hierba, fecha de corte y climatología durante las operaciones de ensilado. El contenido del cuestionario y la codificación de la información se resume en la Tabla 3.1.1 Se hace notar que durante los años 1998 a 2001 sólo se recogió información relativa al número de corte, tipo de hierba ensilada, realización del presecado y uso de aditivo, mientras que en el cuestionario correspondiente al año 2002 se recogió información complementaria acerca de las características de los silos en los que se tomaron muestras.

Tabla 3.1.1 Variables de clase relativas a la metodología de ensilado contenidas en el cuestionario correspondiente a cada muestra de ensilaje de hierba

Variable	Codificación
1.- Número de corte	1.1.- Primer Corte (cosecha del primer ciclo en primavera-verano) 1.2.- Segundo Corte (cosecha del rebrote en primavera-verano)
2.- Tipo de hierba ensilada	2.1.- Cultivo de Raigrás italiano (<i>Lolium multiflorum</i>) alternativo o no alternativo 2.2.- Cultivo de Raigrás inglés (<i>Lolium perenne</i>) 2.3.- Praderas sembradas de Raigrás inglés y trébol (<i>Trifolium spp.</i>) 2.4.- Praderas envejecidas, con predominio de gramíneas no sembradas 2.5.- Mezclas de diferentes tipos de hierba en el mismo silo
3.- Realización de Presecado	3.1.- Presecado (hierba segada dejada en el campo con el propósito de reducir el contenido de humedad de forma natural por 6 o más horas) 3.2.- Corte directo (hierba cosechada inmediatamente tras la siega)
4.- Climatología durante el ensilado	4.1.- Presencia de lluvia en algún momento de las operaciones 4.2.- Ausencia de lluvia
5.- Uso de Aditivos	5.1.- No usa aditivos 5.2.- Ácido Fórmico o mezcla de Fórmico y Formol 5.3.- Sales de Ácido 5.4.- Inoculantes
6.- Tipo de Cosechadora	6.1.- Autocargador convencional o no picador (5-11 cuchillas) 6.2.- Autocargador picador (12 a 40 cuchillas) 6.3.- Cosechadora de mayales simple 6.4.- Cosechadora picadora de precisión (arrastrada o autopropulsada) 6.5.- Rotoempacadora
7.- Tipo de Silo	7.1.- Almiar, sobre tierra 7.2.- De obra de fábrica, tipo trinchera o bunker

El muestreo de los silos que, por indicación del ganadero se iban a destinar a la alimentación del ganado de leche, se realizó mediante una sonda construida con tubo de acero inoxidable de 1 mm de espesor, 30 mm de diámetro interior y 1600 mm de longitud, accionada manualmente por el operador. Las muestras se tomaron en uno o dos puntos de una de las diagonales del silo, en toda la altura de la masa de forraje, una vez transcurridas 6 semanas, como mínimo, desde la realización del ensilado. Para las explotaciones en las que las operaciones principales de ensilado se realizaban mediante rotoempacadora, el muestreo se realizó en tres rotopacas tomadas al azar de entre las que presentaban el cierre inalterado, extrayéndose el forraje mediante una perforación con la sonda a lo largo del diámetro correspondiente al punto medio de su altura. Tras ser convenientemente mezcladas, las muestras correspondientes al mismo silo, o en su caso al mismo grupo de rotopacas, fueron introducidas en una bolsa de plástico, que una vez etiquetada fue cerrada herméticamente y trasladada al laboratorio en nevera portátil. En general, la recepción de las muestras en el laboratorio se realizó antes de las 24 horas de la extracción. En caso contrario, se procedió a su congelación hasta su envío.

3.1.2. Análisis químico de las muestras y expresión de su valor energético y nitrogenado

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron homogeneizadas y divididas en dos fracciones, determinándose el contenido en materia seca (MS) en una de las alícuotas mediante secado en estufa a 80 °C durante 16 h y el pH del ensilaje sobre la submuestra de ensilaje fresco. Sobre la muestra seca y molida a 1 mm se determinó el contenido en humedad residual y cenizas (CZ) mediante desecación a 102 °C y posterior calcinación secuencial a 460 °C en un analizador termogravimétrico MAC500 de Leco (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EEUU), siendo expresado el valor de Materia Orgánica (MO) como 100-CZ. El contenido en fibra ácido detergente (FAD, expresado con cenizas) se determinó según el procedimiento de Goering y Van Soest (1970), adaptado al digestor Fibertec System (Foss Tecator). Estos métodos de referencia para la determinación de CZ y FAD fueron utilizados a lo largo de los años 1991 a 1996, mientras que a partir de 1997 la composición química de los ensilajes se estimó mediante NIRS sobre las muestras secas y molidas de ensilaje, según lo descrito por Castro *et al.*, (1995) y Castro *et al.*, (1996). La concentración de proteína bruta se expresó como $PBt = Nt \times 6.25$, siendo Nt el contenido en

N de la muestra fresca de ensilaje, determinado en los años 1991 a 1996 por digestión macro Kjeldahl, según el método oficial n° 3 del MAPA (1995), seguido por destilación y determinación volumétrica del ión amonio y estimado por NIRS a partir de 1997. En la expresión de los contenidos de materia seca, cenizas, proteína y fibra no se tuvo en cuenta la pérdida de volátiles durante el secado de las muestras en la estufa.

La digestibilidad de la materia orgánica de las muestras se estimó por regresión mediante la ecuación $DMO(\%) = 82.58 - 1.153 \text{ FAD} - 0.03669 \text{ PB}^2 + 0.06807 \text{ FAD PB}$, obtenida por Flores (datos no publicados) a partir de 139 muestras de ensilajes de hierba de digestibilidad *in vivo* conocida (valor medio 65.7%, $R^2=0.57$; $RSD=\pm 4.5$, $p<0.0001$), donde PB y FAD, determinados sobre muestra de ensilaje seca en estufa a 80 °C durante 16 h, están expresados en porcentaje sobre materia seca no corregida por pérdida de volátiles durante el secado. A partir de 1997 la DMO del ensilaje se estimó por NIRS según Castro *et al.*, (1996).

Dado que los técnicos que prestaban servicio de asesoramiento a las explotaciones utilizaban el sistema de alimentación del INRA francés para la elaboración de las raciones del vacuno lechero se calculó la concentración de las muestras de ensilaje en energía neta (como Unidades Forrajeras Leche) a partir de la digestibilidad de la materia orgánica y del contenido en cenizas, asumiendo que por cada kg de materia orgánica digestible ingerida se producen 3.84 Mcal de energía metabolizable y un contenido medio en energía bruta de las muestras de ensilaje de 4.56 Mcal kg^{-1} MS según la expresión siguiente (Vermorel *et al.*, 1987):

$UFL (\text{kg}^{-1} \text{ MS}) = [\text{EM} \times (0.463 + 0.249 (\text{EM}/4.56))] / 1.7$, donde EM se expresa en Mcal kg^{-1} MS. Los valores de Proteína Digestible en el Intestino (PDIN, PDIE) fueron calculados según Vérité y Peyraud, (1989) asumiendo un valor de la degradabilidad teórica *in situ* del nitrógeno del ensilaje de 0.75 (g g^{-1}) y un contenido en grasa bruta (%MS) de 3.0, según las expresiones $\text{PDIN} = 0.5883 \text{ PBt}$ y $\text{PDIE} = 0.1532 \text{ PBt} + 0.0928 (\text{MOD-PF}-3)$, donde PDIN y PDIE se expresan en porcentaje de la materia seca, MOD es el contenido en materia orgánica digestible (%MS) y PF es el contenido en productos de fermentación de los ensilajes (%MS). Este último valor se estimó como:

$\text{PF}(\% \text{MS}) = 59.13 - 13.671 \text{ pH} - 0.459 \text{ MS} + 1.1136 \text{ pH}^2 + 0.0032 \text{ MS}^2$ (valor medio de PF 11.4 %MS, $R^2=0.53$, $RSD=\pm 2.8$, $p<0.0001$). Dicha ecuación fue obtenida por Flores (datos no publicados) a partir de 1184 ensilajes de hierba cuya concentración en ácidos

grasos volátiles, ácido láctico y etanol se determinó a partir del extracto de 50 g de muestra fresca de ensilado macerada a temperatura ambiente durante 2 horas en 150 ml de agua destilada, mediante cromatografía de gases según una modificación del método de Stern y Endres (1991), realizada por M. Cardelle (Cardelle, comunicación personal) y el contenido en NH_3 usando un electrodo selectivo (Orion).

3.1.3. Calidad fermentativa de los ensilajes y establecimiento de rangos de calidad

La estimación de la calidad fermentativa de los ensilajes se realizó mediante la comparación entre el valor del pH real de las muestras y el pH de estabilidad (pHe) obtenido a partir de la ecuación $\text{pHe} = 0.0359 \text{ MS} + 3.44$, propuesta por Haigh (1987) para ensilajes de hierba, siendo MS el contenido en materia seca (%) del ensilaje. Convencionalmente se consideró que, cuando la diferencia entre el pH de la muestra y el de estabilidad ($\text{pHdif} = \text{pH} - \text{pHe}$) era inferior a 0.10 unidades, la conservación era adecuada, mientras que aquellas muestras cuyo valor pHdif era superior a 0.25 unidades presentaban una mala calidad de conservación.

De la misma forma se establecieron criterios de calidad de los ensilajes en cuanto al valor de digestibilidad de la materia orgánica y su contenido en proteína bruta, considerándose que las muestras con valores de DMO (%) ≥ 67.0 y PBt (%MS) ≥ 13.0 presentaban un valor energético y proteico satisfactorio, mientras que aquellas con un valor de DMO (%) < 62.0 o un contenido en PBt (%MS) < 11 eran, a este respecto, de calidad deficiente.

En la Tabla 3.1.2. se muestra el resultado de la integración de los dos criterios de calidad citados (relacionados con el valor nutricional del forraje en pie en el momento de la cosecha y a la eficiencia de la tecnología de ensilado aplicada) en un solo índice sintético que permitió establecer una clasificación global de los ensilajes obtenidos por los ganaderos, atendiendo al contenido energético y proteico de los mismos y a su calidad fermentativa, de especial interés por su sencillez bajo el punto de vista de asesoramiento técnico a las explotaciones.

Tabla 3.1.2. Clasificación de los ensilajes de hierba según la digestibilidad de la materia orgánica y contenido en proteína bruta de las muestras y a su calidad fermentativa

Calidad fermentativa	Contenido energético y proteico		
	Satisfactorio DMO $\geq$ 67 y PBt $\geq$ 13	Aceptable 62 $\leq$ DMO $<$ 67 ó 11 $\leq$ PBt $<$ 13	Deficiente DMO $<$ 62 ó PBt $<$ 11
Satisfactoria pHdif $\leq$ 0.10	Calidad global Satisfactoria	Calidad global Aceptable	Calidad global Deficiente
Aceptable 0.10 $<$ pHdif $\leq$ 0.25	Calidad global Aceptable	Calidad global Aceptable	Calidad global Deficiente
Deficiente pHdif $\geq$ 0.25	Calidad global Deficiente	Calidad global Deficiente	Calidad global Deficiente

3.1.4. Análisis estadístico

A lo largo de las 12 campañas de ensilado en las cuales se obtuvo información de los ensilajes producidos en las explotaciones se obtuvieron un total de 2632 muestras procedentes de aproximadamente 100 explotaciones en cada año donde se habían muestreado dos silos, uno de primer corte y otro de segundo. El modelo de análisis elegido para el estudio de las diferentes fuentes de variación de la calidad de los ensilajes se vio condicionado por dos aspectos importantes que son reflejo de los cambios sufridos por el sector agroindustrial lechero gallego en la última década del pasado siglo: a) la elevada tasa de desaparición de explotaciones lecheras registrado en el período considerado motivó que un número muy reducido de explotaciones tuviesen representación de forma continuada en los doce años de estudio, por lo que se consideró que la muestra anual se correspondía con un muestreo aleatorio de la población de silos de hierba realizado en las explotaciones lecheras y, b) los cambios en la dirección de la empresa LEYMA y la consiguiente reorientación en la gestión de la misma implicó una paulatina desaparición de los servicios de asesoramiento técnico a los ganaderos por lo que durante las campañas correspondientes al período 1998-2001 no se dispuso de información completa acerca de la tecnología de ensilado aplicada en las explotaciones, aspecto subsanado en el último año de estudio con la colaboración de la empresa PROGANDO, S. L.

Análisis de frecuencias. Los análisis de frecuencias entre diferentes factores de clasificación se realizaron utilizando el procedimiento FREQ del paquete estadístico SAS

v. 8.1, (SAS Institute, 2000), que incluyeron tests de independencia (Chi-cuadrado) entre los diferentes niveles de dichos factores.

Análisis de correlación y regresión. Para el estudio de las correlaciones entre diferentes parámetros se utilizó el procedimiento CORR, siendo obtenidas ecuaciones de regresión utilizando los procedimientos STEPWISE, GLM y NLIN (SAS Institute, 2000).

Análisis de varianza. Dada la existencia de información para todas las muestras de ensilaje acerca del número de corte y el año de ensilado, el modelo elegido para el análisis del efecto de los diferentes factores fue el de parcelas divididas, tomando el factor año como aleatorio (bloque), donde la parcela principal era el número de corte, correspondiendo a la subparcela los restantes factores fijos a estudiar (tipo de pasto, presecado, climatología, aditivos, tipo de cosechadora y tipo de silo). El análisis de varianza (ANOVA) se realizó mediante el procedimiento GLM (SAS Institute., 2000), utilizando los siguientes modelos:

1. $y = \mu + \alpha_i C + \beta_j A + (\alpha\beta)_{ij} C \times A + \varepsilon_{ij}$ (análisis general de los efectos del n° de corte y del año, donde C es el número de corte y A el año)
2. $y = \mu + \alpha_i C + \beta_j A + (\alpha\beta)_{ij} C \times A + \gamma_k F1 + (\alpha\gamma)_{ik} C \times F1 + \varepsilon_{ijk}$ (un solo factor fijo, además del n° de corte incluido en el modelo, donde C es el número de corte, A el año y F1 el factor fijo a analizar)
3. $y = \mu + \alpha_i C + \beta_j A + (\alpha\beta)_{ij} C \times A + \gamma_k F1 + \delta_m F2 + (\alpha\gamma)_{ik} C \times F1 + (\alpha\delta)_{im} C \times F2 + (\gamma\delta)_{km} F1 \times F2 + \varepsilon_{ijkm}$ (dos factores fijos, además del n° de corte incluidos en el modelo, donde C es el número de corte, A el año y F1 y F2 los factores fijos a analizar)

La separación de medias entre los diferentes niveles de un factor se realizó, cuando el test F del ANOVA para dicho factor resultó significativo ($p < 0.05$), calculando la diferencia mínima significativa (dms) entre las medias de dos niveles cualesquiera de dicho factor, al 5% de significación, la cual se construyó a partir de la expresión

$dms = \sqrt{2MSE / n} \times t_{0.025, gle}$, donde MSE es el cuadrado medio del error utilizado en el denominador del test F del ANOVA, gle los grados de libertad de dicho error y n el número de observaciones medio de cada nivel del factor cuyo efecto se analiza.

Componentes de la varianza. Mediante el procedimiento MIXED (SAS Institute., 2000) se estudiaron los componentes de la varianza de la digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y del valor pHdif de las muestras de ensilaje, utilizando para ello las observaciones que contaban con información acerca de todas las variables de clase relacionadas en la Tabla 3.1.1, utilizando un modelo factorial que incluyó el efecto año y localidad (ayuntamiento al que pertenecían las explotaciones donde se tomaron las muestras) así como los factores número de corte, tipo de hierba, madurez (expresada en función de la fecha de corte), realización de presecado, presencia de lluvia durante las labores de ensilado, uso de aditivo, tipo de cosechadora y tipo de silo. Los dos primeros factores se consideraron como aleatorios y el resto como factores fijos, teniéndose en cuenta únicamente las interacciones dobles. Sólo se incluyeron en este análisis las muestras de los años 1991 a 1997 y 2002 y las correspondientes a las localidades que estaban representadas en todos los años del ensayo.

Nota metodológica nº 1

Utilidad del criterio pHdif para evaluar la calidad de fermentación de los ensilajes de hierba

La utilidad del criterio pHdif para juzgar acerca de la calidad fermentativa de los ensilajes en ausencia de datos analíticos sobre los productos de fermentación puede observarse en la Tabla 3.1.3. donde se expone el coeficiente de correlación del contenido en ácido láctico y el valor pHdif con los valores de las concentraciones de ácidos acético y butírico, así como con índices sintéticos de calidad fermentativa, valor nitrogenado e ingestibilidad obtenidos a partir de una adaptación de los criterios de categorización de calidad fermentativa de ensilajes de Dulphy y Demarquilly (1981) realizada como indican Flores *et al.*, (2000d). Dicha Tabla fue elaborada a partir de 1184 muestras de ensilajes de hierba de distinta procedencia, cuyo contenido en ácidos de fermentación había sido determinada por métodos de referencia en el CIAM, tal y como se indica en el apartado 3.1.2.

Como puede observarse, el valor pHdif presenta una correlación superior, en valor absoluto, a la mostrada por el contenido en ácido láctico del ensilaje con las

concentraciones de ácido acético y butírico, la suma de ambos, y los índices de calidad fermentativa, de valor nitrogenado y de ingestibilidad, por lo que este parámetro resulta de ser de utilidad, al menos tanto como el contenido en ácido láctico, para juzgar acerca de la calidad fermentativa de los ensilajes en función de los antedichos criterios.

Tabla 3.1.3. Correlación del contenido en ácido láctico y el valor pHdif con el contenidos en ácidos de fermentación e índices sintéticos de calidad fermentativa, valor nitrogenado e ingestibilidad de ensilajes de hierba (n=1024 muestras)

		Ácidos de fermentación			Ácidos Grasos volátiles	Índices de calidad Valor		
		A. Láctico	A. Acético	A. Butírico		Conservación ¹	nitrogenado ²	Ingestibilidad ³
pHdif	r	-0.63	0.27	0.48	0.45	-0.43	-0.38	-0.49
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Á. Láctico	r	-	-0.06	-0.42	-0.26	0.40	0.18	0.30
	p	-	0.0774	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

pHdif=pH – pHe, siendo pHe: pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS\ (\%)+3.44$ (Haigh, 1987)

r= coeficiente de correlación de Pearson

p: significación

¹ Integra en un solo índice los contenidos en A. Butírico, A. Acético y N amoniacal

² Integra en un solo índice los contenidos en N amoniacal y N soluble

³ Integra en un solo índice los contenidos en A. Acético y N amoniacal

Nota Metodológica nº 2.

Relación entre los valores de proteína bruta expresados sobre muestra de ensilaje fresca y seca en estufa.

Sobre un conjunto de 752 ensilajes donde el contenido en N se había determinado sobre muestra fresca y sobre una alícuota seca en estufa, se obtuvo mediante regresión la relación entre el contenido en PB (expresado como N x 6.25) obtenido a partir del N determinado sobre muestra de ensilaje fresca y muestra seca en estufa. Dicha relación se indica mediante la siguiente ecuación, obtenida sobre un conjunto de calibración de 496 muestras, y validada sobre otro grupo de 256 ensilajes, elegidos al azar de entre las 752 muestras: $PBt = -3.61 (\pm 0.601) + 0.932 (\pm 0.019) PB - 0.0734 (\pm 0.0091) MS + 1.748 (\pm 0.136) pH$, donde PBt es el contenido en proteína (%MS) expresado como N determinado sobre muestra fresca (%MS) x 6.25; MS es el contenido en materia seca en estufa a 80 °C durante 16 h (%) y PB es el contenido en proteína (%MS) expresado como N determinado sobre muestra seca en estufa (%MS) x 6.25.

Los estadísticos de calibración fueron: $R^2=0.85$, $RSD=\pm 1.09$, $p<0.0001$, siendo los valores medio (y rango) del conjunto de calibración de MS (%) 22.7 (14.2-48.9), PB (%MS) 12.6 (5.7-26.3), PBt (%MS) 13.9 (5.3-27.5), y pH 4.30 (3.50-5.46). Los

correspondientes valores de validación fueron $R^2=0.82$, $RSD=\pm 1.20$, $p<0.0001$, MS (%) 21.7 (12.7-52.3), PB (%MS) 12.5 (6.2-27.6), PBt (%MS) 13.9 (7.5-28.8), y pH 4.29 (3.50-6.00), siendo el sesgo (media de la diferencias entre los valores observados y predichos por la ecuación de -0.025).

Nota Metodológica nº 3.

Obtención de un criterio de corrección de la composición de los ensilajes por las pérdidas de volátiles durante el secado

Los resultados analíticos de las muestras de ensilaje no fueron corregidas en nuestro estudio por las pérdidas de volátiles en estufa, dado que se carecía de datos acerca del contenido en productos de fermentación de los ensilajes, analizados por métodos de referencia. Esta carencia no impedía cumplir el objetivo propuesto en el estudio, como era la detección de posibles deficiencias en la tecnología de ensilado aplicada en las explotaciones gallegas, así como disponer de datos acerca de la evolución de la calidad anual de los ensilajes. Sin embargo, para comparar las características de los ensilajes con los resultados de otros autores que sí realizan la antedicha corrección, es de interés el disponer de un método de estimación de las pérdidas de volátiles durante el proceso de secado en la estufa.

A partir de una colección de ensilajes 1124 ensilajes de distinta procedencia cuyo contenido en productos de fermentación (ácidos láctico, acético, propiónico, butírico, etanol y $N-NH_3$) había sido determinado por los métodos de referencia descritos en el apartado 3.1.2, y aplicando los coeficientes de volatilidad descritos por Dulphy y Demarquilly (1981) para secado en estufa de gran capacidad a 80 °C, se estimaron las pérdidas de volátiles (PV, en % MS), a partir de los que se calculó el contenido en materia seca corregida (MS_c , %) como $MS_c=MS+PV$, siendo MS el contenido en MS determinado en estufa Unitherm a 80 °C durante 16 h. Dividido el total de muestras en dos subconjuntos, tomados al azar, de 783 y 401 observaciones, se obtuvo mediante regresión para el primero de ellos (grupo de calibración) la siguiente ecuación:

$MS_c = 1.203 (\pm 0.040, p<0.0001) + 1.0022 (\pm 0.0016, p<0.0001) MS$, donde tanto MS_c como MS están expresados en porcentaje. Los estadísticos de calibración fueron: $R^2=0.998$, $RSD=\pm 0.30$, $p<0.0001$, siendo el contenido medio en MS del conjunto de calibración

24.0% (rango 12.2-48.8%). Los correspondientes valores de validación fueron $R^2=0.997$, $RSD=\pm 0.31$, $p<0.0001$ y el valor medio de MS 24.4% (rango 1.2-49.7%), teniendo el sesgo un valor de 0.011. En el conjunto de validación se estudió el ajuste de la ecuación $MS_c (\%) = 1.82 + 0.99 MS(\%)$ propuesta por Haigh (1995) y adoptada por el AFRC (2003) para ensilajes de hierba, resultando estadísticos de validación semejantes a la ecuación obtenida en el grupo de calibración en cuanto al porcentaje de varianza explicada R^2 y error mínimo de predicción RSD, y un sesgo medio de -0.30 . Dado que en la ecuación de Haigh (1995) el valor de MS_c es el obtenido por destilación con tolueno, mientras que en nuestro caso dicho valor es estimado a partir de los coeficientes de volatilidad propuestos por Dulphy y Demarquilly (1981) para los principales (pero no todos) productos de fermentación, los resultados parecen indicar que la corrección realizada por este método subestima ligeramente el contenido real en MS del ensilaje.

La corrección de los valores de composición química y digestibilidad se realizarían como sigue:

- a) Materia seca: $MS_c = 1.203 + 1.0022 MS$
- b) Materia orgánica: $MO_c = 100 - [(100 - MO) \times (MS/MS_c)]$;
- c) Fibra y proteína: $FAD_c = FAD \times (MS/MS_c)$; $PB_c = PB \times (MS/MS_c)$
- d) Digestibilidad de la materia orgánica:
 $DMO_c = [100 - ((DMO \times MO \times 0.01) \times (MS/MS_c))] / [100 - ((100 - MO) \times (MS/MS_c))]$
- e) UFL, PDIN, PDIE: calcular a partir de los valores anteriores según se indicó en el apartado correspondiente.

3.2. RESULTADOS

3.2.1. Características de las explotaciones

Las explotaciones incluidas en el estudio presentaron, como media de los diferentes años, las siguientes características: 28.3 (± 13.1) vacas de leche, 155 (± 118) mil kg de leche por explotación, 5.5 (± 1.8) mil kg producidos por vaca presente en el rebaño, 14.3 (± 7.7) ha de superficie agraria útil (SAU), 6.3 (± 5.0) y 4.7 (± 4.7) ha de hierba ensiladas en primer y segundo corte, respectivamente, y 2.3 (± 2.8) ha de maíz forrajero para ensilar. La fertilización aportada a la superficie destinada a ensilaje de hierba fue, de media, 117 (± 34) kg de N, 105 (± 36) kg de P_2O_5 y 75 (± 22) kg de K_2O por ha. Adicionalmente se aportó purín en el 92% de las explotaciones, en cantidad que no fue cuantificada en el estudio. La fecha media de aplicación del abonado de fondo fue el 12 de Febrero. Aproximadamente el 62% del total de N aportado lo fue en cobertera, distribuido antes y después del primer corte (fechas medias de aplicación 26 Marzo y 2 de Mayo, respectivamente).

La evolución de las principales características de las explotaciones, reflejada en la Tabla 3.2.1., permite apreciar una tendencia creciente en cuanto al incremento de tamaño y producción de leche de aquellas a lo largo del período de estudio. Atendiendo a los valores medios anuales, entre 1991 y 2002 el número de vacas de leche se incrementó en un 55%, la producción de leche por explotación en un 70% y el rendimiento lechero por vaca presente en el rebaño en un 15%. En el mismo período la superficie agraria útil de las explotaciones aumentó un 55% y la superficie de hierba para ensilar en primer corte un 67%. El incremento más espectacular correspondió a la superficie de maíz forrajero, que registró un incremento del 315% en el período 1992 a 2002. La tendencia hacia una mayor intensificación forrajera de los modelos de producción se pone de manifiesto por una mayor dependencia de la provisión de ensilaje para la alimentación animal, observándose que el porcentaje de SAU destinado a la producción de hierba de primer corte para ensilar se incrementó desde el 37 al 44% entre 1991 y 2002, mientras que la proporción de superficie de maíz forrajero para ensilar prácticamente se duplicó entre 1992 y 2002, pasando del 11 al 23% de la SAU, para ambos años, respectivamente.

Tabla 3.2.1. Valores medios (y desviación estándar) del número de vacas de leche, superficie agraria útil (SAU) y superficie ensilada de hierba y maíz en las explotaciones de la muestra

Características de las explotaciones	Año							
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	2002
Nº vacas leche	21.9 (2.3)	22.7 (8.7)	22.3 (8.9)	29.5 (15.3)	29.9 (14.5)	28.6 (12.4)	29.7 (10.6)	34.0 (16.3)
Leche por explotación (t)	118.0 (109.2)	120.3 (54.1)	115.9 (48.0)	159.3 (52.4)	167.4 (110.3)	154.4 (54.7)	166.3 (79.9)	200.6 (78.7)
Rendimiento por vaca (t)	5.1 (2.2)	5.3 (2.0)	5.2 (1.8)	5.4 (1.9)	5.6 (2.1)	5.4 (1.9)	5.6 (1.7)	5.9 (2.1)
SAU, ha	11.4 (6.7)	12.6 (6.8)	11.5 (5.5)	15.7 (13.9)	15.3 (10.8)	13.4 (8.0)	15.2 (6.0)	17.7 (9.4)
Superficie ensilada, ha								
Hierba, 1º corte	4.3 (3.7)	4.6 (2.4)	4.5 (2.4)	6.1 (4.8)	6.6 (6.3)	6.7 (5.2)	7.4 (3.7)	7.7 (6.2)
Hierba, 2º corte	2.9 (3.5)	3.3 (2.0)	3.6 (2.2)	4.4 (3.5)	4.7 (4.9)	4.8 (5.9)	5.2 (5.8)	6.5 (4.8)
Maíz	-	1.3 (1.1)	1.0 (1.1)	2.1 (2.9)	2.3 (2.7)	2.5 (3.6)	2.7 (2.4)	4.1 (2.9)

3.2.2. Condiciones meteorológicas durante el comienzo de primavera en 1991-2002

A partir de los datos meteorológicos recogidos en dos estaciones situadas en el área geográfica de influencia de las explotaciones estudiadas (finca del CIAM en el ayuntamiento de Abegondo y Centro de Formación Agraria del ayuntamiento de Sergude, ambos en la provincia de A Coruña) se elaboraron los datos de la Tabla 3.2.2 donde se indican los valores de precipitación total y las temperaturas medias registradas durante los diferentes años del estudio en los meses de Abril y Mayo, meses en los que se cosecharon la mayor parte de los ensilajes de primer corte. En ella puede advertirse la variabilidad existente en dicho intervalo en cuanto al volumen de precipitaciones registradas, que osciló desde los 96 mm del año 1991 hasta valores próximos a los 300 mm en los años 1993, 1998 y 1999. Con relación a los valores medios de precipitación registrados durante el período considerado, se clasificó la primavera de los diferentes años en Húmeda, cuando la precipitación superaba en un 20% a la media del período, Seca cuando era igual o inferior al 80% de la media, y Media en el resto de los casos. En cuanto a la temperatura, se tomó como referencia el valor medio para los 12 años de la suma de las temperaturas medias diarias menos 6 °C correspondientes a los meses de Abril y Mayo de cada año, clasificando la primavera como Cálida, Fría o Media cuando el valor anual superaba al 20% de la media, era igual o inferior al 80% de la media, o estaba comprendido entre ambos intervalos, respectivamente. Los coeficientes de variación de

la precipitación total y de la temperatura media acumulada (base 6 °C) fueron del 32.7 y del 9.2%, respectivamente.

Tabla 3.2.2.- Precipitación total (mm) y suma de temperaturas medias diarias (base 6 °C) de los meses de Abril y Mayo en los diferentes años de estudio

	Año												Media 1991-2002
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	
Precipitación, mm	96	151	300	209	132	190	160	299	306	275	253	186	213 ± 72
tª media período (t _m), °C	12.5	13.5	12.0	12.0	13.8	13.0	14.0	12.3	13.5	12.5	13.0	13.0	12.9±0.6
Σ (t _m -6), °C	399	460	368	368	474	428	489	384	459	399	428	428	423±39
Clasificación del período													
	Por lluvia ¹	Seco	Húmedo		Seco	Seco	Seco	Seco	Húmedo	Húmedo			
	Por temperatura ²	Frío	Normal	Frío	Frío	Normal	Normal	Normal	Frío	Normal	Frío	Normal	Normal

¹ Seco: Precipitación ≤168 mm; Normal: 168 < Precipitación ≤ 253 mm ; Húmedo: Precipitación >253 mm

² Frío: Σ (t_m-6) ≤ 338 °C; Normal: 338 < Σ (t_m-6) ≤ 507 °C; Cálido: Σ (t_m-6) > 507 °C

3.2.3. Valores medios de la muestra y componentes de la varianza de la digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y valor pHdif de los ensilajes.

Valores medios de la muestra. En la Tabla 3.2.3. se indican los valores medios del conjunto de las 2632 muestras de ensilaje en cuanto a su composición química, digestibilidad, valor energético (UFL) y nitrogenado (PDIN y PDIE), así como la calidad fermentativa (estimada por el valor pHdif) y las fechas de primer y segundo corte. En ella puede apreciarse la amplia variabilidad del conjunto de muestras para los diferentes parámetros estudiados, con valores medios (y rango de variación) de 26.5 (12.0 a 60.0) para MS(%); 89.5 (93.0 a 85.0) para MO (%MS); 36.8 (24.5 a 55.8) para FAD (%MS); 13.4 (6.9 a 23.0) para PBt (%MS); 66.8 (50.1 a 84.2) para DMO (%); 7.9 (4.0 a 13.5) g PDIN (100 g⁻¹ MS); 6.5 (4.2 a 8.9) g PDIE (100 g⁻¹ MS) y 0.79 (0.55 a 1.02) UFL kg⁻¹ MS. El valor medio de pH fue 4.61, que excedió en 0.22 unidades al correspondiente valor medio del pH de estabilidad. El primer corte se realizó, de media, el 2 de Mayo (rango 27 de Febrero al 1 de Julio), mientras que la fecha media del segundo corte fue el 11 de Junio (rango 31 de Mayo a 3 de Agosto).

La mayor variabilidad correspondió al valor pHdif, seguido del contenido en materia seca, proteína y fibra ácido detergente, con coeficientes de variación (cv.) de 183.6, 35.6, 17.2 y 12.6%, respectivamente. Los valores del cv. de la digestibilidad de la materia

orgánica y UFL fueron de 7.8 y 8.9%, respectivamente, mientras que el contenido en materia orgánica fue el parámetro menos variable (cv. 2.1%).

Tabla 3.2.3.- Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba de explotaciones lecheras gallegas en los años 1991 a 2002 (n=2362)

	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	pHe	pHdif	Fecha 1º corte ¹	Fecha 2º corte ¹
Media	26.5	89.5	36.8	13.4	66.8	0.79	7.90	6.57	4.62	4.39	0.23	122	162
s.d.	9.4	1.9	4.7	2.3	5.2	0.07	1.36	0.71	0.42	0.34	0.41	17.1	16.4
c.v.	35.6	2.1	12.6	17.2	7.8	8.97	17.21	10.81	9.05	7.72	183.62	14.0	10.1
Max.	60.0	93.0	55.8	23.0	84.2	1.02	13.53	8.91	6.36	5.59	2.07	182	215
Mín.	12.0	85.0	24.5	6.9	50.1	0.55	4.06	4.24	3.27	3.87	-1.02	57	90

¹ Días a partir del 1 de Enero

s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación; Máx: valor máximo; Mín: valor mínimo

pHe: pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$; $pHdif = pH - pHe$

3.2.4. Componentes de la varianza de DMO, PBt y pHdif.

Únicamente 1125 observaciones pudieron ser utilizadas en el análisis de los componentes de la varianza de la digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y valor pHdif de las muestras de ensilaje, estando representados los ensilajes de primer y segundo corte aproximadamente con la misma frecuencia. La varianza explicada por los factores fijos (número de corte, madurez, realización de presecado, presencia de lluvia durante las labores de ensilado, uso de aditivo, tipo de cosechadora y tipo de silo), y los factores aleatorios (año y localidad) y sus interacciones con los factores fijos fue inferior al 50% de la varianza total de las variables DMO, PBt y pHdif (valores del 41.6, 30.5 y 30.4% de la varianza total, respectivamente).

Para las muestras de primer corte el modelo utilizado explicó el 46.6, 36.6 y 29.8% de la varianza de DMO, PBt y pHdif, mientras que para el segundo corte dicho porcentaje fue menor para DMO y PBt (24.8 y 29.8%, respectivamente) y superior para pHdif (41.2%). La mayor aportación de la varianza explicada la realizó el factor año y sus interacciones, seguido por los factores fijos y, por último, el factor localidad y sus interacciones (Tabla 3.2.4).

Expresando la contribución de los diferentes factores fijos al total de varianza explicada de la digestibilidad de la materia orgánica de los ensilajes de primer y segundo corte, los

factores número de corte, interacción número de corte x madurez, tipo de hierba, uso de aditivo, interacción aditivo x presencia de lluvia y realización de presecado fueron los que realizaron una mayor aportación a la misma, con valores del 14.0, 8.1, 3.0, 1.9, 1.4 y 0.8% de la varianza explicada, respectivamente. Para el contenido en proteína bruta, la interacción de los factores madurez x número de corte, el número de corte, tipo de hierba, interacción entre presencia de lluvia y uso de aditivo, uso de aditivo y realización de presecado fueron responsables, respectivamente, del 10.3, 7.0, 8.5, 8.0, 2.9 y 1.0% del total de la varianza explicada. Para el valor pHdif, los factores de mayor peso sobre dicho total fueron el tipo de cosechadora, realización de presecado, tipo de hierba, interacción aditivo x presencia de lluvia y uso de aditivo, cuyas aportaciones al total de varianza explicada fueron del 7.4, 5.5, 3.4, 2.5, y 1.7%, respectivamente.

Tabla 3.2.4.- Varianza explicada (y porcentaje sobre la varianza total) de la digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y valor pHdif de las muestras de ensilaje (n=1125)

	Varianza total	Varianza explicada	Aportación a la varianza explicada			Varianza no explicada (residuo)
			Factores fijos ¹ e interacciones	Año ² e interacciones	Localidad ³ e interacciones	
Primer y Segundo corte						
DMO	24.12 (100%)	10.03 (41.6%)	3.06 (12.7%)	6.14 (25.5%)	0.82 (3.4%)	14.08 (58.4%)
PBt	5.57 (100%)	1.69 (30.5%)	0.65 (11.7%)	0.80 (14.4%)	0.24 (4.4%)	3.87 (69.5%)
pHdif	0.194 (100%)	0.059 (30.4%)	0.012 (5.4%)	0.040 (20.6%)	0.007 (3.8%)	0.135 (69.7%)
Primer corte						
DMO	23.10 (100%)	10.78 (46.6%)	2.20 (9.5%)	7.43 (32.2%)	1.14 (4.9%)	12.33 (53.4%)
PBt	5.79 (100%)	2.10 (36.6%)	0.81 (14.1%)	0.99 (17.2%)	0.29 (5.0%)	3.69 (63.4%)
pHdif	0.184 (100%)	0.056 (30.2%)	0.005 (2.5%)	0.046 (25.2%)	0.005 (2.5%)	0.128 (69.8%)
Segundo corte						
DMO	20.12 (100%)	5.00 (24.8%)	1.90 (9.5%)	2.73 (13.6%)	0.36 (1.8%)	15.12 (75.2%)
PBt	4.96 (100%)	1.47 (29.8%)	0.47 (9.6%)	0.79 (16.1%)	0.20 (4.1%)	3.48 (70.2%)
pHdif	0.203 (100%)	0.084 (41.2%)	0.013 (6.3%)	0.045 (22.4%)	0.025 (12.4%)	0.119 (58.8%)

¹ factores número de corte, tipo de hierba, madurez (expresada en función de la fecha de corte), realización de presecado, presencia de lluvia durante las labores de ensilado, uso de aditivo, tipo de cosechadora y tipo de silo

² período 1991 a 1997 y 2002 (incluye las interacciones con los factores fijos)

³ ayuntamiento al que pertenecen las explotaciones de las que procedían las muestras (incluye las interacciones con los factores fijos)

n: número de observaciones

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$

3.2.5. Calidad de los ensilajes de primer y segundo corte. Evolución anual

Los contenidos medios en materia seca, materia orgánica y FAD de las muestras procedentes de primeros cortes fueron significativamente inferiores ($p < 0.05$) y los valores de digestibilidad de la materia orgánica, UFL, PBt, PDIN y PDIE superiores comparados con los correspondientes valores de las muestras de segundo corte (Tabla 3.2.5). Aunque el pH medio correspondiente al primer corte fue inferior al del segundo corte, ambos superaron en la misma magnitud (+0.23 ud) al valor del pH de estabilidad, lo que denota ausencia de diferencias entre cortes en cuanto a la calidad de conservación de los ensilajes, atendiendo a este criterio.

La existencia de una interacción significativa entre el número de corte y el año para todas las variables, salvo para el contenido en MO, es indicativa de que la magnitud de las diferencias entre cortes se ve afectada por el factor año, pero en general esto no afecta a la tendencia observada para las medias entre cortes considerando globalmente los 12 años del estudio. Así, el contenido en MS del primer corte fue consistentemente inferior a la del segundo, salvo para el año 1997, donde la media anual del segundo corte superó en 6 puntos (%) a la del primero. El contenido medio anual de FAD de las muestras de ensilaje de primer corte fue asimismo siempre inferior al correspondiente al segundo corte, oscilando la diferencia, en valor absoluto, entre 0.3 y 4.4 unidades (%MS). En cuanto al resto de las variables, la tendencia fue similar a la observada para el conjunto de las muestras, siendo superiores los valores de DMO, UFL, PBt, PDIN y PDIE de los primeros cortes, en todos los años, a los correspondientes valores de los segundos cortes, si bien la magnitud de la diferencia anual entre cortes osciló entre 8.3 y 1.1 unidades para DMO (%), 0.09 y 0.01 unidades para UFL (kg^{-1} MS), 1.5 y 0.10 para PBt (%MS), 0.9 y 0.05 para PDIN (%MS) y 0.8 y 0.04 para PDIE (%MS). En cuanto al valor pH_{dif}, en uno de los años la media anual de dicha variable para los primeros cortes fue igual a la de los segundos aprovechamientos, superior en otros cinco años e inferior los seis restantes.

Como se pone de manifiesto en la Tabla 3.2.5, el año ejerce un significativo efecto sobre todas las variables estudiadas ($p < 0.05$) salvo para el contenido en materia orgánica ($p = 0.08$), evidenciando una alta variabilidad interanual de la calidad de los ensilajes de las

explotaciones. El contenido medio anual de materia seca de las muestras de ensilaje varió entre 19.4 y 34.2%, mientras que los correspondientes a los restantes parámetros fueron: 89.2 a 89.9, 33.2 a 42.4 y 12.7 a 13.8 para las concentraciones de MO, FAD y PBt (%MS), respectivamente; 64.3 a 69.0 para DMO (%); 0.75 a 0.82 para UFL (kg⁻¹ MS); 7.4 a 8.1 y 6.1 a 6.9 para PDIN y PDIE (%MS), respectivamente y 0.05 a 0.45 para el valor de pHdif.

Tabla 3.2.5.- Calidad de las muestras de ensilajes de hierba: Efecto del número de corte y del año

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	pHdif	Fecha de corte ¹	
												1 ^{er} C.	2 ^o C.
Nº de corte													
Primer corte	1316	25.1	89.1	36.1	13.7	68.1	0.80	8.06	6.65	4.56	0.23	-	-
Segundo corte	1316	27.7	89.8	37.9	13.0	65.3	0.77	7.65	6.45	4.66	0.23	-	-
<i>p</i>		0.033	<0.0001	0.0022	0.0039	0.0005	0.0018	0.0039	0.022	0.033	0.959		
Año													
1991	102	19.8	89.9	42.4	13.6	65.4	0.77	8.01	6.41	4.60	0.45	126	170
1992	240	21.6	89.8	40.1	12.8	64.6	0.76	7.53	6.22	4.49	0.28	127	170
1993	206	19.4	89.4	41.3	12.9	64.3	0.75	7.58	6.19	4.63	0.49	125	166
1994	231	24.0	89.8	38.3	13.5	66.3	0.78	7.95	6.48	4.43	0.13	124	165
1995	256	27.2	89.8	35.3	13.4	67.1	0.80	7.90	6.58	4.46	0.05	121	160
1996	340	26.5	89.4	34.3	14.7	69.0	0.82	8.67	6.91	4.54	0.15	120	161
1997	209	26.0	89.3	35.8	13.9	67.3	0.79	8.17	6.65	4.59	0.21	126	164
1998	276	28.3	89.2	38.0	13.0	65.8	0.77	7.64	6.47	4.75	0.29	128	165
1999	257	26.1	89.2	37.0	13.1	65.5	0.76	7.69	6.41	4.76	0.34	120	157
2000	141	29.7	89.4	35.2	12.7	68.7	0.81	7.47	6.67	4.66	0.15	121	160
2001	134	34.2	89.4	33.2	12.8	68.8	0.81	7.52	6.80	4.78	0.12	117	163
2002	241	33.7	89.5	33.4	13.8	68.2	0.81	8.12	6.88	4.76	0.11	106	151
<i>p</i>		0.0045	0.086	<0.0001	0.015	0.042	0.031	0.015	0.027	0.021	0.0009	<0.0001	<0.0001
d.m.s		1.92	-	0.87	0.50	1.13	0.02	0.30	0.15	0.09	0.09	3.63	3.54
Año x Corte													
<i>p</i>		<0.0001	0.078	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0002	-	-

¹ días a partir del 1 de Enero

n: número de observaciones

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación pHe=0.0359MS (%) + 3.44

p: significación del test F en el análisis de varianza

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna del efecto Año

3.2.6. Agrupación de muestras por categorías de calidad

La distribución de las frecuencias de muestras incluidas en cada una de las categorías de calidad, relativas al contenido en proteína y digestibilidad de la materia orgánica, así como a los rangos del valor de pHdif indicativos de la calidad de fermentación del ensilaje, permite complementar la visión proporcionada por los valores medios anuales,

indicando el porcentaje de muestras que cumplen los estándares de calidad establecidos en función de los criterios previamente definidos.

Criterio: Digestibilidad de la materia orgánica y contenido en proteína bruta

Según se indica en la Tabla 3.2.6., para el conjunto de los ensilajes analizados en los 12 años del estudio, el 45.9 % de las muestras presentaron valores de DMO (%) y PBt (%MS) del 67.0 y 13.0, respectivamente, lo que convencionalmente se tomó como indicativo de una calidad energética y proteica satisfactoria, siendo el 22.5% de calidad deficiente, con valores de DMO (%) inferiores a 62.0 o bien con un contenido en PBt (%MS) menor del 11.0%. La distribución de la frecuencia de muestras en cada categoría dependió ($p < 0.0001$) del año que se considerase, oscilando el porcentaje de muestras de calidad satisfactoria entre el 65.6 y el 29.4% y las de calidad deficiente entre el 13.8 y 37.0% del total, para los años 1996 y 1999, respectivamente.

Tabla 3.2.6. Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de muestras en función del contenido en proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica

Categoría ¹	Porcentaje de muestras de cada categoría por año												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
Alta	46.1	32.9	33.5	50.7	50.8	75.6	46.9	29.4	30.4	33.3	38.1	67.7	45.9	1209
Media	23.5	35.8	33.5	30.2	32.8	20.6	33.0	42.3	32.6	35.5	38.0	24.1	31.6	832
Baja	30.4	31.3	33.0	19.1	16.4	3.8	20.1	28.3	37.0	31.2	23.9	8.2	22.5	592

¹ Categoría Alta: DMO (%) ≥ 67.0 y PBt (%MS) ≥ 13.0

Categoría Media: $62.0 \leq \text{DMO} (\%) < 67.0$ ó $11.0 \leq \text{PBt} (\% \text{MS}) < 13.0$

Categoría Baja: DMO (%) < 62.0 ó PBt (%MS) < 11.0

n: número de muestras en cada clase

Significación del test Chi-cuadrado: $p < 0.0001$

Los valores medios de los parámetros de calidad de las diferentes categorías de muestras establecidas según este criterio se indican en la Tabla 3.2.7., donde se puede observar que la digestibilidad de la materia orgánica (%) y el contenido en proteína bruta (%MS) son , como media, de 71.0 (± 3.0) y 15.4 (± 1.5); 65.6 (± 2.4) y 12.7 (± 1.0) y 60.5 (± 3.8) y 10.8 (± 1.3) para las muestras de calidad satisfactoria, media y deficiente, respectivamente.

Tabla 3.2.7.- Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba clasificadas en función del contenido en proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica

Categoría	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	pHe	pHdif	Fecha 1º corte ¹	Fecha 2º corte ¹
Alta	25.8	89.0	34.4	15.4	71.0	0.84	9.04	7.13	4.59	4.37	0.22	118	160
s.d.	8.88	1.75	3.78	1.58	3.03	0.041	0.932	0.466	0.426	0.319	0.399	17.4	16.7
Media	26.8	89.8	37.6	12.7	65.6	0.77	7.47	6.40	4.62	4.40	0.22	124	164
s.d.	9.52	1.80	3.76	1.00	2.48	0.038	0.591	0.358	0.415	0.342	0.399	15.7	15.8
Baja	27.6	90.1	40.2	10.8	60.5	0.70	6.34	5.73	4.65	4.43	0.22	125	164
s.d.	10.21	1.89	4.66	1.32	3.88	0.057	0.774	0.470	0.404	0.366	0.433	17.0	15.9

¹ días a partir del 1 de Enero

pHe: pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$; pHdif=pH - pHe

s.d.: desviación estándar

Criterio: Calidad fermentativa

El porcentaje de muestras que presentaron una calidad de fermentación satisfactoria, en función de la diferencia entre el pH medido y el pH teórico de estabilidad según el contenido en materia seca del ensilaje fue del 41.7% para el conjunto de la colección ($pHdif \leq 0.10$), mientras que el 43.2% del total mostraron una deficiente fermentación ($pHdif > 0.25$) y el 15.1% restante una calidad intermedia ($0.1 < pHdif \leq 0.25$). La frecuencia de muestras en cada categoría respecto del total anual varió significativamente ($p < 0.0001$) entre años, oscilando el porcentaje de muestras de calidad satisfactoria entre el 59.4 y el 23.5% y las de calidad deficiente entre el 26.6 y 66.7% del total, para los años 1995 y 1991, respectivamente (Tabla 3.2.8). Los valores medios de contenido en materia seca, proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica de las muestras fermentadas de forma satisfactoria fueron de 29.6 (± 10.5), 13.2 (± 2.2) y 66.8 (± 4.9), respectivamente (Tabla 3.2.9.), mientras que para las fermentadas de forma deficiente los correspondientes valores fueron: MS (%) 23.0 (± 7.0), PBt (%MS) 13.7 (± 2.3) y DMO (%) 66.7 (± 5.4), evidenciando que forrajes de similar valor energético y proteico pueden presentar una muy diferente calidad de conservación.

Tabla 3.2.8.- Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de muestras en función de la relación entre el pH del ensilaje y su contenido en materia seca

Categoría ¹	Porcentaje de muestras de cada categoría por año												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
Alta	23.5	39.2	24.8	56.7	59.4	47.7	38.8	23.9	29.2	46.8	47.0	55.2	41.7	1098
Media	9.8	12.0	8.7	10.0	14.0	16.1	19.6	19.6	18.7	9.9	21.7	16.6	15.1	397
Baja	66.7	48.8	66.5	33.3	26.6	36.2	41.6	56.5	52.1	43.3	31.3	28.2	43.2	1138

¹ Categoría Alta: pHdif ≤ 0.1

Categoría Media: 0.1 < pHdif ≤ 0.25

Categoría Baja: pHdif > 0.25

n: número de muestras en cada clase

Significación del test Chi-cuadrado: p<0.0001

Tabla 3.2.9.- Calidad media y fechas de corte de las muestras de ensilajes de hierba en función de la relación entre el pH del ensilaje y su contenido en materia seca

Categoría	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	pHe	pHdif	Fecha 1º corte ¹	Fecha 2º corte ¹
Alta	29.6	89.8	35.4	13.2	66.8	0.79	7.78	6.53	4.36	4.50	-0.14	120	161
s.d.	10.54	1.84	4.20	2.27	4.97	0.067	1.337	0.696	0.396	0.378	0.185	18.0	16.5
Media	28.2	89.7	36.1	13.3	66.8	0.79	7.84	6.59	4.63	4.45	0.17	123	163
s.d.	8.86	1.80	4.27	2.31	5.21	0.069	1.358	0.686	0.318	0.318	0.044	16.4	16.3
Baja	23.0	89.1	38.4	13.7	66.7	0.78	8.05	6.59	4.86	4.26	0.59	123	163
s.d.	7.00	1.85	4.72	2.33	5.47	0.074	1.370	0.731	0.309	0.251	0.289	16.3	16.1

¹ días a partir del 1 de Enero

pHe: pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$ (Haigh, 1987); pHdif = pH - pHe

s.d.: desviación estándar

Criterio de calidad global: Digestibilidad de la materia orgánica, contenido en proteína bruta y calidad fermentativa

La integración de los dos criterios anteriores en un único índice permite conocer el porcentaje de muestras de ensilaje de hierba que, presentando un satisfactorio valor energético y proteico, estaban correctamente fermentadas, lo cual puede considerarse el objetivo a alcanzar en las explotaciones ganaderas en lo que a conservación de forrajes mediante ensilado se refiere.

Como se indica en la Tabla 3.2.10, el porcentaje total de muestras que, en el conjunto del período 1991-2002 mostraron valores de DMO (%) ≥ 67.0 acompañados de una concentración de PBt (%) ≥ 13.0 y de pHdif ≤ 0.1 fue únicamente del 19.2%, mientras que el porcentaje de muestras de calidad global deficiente (valores de DMO (%) < 62.0 o bien concentración de PBt (%MS) < 11.0, o bien pHdif > 0.25) ascendió al 57.3% del total. Esta proporción difirió significativamente (p<0.0001) entre años, oscilando el porcentaje de muestras de calidad satisfactoria entre el 34.7 y el 8.3% del total anual, y las de calidad deficiente entre el 38.8 y el 77.7% para los años 1996 y 1993, respectivamente.

Los contenidos medios en MS (%), FAD (%MS), PBt (%MS), DMO (%) y el valor pHdif fueron de 28.3 (± 9.9) y 25.0 (± 8.7), 33.2 (± 3.1) y 38.4 (± 4.5), 15.1 (± 1.4) y 12.9 (± 2.4), 70.7 (± 2.9) y 65.3 (± 5.6) y -0.13 (± 0.18) y 0.43 (± 0.39) para las muestras de calidad satisfactoria y deficiente, respectivamente (Tabla 3.2.11.)

Tabla 3.2.10.- Frecuencias anuales, en porcentaje, del número de en función de un criterio de calidad global (contenido en proteína bruta, digestibilidad de la materia orgánica y calidad de fermentación)

Categoría ¹	Porcentaje de muestras de cada categoría por año												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
Alta	10.8	10.4	8.3	30.3	28.1	34.7	18.2	9.8	10.5	14.2	11.9	32.0	19.2	504
Media	11.8	23.8	14.1	23.8	32.0	26.5	26.3	18.5	18.3	21.3	34.3	26.4	23.5	619
Baja	77.5	65.8	77.7	45.9	39.8	38.8	55.5	71.7	71.2	64.5	53.7	41.6	57.3	1510

¹ Categoría Alta: DMO (%) ≥ 67.0 y PBt (%MS) ≥ 13.0 y pHdif < 0.1

Categoría Baja: DMO (%) < 62.0 ó PBt (%MS) < 11.0 ó pHdif > 0.25

Categoría Media: resto de las muestras no incluidas en las categorías Alta o Baja

n: número de muestras en cada clase

Significación del test Chi-cuadrado: $p < 0.0001$

Tabla 3.2.11.- Valores medios de las muestras de las diferentes categorías de calidad global (contenido en proteína bruta, digestibilidad de la materia orgánica y calidad de fermentación)

Categoría	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	pHe	pHdif	Fecha	Fecha
												1º corte ¹	2º corte ¹
Alta	28.3	89.3	33.2	15.1	70.7	0.84	8.91	7.06	4.33	4.46	-0.13	117	159
	s.d. 9.94	1.76	3.19	1.48	2.93	0.040	0.873	0.468	0.381	0.357	0.180	18.6	16.4
Media	28.8	89.7	35.7	13.3	67.1	0.79	7.83	6.59	4.48	4.48	0.00	122	163
	s.d. 9.92	1.75	3.79	1.67	3.56	0.049	0.983	0.524	0.391	0.356	0.216	16.8	16.5
Baja	25.0	89.5	38.4	12.9	65.3	0.77	7.60	6.39	4.76	4.34	0.43	123	163
	s.d. 8.76	1.93	4.59	2.49	5.66	0.076	1.46	0.76	0.369	0.315	0.396	16.4	16.1

¹ Días a partir del 1 de Enero

pHe: pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$; pHdif = pH - pHe

s.d. desviación estándar

3.2.7. Tipo de hierba ensilada

Las muestras de ensilaje procedente de praderas donde dominaba el raigrás italiano fueron las más frecuentes, representando un 37.4% del total, seguidas de las de raigrás inglés y trébol (17.6%), raigrás inglés (9.8%) y praderas envejecidas con predominio de especies no sembradas (2.9%). Un amplio porcentaje de las muestras (32.3%) procedían de silos donde se había almacenado hierba de distintas procedencias. No se dispone de información consistente acerca del porcentaje de las muestras de raigrás italiano que

procedían de cultivo invernal de variedades alternativas en rotación con el maíz forrajero, si bien datos recogidos durante los seis primeros años del estudio indicarían que el porcentaje aproximado de muestras de este tipo se aproximaría al 15% del total de los ensilajes de raigrás italiano.

Como se puede observar en la Tabla 3.2.12 la calidad de las muestras procedentes de praderas sembradas fue semejante, detectándose sin embargo valores inferiores ($p > 0.005$) para los contenidos en PBt, UFL, PDIN, PDIE y el valor pHdif de las muestras de raigrás italiano comparadas con las de raigrás inglés y trébol. La diferencia observada para este último parámetro sería indicativa de una mejor calidad fermentativa de los ensilajes de raigrás italiano comparado con la exhibida, como media, por las muestras de raigrás inglés y trébol. Los ensilajes procedentes de praderas con predominio de especies espontáneas mostraron una calidad globalmente inferior a la de las praderas sembradas, con valores significativamente inferiores ($p < 0.05$) de PBt, DMO, UFL, PDIN y PDIE comparados con los de aquellas, y un valor pHdif superior al de los ensilajes de raigrás italiano. Por otra parte, el contenido en MO de las muestras procedentes de praderas envejecidas fue inferior al de los ensilajes de raigrás inglés, y el contenido en FAD de aquellas superior al de estas muestras y al de los ensilajes de raigrás inglés y trébol. No se detectó un efecto significativo ($p > 0.05$) de la interacción entre el tipo de hierba y el número de corte sobre ninguna de las variables analizadas, mientras que los efectos número de corte, año y la interacción año x número de corte alcanzaron los mismos niveles de significación descritos en la Tabla 3.2.5.

Tabla 3.2.12. Calidad del ensilaje según el tipo de hierba ensilada

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif
Tipo de hierba										
Raigrás inglés y trébol	449	26.5	89.4	36.5	13.8	67.6	0.80	8.13	6.72	0.28
Raigrás inglés	251	27.2	89.7	36.8	13.6	67.2	0.79	8.03	6.66	0.26
Raigrás italiano	959	26.2	89.5	37.2	13.1	66.5	0.78	7.71	6.48	0.19
Mezclas de distintos tipos	826	26.6	89.5	37.1	13.4	66.6	0.78	7.87	6.55	0.24
Praderas envejecidas	74	24.8	89.0	38.0	12.3	64.7	0.75	7.22	6.15	0.28
<i>p</i>		<0.0001	0.024	<0.0001	0.045	0.039	0.016	0.045	<0.0001	<0.0001
dms		2.186	0.481	0.977	0.578	1.253	0.017	0.340	0.172	0.072
Interacción										
Tipo de hierba x N° corte		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

n: número de muestras

pHdif = pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$

ns: efecto no significativo ($p > 0.05$)

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna
p: significación del test F en el análisis de varianza

3.2.8. Presecado de la hierba

Para el conjunto del período 1991-2002, el porcentaje de muestras procedentes de hierba presecada alcanzó el 75.9% del total de ensilajes analizados. Salvo en 1991, en los restantes años la frecuencia de muestras presecadas fue mayor que la de las ensiladas por corte directo, variando dicho porcentaje entre el 88.3 y el 40.2% en los años 1995 y 1991, respectivamente (Tabla 3.2.13.). El porcentaje de muestras presecadas en el primer corte fue ligeramente inferior al de las de segundo corte (73.9 y 78.9% del total de cada aprovechamiento, respectivamente), si bien en cuatro años la frecuencia de presecado en el primer corte fue igual o superior a la del segundo, correspondiendo a estos años la menor incidencia de precipitaciones en primavera.

Tabla 3.2.13. Frecuencia anual de realización del presecado del forraje

	Porcentaje anual de ensilajes realizados por corte directo y presecados												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
1º y 2º corte														
C. directo	59.8	47.2	43.2	14.3	11.7	18.5	17.7	23.9	40.1	24.8	15.7	14.6	24.1	607
Presecado	40.2	52.8	56.8	85.7	88.3	81.5	82.3	76.1	59.9	75.2	84.3	85.4	75.9	1910
1º corte														
C. directo	54.9	57.29	48.04	13.04	15.87	17.75	15.83	29.57	55.56	33.87	22.39	14.88	27.1	340
Presecado	45.1	42.71	51.96	86.96	84.13	82.25	84.17	70.43	44.44	66.13	77.61	85.12	73.9	915
2º corte														
C. directo	64.71	47.07	38.46	15.52	7.69	19.3	19.43	17.76	25.44	15.25	8.96	14.29	21.1	267
Presecado	35.29	52.93	61.54	84.48	92.31	80.7	80.57	82.24	74.56	84.75	91.04	85.71	78.9	993

n: número de muestras en cada clase

Significación del test Chi-cuadrado en cada grupo: $p<0.0001$

Como se indica en la Tabla 3.2.14. la calidad media de los ensilajes presecados tendió a ser superior a la de los cosechados por corte directo, mostrando valores superiores ($p<0.05$) de MS, MO, UFL y PDIE, menor concentración de FAD ($p<0.0001$) y un valor de pHdif más reducido ($p<0.0001$). No se detectaron diferencias significativas para las fechas de corte medias, ni para la interacción entre realización de presecado y número de corte en ninguna de las variables estudiadas. Los efectos número de corte, año y la interacción año x número de corte alcanzaron niveles de significación semejantes a los descritos en la Tabla 3.2.5.

Tabla 3.2.14. Calidad de los ensilajes de hierba de corte directo y presecados

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif	Fecha de corte ¹
Realización de presecado											
Corte directo	607	20.6	89.0	38.3	13.2	66.5	0.78	7.77	6.37	0.30	142
Presecado	1910	28.8	89.7	36.5	13.4	66.8	0.79	7.88	6.63	0.19	141
<i>p</i>		<0.0001	0.0014	<0.0001	0.094	0.194	0.016	0.094	<0.0001	<0.0001	0.329
Interacción											
Presecado x N° corte		ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹ Días a partir del 1 de Enero

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$

n: número de muestras

p: significación del test F en el análisis de varianza

Agrupado el conjunto de muestras en función de su contenido en materia seca, se observa que el porcentaje de muestras de alta humedad ($MS \leq 20\%$) alcanza el 29.2% del total, mientras que el resto de las muestras se distribuyó en los intervalos 20-25%, 25-30% y >30% MS con frecuencias 25.6, 15.6 y 29.4%, respectivamente. Los contenidos medios de MS de dichos grupos fueron de 17.6, 22.5, 27.3 y 38.2%, respectivamente. Comparando las muestras de los dos intervalos extremos, los ensilajes de alta humedad mostraron valores medios significativamente superiores ($p < 0.05$) de FAD, PBt y PDIN a los de las muestras con más del 30% MS, mientras que los ensilajes de este grupo mostraron, de media, una concentración superior de MO y PDIE comparados con los primeros. Los ensilajes incluidos en el rango 25-30% MS mostraron valores medios de MO y PDIE más elevados, y de FAD inferiores ($p < 0.05$) comparados con los del grupo de alta humedad, no detectándose diferencias entre ambos en cuanto al contenido en proteína bruta ni al valor PDIN.

El valor pHdif de los ensilajes incluidos en cada rango de materia seca se diferenció significativamente ($p < 0.05$) del de los demás rangos, mostrando un claro efecto positivo del incremento del nivel de materia seca sobre la calidad de conservación de los ensilajes (Tabla 3.2.15). Se destaca que únicamente los ensilajes con un contenido de materia seca superior al 30% redujeron el valor pHdif por debajo del umbral 0.10, tomado como indicativo de una calidad fermentativa satisfactoria.

Tabla 3.2.15. Calidad del ensilaje de hierba según el contenido en materia seca de las muestras

Rango de materia seca (%)	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif	Fecha de corte ¹
<20	791	17.6	89.0	38.7	13.5	66.1	0.786	7.97	6.41	0.39	140
20-25	694	22.5	89.2	37.3	13.5	66.9	0.785	7.93	6.49	0.29	139
25-30	422	27.3	89.6	36.2	13.4	66.8	0.788	7.88	6.58	0.19	143
>30	795	38.2	90.3	35.3	13.1	66.6	0.788	7.68	6.76	0.04	141
<i>p</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	0.057	0.853	0.001	<0.0001	<0.0001	0.059
dms		0.50	0.22	0.44	0.28	-	-	0.16	0.08	0.05	-
Interacción											
Rango MS x N° corte		ns	ns	0.005	ns	ns	ns	ns	ns	ns	

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS(\%) + 3.44$ n: número de muestras

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna

p: significación del test F en el análisis de varianza

Debe ser reseñado que únicamente el 59.4% de los ensilajes presecados mostraron un contenido en MS superior al 25%, porcentaje que varió de forma significativa ($p<0.0001$) entre años, con valores extremos entre el 15.6 y el 96.5% en los años 1991 y 2001, respectivamente. La duración media de la permanencia de la hierba segada en el campo fue de 1.23 días, oscilando las medias anuales entre 0.89 y 2.01 días para los años 1991 y 2000, respectivamente. La relación entre la duración del presecado y el nivel de materia seca del ensilaje se estudió mediante regresión utilizando 1904 muestras de las que se tenía información sobre los días que la hierba segada había permanecido en el campo, siendo obtenida la ecuación $MS(\%) = 21.33 (\pm 0.323) + \Delta + 6.38 (\pm 0.222) D$, ($R^2 = 0.30$; $RSD = \pm 7.8$, $p < 0.0001$), donde D son los días de presecado (rango 0 a 6), y Δ es el efecto del número de corte sobre el intercepto, con un valor de $-2.82 (\pm 0.343)$ para el primer corte ($p < 0.0001$).

Como se indica en la Tabla 3.2.16, se observa una clara tendencia al incremento de la duración del presecado y, por consiguiente, del porcentaje de ensilajes presecados con más del 25% de materia seca desde los primeros años del estudio a los últimos, lo que revela un cambio de tendencia en la técnica de ensilado seguida en las explotaciones de forma prácticamente independiente de la variabilidad climática interanual.

Tabla 3.2.16 Porcentaje de muestras presecadas con un contenido en materia seca inferior o superior al 25% y duración del presecado en el campo

	Porcentaje sobre el total anual de ensilajes presecados												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
MS ≤ 25%	84.4	76.1	83.0	59.0	43.7	49.4	53.2	17.1	7.5	8.8	3.5	12.0	40.6	774
MS > 25%	15.6	23.9	17.0	41.0	56.3	50.6	46.8	82.9	92.5	91.2	96.5	98.0	59.4	1130
Duración del presecado ¹	0.89	1.20	0.94	1.00	1.04	1.03	1.27	1.81	1.89	2.01	1.85	1.70	1.23	-

n: número de muestras

¹ días de permanencia de la hierba segada en el campo

Significación del test Chi-cuadrado para ls frecuencias de ensilajes en cada grupo de MS: p<0.0001

3.2.9. Presencia de lluvia durante las operaciones de ensilado

El porcentaje de ensilajes de primer y segundo corte afectados por la lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado fue del 17.3% del total de muestras, como media del período estudiado, debiendo ser tenido en cuenta que no se disponen de los datos relativos a los años 1988 a 2001 (Tabla 3.2.17.). Dicho porcentaje varió significativamente entre años(p<0.0001), oscilando entre el 29.1% en el año 1993 y únicamente el 8.3% en el 2002. La distribución anual de precipitaciones en la Galicia atlántica, con una mayor frecuencia de lluvias en primavera, se refleja en el mayor porcentaje de ensilajes de primer corte afectados por la lluvia (25.3%) comparados con los de segundo corte (10.2%). Estos porcentajes variaron ampliamente entre los distintos años (p<0.0001), con valores extremos del 40.2% y 8.3% para las muestras de primer corte (años 1993 y 2002, respectivamente) y del 18.3% y 5.4% para las de segundo corte (años 1993 y 1995, respectivamente).

Tabla 3.2.17. Frecuencias anuales, en porcentaje, de ensilajes afectados por lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado

		Presencia de lluvia, en porcentaje de muestras dentro de cada año								Total	n
		1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	2002	1991-2002	
Primer y Segundo cortes	Sin lluvia	82.3	81.3	70.9	83.6	87.4	84.4	77.5	91.7	82.7	1474
	Con lluvia	17.7	18.7	29.1	16.4	12.6	15.6	22.5	8.3	17.3	318
Primer corte	Sin lluvia	80.4	76.5	59.8	77.0	80.0	76.9	72.0	91.7	74.7	673
	Con lluvia	19.6	23.5	40.2	23.0	20.0	23.1	28.0	8.3	25.3	227
Segundo corte	Sin lluvia	84.3	86.2	81.7	90.2	94.6	91.8	83.3	91.6	89.8	801
	Con lluvia	15.7	13.8	18.3	9.8	5.4	8.2	16.7	8.4	10.2	102

n: número de muestras (no existen datos acerca de la presencia de lluvia para los años 1998 a 2001)

Significación del test Chi-cuadrado en cada grupo de número de corte: p<0.0001

Como se indica en la Tabla 3.2.18, los ensilajes afectados por la lluvia tuvieron, de media, una calidad inferior comparada con la de los cosechados en tiempo seco. Los valores medios de MS, DMO, UFL y PDIN fueron inferiores, y los de FAD y pHdif superiores ($p < 0.05$) para los ensilajes afectados por lluvia comparados con los cosechados con buen tiempo.

No se detectó un efecto significativo ($p > 0.05$) de la interacción entre el tipo de hierba y el número de corte sobre ninguna de las variables analizadas, mientras que los efectos número de corte, año y la interacción año x número de corte alcanzaron los mismos niveles de significación descritos en la Tabla 3.2.5.

Tabla 3.2.18.- Calidad del ensilaje de hierba afectado o no por la lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado

	N	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif
Presencia de lluvia										
Sin lluvia	1474	25.5	89.6	37.0	13.6	67.6	0.80	8.01	6.67	0.20
Con lluvia	318	21.4	89.4	38.8	13.4	65.9	0.78	7.90	6.40	0.34
<i>p</i>		<i><0.0001</i>	<i>0.326</i>	<i><0.0001</i>	<i>0.251</i>	<i>0.031</i>	<i>0.013</i>	<i>0.251</i>	<i>0.002</i>	<i>0.019</i>
Interacción										
Lluvia x N° corte		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$

n: número de muestras (no existen datos acerca de la presencia de lluvia para los años 1998 a 2001)

ns: efecto no significativo ($p > 0.05$)

p: significación del test F en el análisis de varianza

En la Tabla 3.2.19 se compara la calidad de los ensilajes de corte directo y presecados afectados o no por la lluvia durante las operaciones de ensilado. Como puede apreciarse, mientras que se mantienen las tendencias comentadas anteriormente entre los ensilajes presecados y los de corte directo, los ensilajes que fueron presecados con climatología favorable presentaron una mejor calidad media comparados con el resto de las muestras, con valores de MS, DMO, UFL y PDIE superiores ($p < 0.05$) y de FAD y pHdif inferiores ($p < 0.05$) a los correspondientes valores de los ensilajes de corte directo y presecados con presencia de lluvia. Estos mostraron un valor medio de pHdif superior al correspondiente al resto de las muestras, y un contenido en FAD superior al de los ensilajes de corte directo cosechados con tiempo seco. El contenido en MS de los ensilajes de corte directo afectados por la lluvia fue significativamente inferior al del resto de las muestras.

Tabla 3.2.19. Calidad de los ensilajes de hierba de corte directo y presecados afectados o no por la lluvia en algún momento de las operaciones de ensilado

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif
Presecado, sin lluvia	1182	29.6	89.7	37.0	13.7	67.8	0.80	8.05	6.75	0.16
Presecado, con lluvia	197	22.4	89.6	38.9	13.6	66.0	0.77	7.99	6.36	0.39
Corte directo, sin lluvia	288	21.7	89.3	38.5	13.4	66.3	0.78	7.89	6.39	0.23
Corte directo, con lluvia	120	20.0	89.4	39.1	13.3	65.7	0.77	7.80	6.32	0.26
<i>p</i>		0.013	0.56	0.034	0.873	0.042	0.023	0.873	0.034	0.045
dms		1.42	-	0.74	-	0.80	0.012	-	0.128	0.11

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$ (Haigh, 1987)

n: número de muestras (no existen datos de tipo de cosechadora para los años 1998 a 2001)

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna

p: significación del test F en el análisis de varianza

3.2.10. Uso de aditivos

Aproximadamente uno de cada tres ensilajes fue tratado con aditivo, como media del conjunto de muestras del período 1991-2002. Dicha frecuencia varió ($p<0.0001$) entre los diferentes años, con valores extremos del 47.2 al 11.2% de ensilajes a los que se les aplicó algún aditivo respecto del total anual, para los años 1998 y 2002, respectivamente (Tabla 3.2.20). De entre los ensilajes tratados con aditivo, el 58.8% del total lo fue con ácido fórmico o mezclas de ácido fórmico y formol, el 35.6% con formulaciones sólidas de sales de ácidos y el 5.6% restante con inoculantes a base de bacterias lácticas. No se incluyeron en el análisis un reducido número de muestras que habían sido tratadas con sal común (2 muestras), melazas (5 muestras), pulpa de remolacha seca (3 muestras) y harina de cereal (1 muestra), todas ellas con cantidades indeterminadas de producto. Mientras que en prácticamente todos los años la proporción de ensilajes tratados con ácido fórmico superó a los otros dos tipos de aditivos, se advierte un claro incremento de la frecuencia de uso de inoculantes en los cinco últimos años del estudio (Tabla 3.2.21). Aunque no fue posible diferenciar las muestras tratadas con ácido fórmico de las que recibieron la aplicación de fórmico y formol, a partir de 1997 no se utilizó este último producto como aditivo.

Tabla 3.2.20 . Frecuencia anual de uso de aditivos en el ensilado

	Porcentaje anual de ensilajes												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
Sin Aditivo	70.3	63.3	66.2	63.6	64.5	67.1	54.0	52.8	58.9	70.7	71.4	88.8	65.7	1724

Con Aditivo 29.7 36.7 33.8 36.4 35.5 32.9 46.0 47.2 41.1 29.3 28.6 11.2 34.3 899

n: número de muestras

Significación del test Chi-cuadrado: $p < 0.0001$

Tabla 3.2.21 . Tipo de aditivo utilizado en los ensilajes que fueron tratados con algún conservante

	Porcentaje anual de cada tipo de aditivo en los ensilajes tratados con conservante												Total	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	1991-2002	
Fórmico¹	66.7	44.8	77.9	70.2	61.5	58.0	57.5	50.0	71.6	50.0	40.4	44.4	58.8	529
Sales de Ácido	33.3	55.2	22.1	29.8	38.5	42.0	42.5	40.7	17.4	25.1	36.5	37.0	35.6	320
Inoculantes	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.3	11.0	24.9	23.1	18.5	5.6	50

¹ incluye las mezclas de Fórmico y Formol

n: número de muestras

En la Tabla 3.2.22 se presentan los resultados del análisis de varianza del efecto del tipo de aditivo, donde se incluyó la fecha de corte como covariable, habiéndose evidenciado previamente la existencia de diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las fechas de corte medias de los distintos niveles del factor tipo de aditivo. El efecto de la fecha de corte se mostró significativo ($p < 0.0001$) sobre todas las variables analizadas, salvo para el valor pHdif.

El contenido medio de materia seca de las muestras de ensilaje sin aditivo fue semejante al de las tratadas con inoculante (27.1 y 26.9 %MS, respectivamente) y significativamente superior ($p < 0.05$) al de los ensilajes a los que se había aplicado ácido fórmico (24.4 % MS) y sales de ácido (24.7 % MS), que no se diferenciaron entre sí, a este respecto. Las muestras de ensilaje sin aditivo y las tratadas con sales de ácido tendieron a presentar una peor calidad, en cuanto al valor energético y nitrogenado, comparadas con las tratadas con ácido fórmico e inoculantes, mostrando las primeras valores inferiores ($p < 0.05$) de PBt, DMO, UFL y PDIN comparados con las segundas. La magnitud del valor medio de pHdif de las muestras sin aditivo y de las tratadas con ácido fórmico y sales de ácido no fue diferente ($p > 0.05$), lo que denota que la calidad de conservación de los ensilajes no se vio influida por el tratamiento con estos dos tipos de aditivo. Sin embargo las muestras que habían sido inoculadas con bacterias lácticas mostraron un valor pHdif significativamente inferior al del resto de los ensilajes ($p < 0.05$), por debajo del valor 0.10 tomado como indicativo de una satisfactoria calidad de conservación.

Debe ser señalado que las frecuencias de las muestras pertenecientes a los distintos niveles del factor aditivo no difirieron significativamente ($p = 0.151$) dentro de los grupos

de ensilajes de corte directo y presecados, observándose porcentajes de las muestras que no habían recibido conservante, las tratadas con ácido fórmico, con sales de ácido y con inoculante de 63.7, 22.8, 12.4 y 0.98 para los ensilajes de corte directo, y 68.1, 19.3, 12.0 y 0.64 para los presecados, respectivamente. La interacción uso de aditivo x presecado del forraje no fue significativa ($p>0.05$) para ninguna de las variables estudiadas, salvo para el valor de pHdif. Según estos resultados, tanto las muestras de ensilaje de alta humedad (15.5 % MS) como de ensilajes presecados (29.0 % MS) tratadas con inoculante mostraron una calidad fermentativa superior a la del resto de los ensilajes de corte directo y presecados, si bien debe ser tenido en cuenta la diferencia entre los valores de la variable pHdif para el primer y segundo grupo (0.18 y 0.01, respectivamente) superándose en el primer caso el valor 0.10 tomado como indicativo de una calidad de fermentación satisfactoria.

La interacción entre el número de corte y la aplicación de aditivo no se mostró significativa para ninguna de las variables estudiadas.

Tabla 3.2.22.- Uso de aditivo y calidad del ensilaje

	N	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif
Uso de aditivo										
Sin aditivo	1724	27.1	89.6	37.1	13.1	66.5	0.78	7.69	6.52	0.24
Ácido Fórmico	529	24.4	89.3	36.4	13.8	67.9	0.80	8.15	6.66	0.19
Inoculantes	50	26.9	89.2	36.1	13.9	68.6	0.81	8.20	6.68	0.07
Sales de Ácidos	320	24.7	89.4	37.4	13.1	66.7	0.78	7.70	6.46	0.22
<i>p</i>		<0.0001	0.057	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.047
dms		2.12	-	0.94	0.53	1.19	0.016	0.31	0.16	0.10
Aditivo x presecado										
Corte Directo										
Sin aditivo	402	21.2	89.0	38.7	12.9	66.00	0.77	7.58	6.30	0.35
Ácido Fórmico	148	18.8	88.8	37.4	13.6	68.35	0.80	8.03	6.52	0.25
Inoculantes	17	15.5	88.9	37.2	13.7	69.67	0.82	8.07	6.51	0.18
Sales de Ácidos	81	18.6	88.9	38.6	12.6	66.26	0.77	7.41	6.19	0.28
Presecado										
Sin aditivo	1321	29.6	89.8	36.6	13.1	66.6	0.79	7.72	6.60	0.20
Ácido Fórmico	380	27.2	89.6	36.0	13.9	67.7	0.80	8.17	6.72	0.17
Inoculantes	33	29.0	88.9	35.4	14.3	68.4	0.80	8.42	6.83	0.01
Sales de Ácidos	239	27.4	89.5	36.7	13.3	66.9	0.79	7.83	6.59	0.20
<i>p</i>		0.642	0.773	0.481	0.463	0.108	0.088	0.461	0.316	0.045
dms		-	-	-	-	-	-	-	-	0.15
Aditivo x N° corte		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Medias ajustadas utilizando la fecha de corte como covariable

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$

n: número de muestras

p: significación del test F en el análisis de varianza

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna

3.2.11. Tipo de cosechadora utilizada en las explotaciones

La información acerca del tipo de cosechadora utilizado en el ensilado de las diferentes muestras del presente estudio se refiere al período 1991-1998 y al año 2002, lo suficientemente amplio como para señalar la tendencia respecto al uso de maquinaria de recolección de la hierba para ensilar en las explotaciones lecheras de la Galicia atlántica. Como media de dicho período, el 65.2% de los ensilajes se realizaron con remolque autocargador convencional o no picador (5 a 11 cuchillas), el 21.4% con autocargador picador (12 a 40 cuchillas), el 1.1% con cosechadora de mayales simple, el 9.4% con rotoempacadora y el 2.9% restante con cosechadora picadora de precisión (en su mayor parte máquinas autopropulsadas). La evolución de las frecuencias de ensilados realizados con los diferentes tipos de máquinas en los distintos años muestra una clara tendencia hacia la disminución sostenida del porcentaje anual de ensilajes cosechados con remolques no picadores (86.7% en 1991 y 25.8% en 2002), acompañado de un incremento de la frecuencia de uso de los remolques picadores (5.1% en 1991 y 38.6% en 2002) y las cosechadoras de precisión (0.3% en 1994 y 19.9% en 2002). Por su parte, las cosechadoras de mayales, que se emplearon en el ensilado del 3.1% de las muestras en 1991 no están representadas a partir de 1997, mientras que el porcentaje de ensilajes realizados con rotoempacadora osciló entre el 5.1% en 1991 y el 15.7% en 2002 (Tabla 3.2.23.)

Tabla 3.2.23.- Tipo de cosechadora utilizada en las operaciones principales de ensilado, en cada año de muestreo

	Tipo de cosechadora utilizado, en porcentaje dentro de cada año								Total 1991-2002	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	2002		
Autocargador no picador	86.7	85.5	77.7	68.0	67.8	60.3	60.7	25.8	65.2	1075
Autocargador picador	5.1	6.7	11.3	19.7	20.4	31.1	26.9	38.6	21.4	352
Mayales	3.1	2.6	2.6	1.4	0.2	0.2	0	0	1.1	21
Picadoras de precisión	0	0	0	0.3	0.4	0.2	2.6	19.9	2.9	57
Rotoempacadora	5.1	5.2	8.4	10.6	11.2	8.2	9.8	15.7	9.4	155

n: número de muestras (no existen datos del tipo de silo para los años 1998 a 2001)

Los resultados del último año de estudio permiten obtener información acerca de la incidencia de la ayuda mutua entre ganaderos y la presencia de la figura del contratista

para la ejecución de los trabajos de recolección de la hierba. Del total de los ensilajes muestreados en 2002, el 41.2% del total habían sido cosechados exclusivamente con medios propios de la explotación, el 35.1% mediante ayuda mutua entre vecinos y el 23.6% restante mediante contrata. Mientras que en los dos primeros casos las máquinas empleadas de forma generalizada eran los dos tipos de remolques autocargadores y rotoempacadoras, en el caso de la realización de la cosecha mediante contrata, la maquinaria usualmente empleada en la recolección comprendía remolques autocargadores picadores, cosechadoras de precisión autopropulsadas, y rotoempacadoras en menor medida. Atendiendo al tamaño del rebaño de las explotaciones, la frecuencia de ejecución del ensilado con medios propios fue del 42.2 y 39.2 % para las explotaciones con un tamaño de rebaño de ≤ 35 vacas y > 35 vacas, respectivamente, observándose que la frecuencia de ejecución de la cosecha por contrata prácticamente se duplicaba (del 17.9% al 35.7% de los casos) entre ambos estratos, siendo los porcentajes de muestras ensiladas con ayuda mutua entre vecinos del 39.9 y 25.1% para las explotaciones de ≤ 35 y > 35 vacas, respectivamente.

En el análisis del efecto del tipo de cosechadora se incluyó la fecha de corte como covariable, dada la existencia de diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias de dicha variable para los distintos niveles del antedicho factor. El efecto de la fecha de corte se evidenció significativo ($p < 0.0001$) sobre todas las variables analizadas, salvo para el valor pH_{dif} (Tabla 3.2.24).

El contenido en materia seca de las muestras cosechadas con rotoempacadora (29.5%) fue significativamente superior ($p < 0.0001$) a la de las correspondientes a los otros tipos de máquinas, mientras que los correspondientes a la cosechadora de mayales mostraron un valor significativamente inferior al resto (21.9% MS). Debe ser indicado que la cosechadora de mayales no permite la realización del presecado de la hierba, por lo que necesariamente estos ensilajes se realizan introduciendo en el silo la hierba con su contenido natural de humedad. Este tipo de ensilajes mostraron un contenido en MO inferior al del resto de las muestras, mientras que los de PBt, UFL, PDIN y PDIE fueron inferiores ($p < 0.05$) a los correspondientes a las muestras ensiladas con cosechadoras de precisión y autocargador picador, los cuales tendieron a presentar una mejor calidad en cuanto al contenido energético y nitrogenado de los ensilajes. Las muestras cosechadas

con autocargador convencional y rotoempacadora no se diferenciaron entre sí ($p < 0.05$) para ninguna de las variables estudiadas, siendo el contenido en UFL de estos ensilajes superior al de las muestras de ensilajes recogidos con cosechadora de mayales. El valor medio de pHdif de los ensilajes se vio significativamente afectado ($p = 0.0004$) por el tipo de cosechadora, diferenciándose claramente las muestras cosechadas con picadoras de precisión y máquina de mayales de las cosechadas con las restantes máquinas observándose valores medios de pHdif de 0.003, 0.006, 0.21, 0.24 y 0.25 para cosechadora de mayales, picadoras de precisión, autocargador picador, rotoempacadora y autocargador no picador, respectivamente, denotando una mejor calidad de conservación para las dos primeras máquinas cosechadoras.

La interacción entre el número de corte y la aplicación de aditivo no se mostró significativa para ninguna de las variables estudiadas.

Tabla 3.2.24. Calidad del ensilaje de hierba realizado con diferentes tipos de cosechadora

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif
Tipo de cosechadora										
Autocargador no picador	1075	24.3	89.5	37.7	13.3	66.5	0.78	7.83	6.49	0.25
Autocargador picador	352	24.4	89.7	37.3	13.8	67.0	0.79	8.15	6.60	0.21
Mayales	22	21.9	88.6	39.8	12.8	64.9	0.75	7.56	6.10	0.003
Precisión	57	24.2	89.6	37.3	13.8	67.1	0.79	8.15	6.55	0.006
Rotoempacadora	155	29.5	89.9	37.5	13.2	66.0	0.78	7.74	6.57	0.24
<i>p</i>		<i><0.0001</i>	<i>0.0184</i>	<i>0.1070</i>	<i>0.0013</i>	<i>0.086</i>	<i>0.027</i>	<i>0.0013</i>	<i>0.0053</i>	<i>0.0004</i>
dms		2.66	0.63	-	0.731	-	0.025	0.548	0.274	0.166
Interacción										
Cosechadora x N° corte		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Medias ajustadas utilizando la fecha de corte como covariable

pHdif = pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$

n: número de muestras (no existen datos del tipo de cosechadora para los años 1998 a 2001)

p: significación del test F en el análisis de varianza

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha = 0.05$) entre dos valores de la misma columna

3.2.12. Tipo de silo

En la Tabla 3.2.25. se recoge información acerca del tipo de silo del que procedían las muestras, distinguiéndose los realizados en obra de fábrica, con paredes y solera de hormigón, de los ejecutados directamente sobre tierra, usándose por lo general una lámina de plástico como base. No se dispone de datos del tipo de silo para las muestras correspondientes al período 1998-2001. Como media de los 8 años restantes, las muestras

procedentes de silo almiar, sobre tierra, representan el 83.2% del total, correspondiendo el 16.8% restante a silos de obra de fábrica. La frecuencia de muestras procedentes de ambos tipos de silo varió significativamente ($p < 0.0001$) entre años, oscilando el porcentaje de ensilajes almacenados en silos de obra de fábrica entre el 15.1 y el 18.4% del total de muestras en los años 1991 a 1996, para ascender al 20.0% en 1997, llegando al 26.4% en el último año del estudio, lo cual parece evidenciar una tendencia al incremento de este tipo de silo en las explotaciones.

Las características de los silos de procedencia de las muestras de ensilaje analizadas en el año 2002 se muestran en la Tabla 3.2.26. Los silos tipo almiar son de menores dimensiones comparados con los de obra de fábrica, diferenciándose en particular por la menor altura y un volumen total de algo menos de la mitad del primer tipo de silo respecto del segundo (valores medios de 1.3 y 1.9 m de altura, y 116 y 256 m³ de volumen para los silos tipo almiar y de obra de fábrica, respectivamente).

Tabla 3.2.25. Frecuencias del tipo de silo del que proceden las muestras de ensilaje

	Tipo de silo, en porcentaje de muestras dentro de cada año								Total 1991-2002	n
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	2002		
Almiar sobre tierra	83.0	84.1	85.8	81.6	84.9	84.6	80.0	73.6	83.2	1347
Paredes y solera de obra de fábrica	17.0	15.9	14.2	18.4	15.1	15.4	20.0	26.4	16.8	272

n: número de muestras (no existen datos del tipo de silo para los años 1998 a 2001)

Significación del test Chi-cuadrado en cada grupo: $p < 0.0001$

Tabla 3.2.26. Dimensiones medias (y desviación estándar) de los silos de procedencia de las muestras en el año 2002

	Anchura m	Altura m	Longitud m	Volumen m ³
Almiar sobre tierra	6.3 (1.4)	1.3 (0.5)	19.1 (5.9)	116.9 (80.6)
Paredes y solera de obra de fábrica	7.1 (1.8)	1.9 (0.7)	21.3 (5.9)	265.6 (112.0)

Como muestra la tabla 2.2.27., las muestras de ensilaje procedentes de silos de obra de fábrica tendieron a presentar una mejor calidad comparadas con las de tipo almiar, siendo observadas diferencias significativas ($p < 0.05$) para los contenidos en PBt, PDIN y PDIE, así como para el valor pHdif, a favor de las muestras del primer tipo de silo, lo cual sugiere una mejor calidad de éstas frente a las procedentes de silos almiar.

Tabla 3.2.27. Calidad del ensilaje de hierba según el tipo de silo

Tipo de silo	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif	Fecha de corte ¹
Almiar sobre tierra	1342	24.1	89.2	37.6	13.4	66.6	0.79	7.92	6.50	0.23	141
Paredes y solera de obra de fábrica	272	24.6	89.5	37.3	13.8	67.0	0.80	8.16	6.60	0.15	138
	<i>p</i>	0.309	0.407	0.891	0.011	0.168	0.268	0.011	0.026	0.023	0.122
Interacción											
Silo x N° corte		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹ días a partir del 1 de Enero

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS (\%)+3.44$

n: número de muestras (no existen datos del tipo de silo para los años 1998 a 2001)

p: significación del test F en el análisis de varianza

3.2.13. Tamaño de explotación

Del total de muestras de ensilaje analizadas durante el período 1991-1997 y 2002, un 12.4% de las mismas procedían de explotaciones de 15 o menos vacas, el 67.6% de explotaciones de 16 a 35 vacas y el 20.0% restante a explotaciones de 36 o más vacas. El número medio de vacas de leche de cada estrato fue de 13.0 ± 2.1 , 24.1 ± 5.3 y 47.8 ± 10.7 , respectivamente. Como se observa en la Tabla 3.2.28. el tamaño de rebaño de la explotación afectó significativamente ($p < 0.05$) a todas las variables analizadas salvo a los contenidos de MS y MO, siendo observada una relación positiva entre la dimensión de la explotación y la calidad del ensilaje. La fecha media de ensilado fue significativamente diferente entre estratos y varió de forma inversa al tamaño de rebaño, indicando que las explotaciones de mayor tamaño realizan, de media, un aprovechamiento más precoz de la hierba para ensilar, comparadas con las de menor dimensión. Concordando con esta observación, las muestras de ensilaje procedentes de explotaciones con más de 35 vacas tuvieron valores medios de FAD y pHdif inferiores a las del primer estrato y de PBt, DMO, UFL, PDIN y PDIE superiores ($p < 0.005$) a las correspondientes al resto de explotaciones, indicando una mejor calidad fermentativa y un mayor valor energético y nitrogenado, como media, de los ensilajes realizado en las explotaciones de mayor tamaño. La interacción entre el número de corte y el tamaño de rebaño no se mostró significativa para ninguna de las variables estudiadas.

Tabla 3.2.28. Calidad del ensilaje de hierba según el tamaño de rebaño de las explotaciones

	n	MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pHdif	Fecha de corte ¹
Tamaño de rebaño²											
≤ 15	226	26.8	89.5	37.4	12.9	66.1	0.78	7.58	6.45	0.25	142
16-35	1234	26.1	89.5	36.8	13.4	67.1	0.79	7.86	6.57	0.22	139
> 36	366	26.6	89.5	36.5	13.8	67.8	0.80	8.10	6.68	0.12	133
<i>p</i>		0.3670	0.9360	0.0230	<0.0001	0.0030	0.0003	<0.0001	0.0002	0.031	0.016
dms		-	-	0.44	0.26	0.56	0.006	0.15	0.08	-	1.72
Interacción											
Tamaño x N° corte		ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹ días a partir del 1 de Enero² número de vacas de leche de la explotaciónpHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación $pHe=0.0359MS(\%)+3.44$

n: número de muestras (no existen datos del tamaño de rebaño de las explotaciones para los años 1998 a 2001)

p: significación del test F en el análisis de varianza

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma columna

3.3. DISCUSIÓN

Existe escasez de información en la bibliografía que permita comparar nuestros resultados con los obtenidos en explotaciones lecheras de otras zonas de la geografía española que utilicen el ensilaje de hierba en la alimentación del vacuno. Por otra parte, resulta difícil la comparación de resultados obtenidos en prospecciones realizadas en diferentes años, dada la acusada variabilidad anual de la calidad de los ensilajes, incluso en un mismo conjunto de explotaciones de la misma localización geográfica. El método seguido para la estimación del valor energético añade una dificultad adicional a la comparación entre muestras procesadas por laboratorios diferentes. Bravo y Oregui (1988) indican valores medios de una muestra de 127 ensilajes de hierba de explotaciones del País Vasco de 24.4% MS, 11.4% PB, pH 4.80 y 9.7 MJ EM kg⁻¹ MS. Galdúroz e Iriarte (1996), para una muestra de 108 ensilajes de hierba de explotaciones navarras indican valores medios de 26.6±7.1% MS, 12.6±2.5% PB, pH 4.64±0.51 y 9.6±0.7 MJ EM kg⁻¹ MS.

Una indicación de la calidad de los ensilajes de hierba realizados en el occidente de la cornisa cantábrica la encontramos en los trabajos de De la Roza *et al.*, (1992) quienes, para muestras procedentes de explotaciones ganaderas asturianas, indican contenidos medios en MS de 23.84±8.0, PB (%MS) 12.0±2.79, pH 4.78±0.58 y una concentración energética de 6.86 MJ EM kg⁻¹ MS. Años más tarde, De la Roza *et al.*, (1999) observan, para el mismo tipo de forraje ensilado, contenidos medios en MS (%), PB (%MS), pH y EM (MJ kg⁻¹ MS) de 31.9±8.0, 10.8±2.6, 4.77± 0.59 y 9.2±0.9, indicando que la forma de ensilado preferido es la elaboración de rotopacas encintadas, y resaltando el bajo contenido energético y proteico de las muestras, probablemente como consecuencia de un retraso en la fecha de corte derivado de la necesidad de aguardar a la presencia de condiciones climatológicas favorables para presecar la hierba, así como una deficiente calidad de conservación.

Para los ensilajes de hierba, la información recogida en las Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para rumiantes del MAFF (1987) se refiere a ensilajes de raigrás inglés, cuyos valores medios de PBt (%MS) y EM (MJ kg⁻¹ MS) son 15.9±4.5 y 10.7±1.4. En las Tablas de alimentación del INRA (Andrieu *et al.*, 1989), para ensilajes de raigrás inglés e italiano se encuentran valores medios de PBt (%MS) de 11.5,

variando entre 15.1% para ensilajes de primer corte de raigrás inglés cortados precozmente (antes del 10% espigado) y 9.3% para ensilajes de raigrás italiano cortados en pleno espigado, y de EM (MJ kg^{-1} MS) de 10.0, oscilando entre 11.7 y 8.8 para los primeros cortes precoces de raigrás inglés y los segundos cortes de raigrás italiano, presecados.

En nuestro estudio, los valores medios del conjunto de las muestras de ensilaje, para MS (%), PBt (%MS), PB (%MS) y EM (MJ kg^{-1} MS) fueron 26.5 ± 9.4 , 13.4 ± 2.3 , 11.8 ± 2.4 y 9.4 ± 0.73 , cuando se expresaban sobre materia seca no corregida, y 27.8 ± 9.5 , 12.8 ± 2.3 , 11.3 ± 2.2 y 9.8 ± 0.75 cuando se corregían los resultados por pérdidas de volátiles en estufa. El valor medio de pH fue 4.6 ± 0.42 . Teniendo en cuenta que los referidos valores medios de las tablas inglesas y francesas están expresados sobre MS corregida por pérdida de volátiles en la estufa, se observa que el contenido energético medio de las muestras de las explotaciones gallegas se sitúa por debajo de los correspondientes valores tabulares, mientras que el contenido proteico es intermedio.

Con relación a las categorías de calidad establecidas en nuestro estudio, relativas al contenido en proteína y digestibilidad, por un lado, y a la calidad de conservación indicada por el valor pH_{dif}, los valores medios de la muestra se calificarían como de aceptables, si bien el índice de calidad de conservación está muy próximo al valor umbral que señala una fermentación incorrecta. Los resultados de los trabajos de Bravo y Oregui (1988), Galdúroz e Iriarte (1996) y De la Roza *et al.*, (1992, 1999) parecen indicar asimismo una deficiente calidad fermentativa para las muestras representativas de los ensilajes producidos en las explotaciones de la cornisa cantábrica.

3.3.1. Factores de variación de la calidad de los ensilajes

La variabilidad en la composición química, digestibilidad y valor nitrogenado de las muestras de ensilajes de hierba refleja un amplio conjunto de efectos relacionados con las características propias del forraje en pie y con la metodología empleada en el proceso de ensilado. La composición química y, como resultado, la digestibilidad del ensilaje de hierba depende fundamentalmente de la correspondiente al forraje original, y está afectada más por el estado de desarrollo que por cualquier otro factor de manejo, como el contenido en materia seca (MS) en el momento de la cosecha o el método de cosecha

(Reid *et al.*, 1959, Van Soest *et al.*, 1978, Waldo y Jorgensen, 1981). Según Cherney y Cherney (1993), los principales factores que influyen en la calidad del ensilaje de hierba son, por orden de importancia, la madurez del forraje, la especie vegetal, el método de cosecha y almacenamiento, las condiciones climáticas, la fertilidad del suelo y la variedad cultivada.

En nuestro estudio, el modelo utilizado en el análisis conjunto de todas las fuentes de variación conocidas explica un reducido porcentaje de la varianza total del contenido en DMO, PBt y pHdif (41.6, 30.5 y 29.8% respectivamente). Esto sería reflejo de la existencia de otros factores no incluidos en el modelo (por ejemplo, fecha del último aprovechamiento de la hierba antes de ser cerrada la parcela para ensilar y estado fisiológico de la hierba en el momento de aprovechamiento, entre otros) así como de la dificultad de obtener muestras suficientemente representativas de la masa de forraje ensilada, además de los errores derivados de la manipulación y análisis de las muestras. Se asume frecuentemente que el ensilaje es una masa homogénea en la cual la humedad y los nutrientes están distribuidos de forma uniforme. Sin embargo, tal como indica Pauly (1999), en la práctica los ensilajes de las explotaciones pueden tener una composición muy heterogénea a lo largo de la masa ensilada, siendo observada una elevada variabilidad en altura de los parámetros de calidad del ensilaje, cuyos valores se distribuyen de forma marcadamente irregular. Flores *et al.*, (2002a), en un estudio realizado sobre 99 silos de hierba de explotaciones ganaderas gallegas de 100-170 m³ de capacidad muestreados con sonda en diversos puntos, indican que el error probable cometido en la estimación de la verdadera media cuando se muestrea en uno o dos puntos de su superficie ($\alpha=0.05$) es, respectivamente, del 16.7-11.7% para MS(%), 6.9-4.9% para MO (%MS), 13.7-9.7% para FAD (%MS), 10.2-7.2% para pH y 10.2-7.2% para la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%), advirtiendo que un muestreo inadecuado puede comprometer seriamente la utilidad de los resultados analíticos.

En un estudio similar al nuestro, Stilmant *et al.*, (1998) estudiaron la variabilidad de la calidad de 3800 muestras de ensilaje de hierba producido durante cinco años (1993 a 1997) en explotaciones belgas, considerando como fuentes de variación el número de corte, el año, el origen geográfico, la presencia de lluvia, la duración del presecado, el modo de almacenamiento (silos y rotopacas) y el uso de aditivo. Dichos autores indican

que únicamente el 34% de la varianza del valor energético de las muestras podía ser explicada por los citados factores conocidos, porcentaje que ascendía al 46% para el valor nitrogenado. El origen geográfico, el número de corte, la presencia de lluvia durante las operaciones de cosecha y el modo de almacenamiento son los factores con mayor contribución a la varianza explicada del valor energético, mientras que la presencia de lluvia, el número de corte y el origen geográfico son responsables de la mayor proporción de varianza explicada del valor nitrogenado de los ensilajes. Nuestros resultados coinciden, en líneas generales, con los obtenidos en este trabajo, si bien la importancia de los factores año y localidad difiere de lo referido en el mismo. Mientras que el factor año y sus interacciones con los factores fijos es responsable del 61.2 y 47.3% de la varianza explicada de DMO y PBt en nuestro estudio, sólo contribuye en un 7 y 5%, respectivamente en el estudio belga. Por el contrario, mientras que el factor localidad en el trabajo de Stilmant *et al.*, (1998) era responsable del 48 de la varianza explicada del valor energético, en nuestro caso dicha contribución sólo alcanzaba el 8.1%. Estos resultados ponen de manifiesto la acusada variabilidad interanual de la calidad de los ensilajes de las explotaciones gallegas y la importancia de factores como el número de corte, el tipo de hierba, presencia de lluvia y uso de aditivo en cuanto a la digestibilidad y contenido en proteína de los ensilajes.

3.3.2. Calidad de las muestras de primer y segundo corte y evolución anual de la calidad del ensilaje

En concordancia con lo anteriormente descrito, la evolución de la calidad media de las muestras de ensilaje a lo largo de los 12 años del estudio pone de manifiesto la existencia de un marcado efecto del año sobre los valores medios anuales de los diferentes parámetros, reflejo de las características del forraje en el momento de corte, la tecnología de ensilado utilizada y las condiciones climatológicas mas o menos favorables para la realización del ensilado. En condiciones irlandesas, Wilson y O’Kiely (1990), estudiando la calidad del ensilaje de hierba producido en explotaciones ganaderas durante cuatro años (1985-1988), subrayan la significativa variabilidad interanual de su calidad, indicando para el primer corte valores medios anuales de MS (%), PB, pH y digestibilidad de la materia seca determinada *in vitro* (IVDMS), que oscilaron de 19.1 a 20.4, de 14.2 a 15.5, 3.96 a 4.24 y 63.3 a 67.9 para MS, PB, pH y IVDMS, respectivamente. Para el

segundo corte, el rango de variación de las medias anuales fueron de 19.6 a 20.2, 14.6 a 15.4, 3.88 a 4.08 y 63.3 a 64.9, respectivamente, para MS, PB, pH y IVDMS. En nuestro estudio encontramos, para las muestras de primer corte, diferencias máximas entre los valores medios anuales de 7.1 unidades para DMO (%) y 2.6 unidades para PBt (%MS), mientras que para los ensilajes de segundo corte las diferencias alcanzan 4.1 y 1.7 unidades para DMO y PBt, respectivamente, lo que sugiere una mayor variabilidad de la calidad de los ensilajes en nuestro caso, en lo que a valor energético y nitrogenado se refiere. Se destaca, por otra parte, la mejor calidad fermentativa de los ensilajes del trabajo de Wilson y O'Kiely (1990), a pesar del mayor contenido en humedad de las muestras, comparado con los valores medios de las explotaciones gallegas.

Para el conjunto de las muestras de primer y segundo corte, se aprecia un claro incremento del contenido medio anual en materia seca de los ensilajes, que se ve acompañada de una tendencia hacia una mejora de su valor energético y de una reducción del valor pHdif, lo que denota una calidad de fermentación más adecuada. Tal y como se expone en la Tabla 3.3.29, se observó la existencia de correlaciones significativas ($p < 0.05$), para los primeros cortes, entre el año de cosecha y los valores medios de MS ($r = 0.90$), MO ($r = -0.82$), FAD ($r = -0.81$), DMO ($r = 0.71$), UFL ($r = 0.71$), PDIE ($r = 0.72$) y la fecha de ensilado ($r = -0.63$). Estos valores son indicativos de una evolución, a través de las sucesivas campañas, hacia la obtención de ensilados procedentes de cortes más tempranos en las explotaciones, con un mayor contenido en materia seca, y una mayor concentración energética en la materia seca del forraje, en el caso de los primeros cortes. La realización de aprovechamientos más precoces explicaría parte de esta tendencia positiva, mientras que el incremento del contenido de materia seca de los ensilajes indicaría un cambio de tendencia en la metodología de ensilado empleada, que sin embargo no consigue mejorar consistentemente la calidad de conservación en los primeros cortes. Para los segundos aprovechamientos se mantiene la tendencia relativa a la producción de ensilajes con mayor contenido en materia seca, acompañada de una mejora en la calidad de conservación, obteniéndose correlaciones significativas entre el año de cosecha y el contenido en MS ($r = 0.86$) y pHdif ($r = -0.63$), así como con la fecha de cosecha ($r = -0.79$). La relativa constancia de la calidad media de los rebrotes, en cuanto al contenido energético en los sucesivos años se explica por el hecho de que el intervalo medio entre los primeros y segundos cortes se mantuvo relativamente estable para los diferentes años,

alrededor de las 5-7 semanas. Por otra parte, tal y como señalan Demarquilly y Andrieu (1992) la calidad de los rebrotes de gramíneas es menos dependiente de la edad que en el caso de los primeros ciclos, en especial cuando el primer aprovechamiento se realizó en un estado próximo al espigado, debido a la eliminación en la siega de los tallos que portan el órgano reproductivo de la planta (Reid, 1981).

Tabla 3.3.29. Coeficientes de correlación entre el año de cosecha y las medias anuales de los diferentes parámetros de calidad de las muestras de ensilaje de hierba

		MS	MO	FAD	PBt	DMO	UFL	PDIN	PDIE	pH	PHdif	Fecha de corte ¹
Primer y segundo	n=24	0.85	-0.31	-0.77	-0.07	0.47	0.40	-0.06	0.56	0.61	-0.48	-
Corte	p	<.0001	0.134	<.0001	0.762	0.019	0.053	0.767	0.0045	0.0017	0.018	-
Primer corte	n=12	0.90	-0.82	-0.81	0.00	0.82	0.71	0.00	0.72	0.79	-0.30	-0.69
	p	<.0001	0.0011	0.0014	0.9982	0.0012	0.0097	0.9975	0.0078	0.0025	0.3485	0.013
Segundo corte	n=12	0.86	-0.11	-0.20	-0.21	0.27	0.14	-0.20	0.45	0.46	-0.63	-0.79
	p	0.0003	0.726	0.160	0.516	0.3955	0.660	0.528	0.142	0.134	0.028	0.0025

¹ días a partir del 1 de Enero

n: número de observaciones

pHdif=pH – pHe, siendo pHe el pH de estabilidad, según la ecuación pHe=0.0359MS (%) + 3.44

p: significación del coeficiente de correlación

Para los primeros cortes se observó una correlación negativa ($r=-0.74$, $p=0.005$) entre las medias anuales de la fecha de ensilado (rango de medias anuales 16 Abril a 8 de Mayo) y la digestibilidad de la materia orgánica. Dicha correspondencia se describe mediante la ecuación lineal $DMO (\%) = 102.8 - 0.285 D$ ($R^2=0.54$; $RSD=1.63$, $p=0.005$, $n=12$), donde D es la fecha de corte expresada en días desde el 1 de Enero. Esta expresión indica que, para el intervalo de fechas de corte del 16 de Abril al 8 de Mayo, el descenso esperado de digestibilidad de la materia orgánica por cada semana de retraso en el corte de la hierba de primer ciclo sería de aproximadamente 2.0 unidades porcentuales. Es interesante destacar la similitud de esta observación con los resultados obtenidos en condiciones experimentales localizadas en un área geoclimática semejante a la ocupada por las explotaciones de procedencia de las muestras. Para ensilajes procedentes de una pradera de raigrás inglés (*Lolium perenne*), raigrás italiano (*Lolium multiflorum*), dactilo (*Dactylis glomerata*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y trébol violeta (*Trifolium pratense*) realizados en 1984 y 1985 en la finca del CIAM de Mabegondo (A Coruña), Flores (1985), observó una disminución del valor de digestibilidad *in vivo* de la materia seca (%) de 2,2 a 3,5 unidades por semana para primeros cortes realizados entre finales de Abril y comienzos de Junio en dichos años, lo que ilustra la variabilidad de resultados

para cortes realizados en las mismas fechas de diferentes años. Para ensilajes de cultivos de raigrás inglés (*L. perenne*, cv. *Brigantia*) y pradera de la misma variedad de raigrás inglés y trébol blanco (*Trifolium repens*) realizados en la misma localidad en dos años diferentes (1993 y 1994, respectivamente), Flores *et al.*, (1996) observaron que, durante el período 15 de Abril a 31 de Mayo, el descenso medio de digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de los ensilajes fue de 1,72 y 1,70 unidades de DMO (%), respectivamente, por semana de retraso en la fecha del primer aprovechamiento. En otro ensayo realizado en 1995 con ensilajes de raigrás italiano cosechado entre la primera semana de Abril y la última semana de Mayo, fue observado un descenso medio de la DMO *in vivo* del ensilaje del orden de 3.4 unidades (%) por semana (Flores, resultados no publicados), lo podría ser indicativo de una mayor disminución del valor energético con el retraso en la fecha de corte para el raigrás italiano comparado con el raigrás inglés. En los citados ensayos, los valores de digestibilidad *in vivo* del ensilaje para los cortes realizados a mediados de Mayo fueron de 69.0 y 66.1% DMS en los años 1984 y 1985, respectivamente, y 68.6; 68.5 y 63.2% DMO en 1993, 1994 y 1995, respectivamente (Flores, 1985; Flores *et al.*, 1996 y Flores, resultados no publicados).

Ha sido comentado en otra parte de este trabajo la mayor variabilidad del contenido proteico del conjunto de las muestras de ensilaje en comparación con el resto de los parámetros de composición química, salvo la materia seca. Este comportamiento se observa también para la media de los valores anuales, observándose, a diferencia de lo apuntado para el contenido energético, la ausencia de una tendencia definida para la evolución del contenido en proteína a lo largo del período considerado. Si bien, en general, para las especies pratenses, existe una asociación positiva entre el contenido energético y proteico en los sucesivos ciclos de crecimiento, de forma que cortes más precoces producirán ensilajes más digestibles y con mayor contenido en proteína (Reid, 1981), la relación entre ambas variables se ve sin embargo afectada por numerosos factores, como la especie vegetal, el número de ciclo, la fertilización, y las condiciones ambientales, en particular la temperatura, intensidad luminosa y la humedad del suelo (Minson, 1990). Esto explicaría, al menos parcialmente, que la mejora de calidad energética de las muestras a lo largo del período de estudio no se vea acompañada por un correspondiente incremento del contenido en proteína de los ensilajes, la cual estaría más condicionada por la variabilidad anual de las condiciones de medio que la digestibilidad

del forraje. Flores *et al.*, (2002), en un ensayo de dos años de duración, encuentran valores del contenido en proteína bruta de 7.8 y 9.8 %MS, respectivamente, para un primer corte realizado en la última semana de Abril de las especies raigrás inglés y raigrás italiano en su primer año de crecimiento, mientras que al año siguiente el aprovechamiento realizado en la misma fecha mostró valores de PB (%MS) de 11.6 y 12.7, respectivamente, para ambas especies, atribuyéndose estos resultados a las diferentes condiciones climáticas de ambos años al comienzo de primavera, como principal factor causante de los mismos.

El valor medio de DMO para las muestras de ensilajes de primer corte procedentes de las explotaciones ganaderas obtenido en el presente ensayo fue de 68.1%, mientras que el obtenido para los ensilajes de segundo corte fue de 65.3%, evidenciándose una mayor calidad media de la hierba ensilada en su primer ciclo de crecimiento, si bien no fue apreciada diferencia entre cortes en cuanto a la calidad de conservación media de los ensilajes. La menor digestibilidad de los rebrotes en comparación a la de la hierba del primer ciclo al comienzo de su crecimiento en primavera es indicado por Demarquilly y Andrieu (1992), entre otros autores. Sin embargo para praderas con trébol, la mayor contribución de la leguminosa a la materia seca total en los segundos ciclos comparados con el primer aprovechamiento frecuentemente permite obtener ensilajes de digestibilidad igual o superior a la obtenida en el primer corte. En la revisión de Flores *et al.*, (2000a) se indica que, para ensilajes de hierba cosechada a las 6 semanas tras un primer corte a finales de Abril en la finca experimental del CIAM en Mabegondo (A Coruña), se obtuvieron valores de DMO *in vivo* de 67.5% y 75.0% cuando la hierba procedía de un cultivo de raigrás inglés o de una pradera de raigrás inglés y trébol, respectivamente, siendo el contenido en proteína (PB) de 9.6 y 15.0, respectivamente. Los valores correspondientes a los ensilajes de primer corte habían sido: DMO *in vivo* 74.0 y 71.0%, PB 13.0 y 12.7 para el cultivo de gramínea y la pradera con trébol, respectivamente, indicando la existencia de una interacción entre el tipo de hierba y el número de corte. Según indican dichos autores, para un ensilaje de raigrás italiano procedente de un rebrote de 6 semanas tras un primer aprovechamiento realizado a mediados de Abril, se obtuvieron valores de DMO *in vivo* de 58.1% y un contenido en PB de 11.2% MS, siendo los correspondientes al primer corte de 64.0 para DMO *in vivo* (%) y 12.6 para PB (%MS).

3.3.3. Tipo de hierba ensilada

No se advierte una tendencia consistente acerca del porcentaje de muestras de cada tipo de hierba ensilado en los diferentes años del estudio, debido entre otras razones a la elevada variabilidad de la frecuencia anual del grupo de ensilajes incluido en la categoría “mezclas de diversos tipos”, que osciló entre el 13.2% del año 1992 al 58.8% de 1997. Dejando aparte la posible imprecisión cometida en la recogida de información en las explotaciones, este hecho ilustra acerca de la existencia de parcelas con distinta fórmula de siembra en la misma explotación, que pueden ser o no ensiladas conjuntamente dependiendo de diversas circunstancias.

La mejor calidad de las muestras de ensilaje procedentes de praderas sembradas comparadas con la de las praderas envejecidas, con predominio de especies espontáneas no hace sino confirmar las observaciones de otros autores acerca de la superioridad nutricional y la mayor producción de las especies pratenses objeto de selección y mejora genética sobre las especies espontáneas que paulatinamente pueden ir substituyendo la flora inicialmente sembrada con el paso del tiempo. Resultados de Demarquilly y Andrieu (1992), en condiciones francesas, indican un superior valor medio de la digestibilidad de praderas sembradas de gramíneas frente a las praderas naturales (71.0 y 69.5 %, respectivamente), mientras que el contenido medio en proteína bruta era semejante para ambos tipos de pasto y próximo al 14.3% MS. Para praderas cultivadas en Galicia, Castro (1994) indica que, como media de diversos cortes en verde realizados en el período de primavera-verano en praderas sembradas y pastos naturales a lo largo de diversos años, fertilizados adecuadamente, se obtenían valores de 68.9 y 65.8 DMO (%) y 11.6 y 12.3% PB (%MS), respectivamente, para los dos tipos de pasto. Estos resultados concuerdan con los valores medios obtenidos en nuestro estudio en cuanto a la digestibilidad de las muestras de ensilaje (valores medios de 66.9 y 64.7% DMO para las muestras de praderas sembradas y envejecidas, respectivamente, si bien el contenido en PBt fue también superior para las primeras (valores medios de PB, %MS de 13.3 y 12.3, respectivamente), siendo necesario hacer notar que debido al escaso número de muestras de ensilaje de praderas donde dominaban las especies espontáneas hace necesario interpretar con cautela los resultados expuestos.

Han sido comentados anteriormente diversos resultados experimentales realizados en el CIAM que parecen indicar que el raigrás italiano podría presentar un menor valor energético y proteico en ensilajes procedentes de cortes realizados a finales de Abril/comienzos de Mayo comparado con el raigrás inglés y mezclas de raigrás inglés y trébol, así como los de un segundo aprovechamiento a las 6 semanas. Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con esa indicación, toda vez que los valores medios de digestibilidad y contenido en proteína de los ensilajes de primer y segundo corte de raigrás inglés (DMO 67.6% y PB 13.8% MS) y raigrás inglés y trébol (DMO 67.2% y PB 13.6% MS) fueron significativamente superiores a los correspondientes a las muestras de raigrás italiano (DMO 66.5% y PB 13.1% MS). Estas, sin embargo, mostraron una superior calidad de conservación comparadas con el resto de los ensilajes, lo que confirmaría la mayor aptitud para ensilar de esta especie (Demarquilly, 1986, Chamberlain y Wilkinson, 1996).

3.3.4. Presecado del forraje

La hierba de aproximadamente tres de cada cuatro ensilajes estudiados había permanecido en el campo por un período mínimo de 6 horas tras la siega con el objeto de reducir el contenido de humedad del forraje antes de ser ensilado. La proporción ligeramente superior de ensilajes presecados de segundo corte respecto al primero (78.9 y 73.9%, respectivamente) indica unas condiciones climáticas más favorables para esta operación durante el mes de Junio comparado con el período Abril-Mayo, en las condiciones de la Galicia Atlántica. La práctica del presecado en las explotaciones está lógicamente relacionada con la ocurrencia de lluvias en primavera, de forma que los años de primaveras lluviosas (1993, 1998, 1999 y 2000) son los que menor frecuencia de muestras presecadas presentan. El incremento en el contenido medio anual de la materia seca de las muestras de ensilaje registrado desde 1994 a 2002 se relaciona con una frecuencia superior del número de muestras presecadas en dichos años (salvedad hecha del año 1999) con relación a los tres primeros. Mientras que en 1991 y 1992, ambos con primavera poco lluviosa, aproximadamente una de cada dos muestras era cosechada por corte directo, en años de climatología favorable predominan las muestras presecadas con una frecuencia media próxima al 85%, lo que sugiere una modificación de la técnica de

ensilado, a este respecto. Esta tendencia se corresponde con lo indicado por Wilkinson y Toivonen, (2003) acerca de que el presecado del forraje, con preferencia al corte directo, es en la actualidad la técnica de ensilado predominante en Europa, afirmando de forma categórica que en la actualidad el ensilado por corte directo no se recomienda prácticamente en ningún país europeo.

La ventajas de la realización de un presecado correcto incluyen, según Chamberlain y Wilkinson (1996), la restricción de la intensidad de la fermentación en el silo, reduciendo la concentración de ácidos y otros productos de fermentación, e incrementando la proporción de carbohidratos solubles en agua residuales en el ensilaje, lo cual contribuye a mejorar la eficiencia de la síntesis microbiana en el rumen. En opinión de Chamberlain (1987) mientras que la fermentación es el precio a pagar por la conservación de la hierba como ensilaje, la intensidad de aquella debe ser mantenida al mínimo nivel compatible con una buena calidad de conservación, lo cual constituye una ventaja indudable del presecado de la hierba. Thomas y Thomas (1985) indican que el presecado, a pesar de disminuir la concentración de fibra, reduce la digestibilidad del forraje, la cual, según Demarquilly *et al.*, (1998) alcanzaría una unidad (%DMO) por día de permanencia en el campo.

Según los resultados de nuestro estudio, al margen del mayor contenido en materia seca de las muestras presecadas comparadas con las procedentes de corte directo (28.8 y 20.6%, respectivamente), las diferencias de valor energético y proteico entre ambas fueron pequeñas, aunque favorables a las muestras presecadas, que mostraron un contenido en FAD inferior a las de corte directo y un contenido en UFL y PDIE superior a éstas. Por lo tanto parece evidenciarse un efecto positivo del presecado toda vez no se detectaron diferencias significativas entre las fechas de corte medias de ambos tipos de muestras. Dicho efecto positivo se hace patente sobre todo en la mejora de la calidad de fermentación de los ensilajes presecados, ya que el valor medio de pH_{dif}, que fue de 0.30 para las muestras de corte directo se redujo a 0.19 para las presecadas. Sin embargo dicha mejora no es suficiente como para considerar satisfactoria la calidad de conservación de estas muestras, toda vez que el valor pH_{dif} supera ampliamente las 0.10 unidades de pH considerado como el umbral indicativo de una correcta fermentación.

La mejora en la calidad de conservación observada con el incremento de materia seca de las muestras de ensilaje, agrupadas en los intervalos $\leq 20\%$, 20-25%, 25-30% y $>30\%$ MS, muestra claramente el efecto positivo de la realización de un presecado correcto. Debe advertirse que del total de muestras presecadas, únicamente el 60% estaban incluidas en los dos estratos de más de 25% MS, y que, por otra parte, éstos estaban casi exclusivamente compuestos por muestras presecadas (95 y 99%, respectivamente). Los ensilajes de más del 30% MS, con un contenido medio del 38.2% MS, mostraron una satisfactoria calidad de conservación (valor pH_{dif}=0.04) y un valor PDIE superior al resto de las muestras, sin diferenciarse significativamente de aquellas en cuanto al valor energético, lo que indica que en la práctica de las explotaciones gallegas, la realización de un presecado correcto, incluso llegando a contenidos de materia seca que a priori podrían parecer demasiado elevados, permite obtener ensilajes de buena calidad. En el estudio de Galdúroz e Iriarte (1996), se encuentra un efecto semejante, observándose que el valor medio de pH_{dif} para los ensilajes cuyo contenido en materia seca era igual o superior al 30% se situaba por debajo del umbral de 0.10 ud., indicando una buena calidad de conservación.

Por otra parte, el incremento medio diario de materia seca, del orden de 6.3 unidades (%) por día de permanencia en el campo, es semejante al observado en experiencias realizadas en el CIAM donde, en los meses de Marzo y Abril se obtuvieron, con tiempo soleado, incrementos de materia seca de 6.9 y 6.5 unidades (%) día⁻¹ en dos años consecutivos para hierba donde predominaba el raigrás inglés, en estado anterior al encañado (Flores *et al.*, 2000b), si bien es sensiblemente inferior al valor medio de 14.4 unidades de MS(%) día⁻¹ obtenido a mediados del mes de Mayo, con condiciones meteorológicas favorables (Castro *et al.*, 1997) y el mismo tipo de hierba en el estado fisiológico de comienzo de espigado.

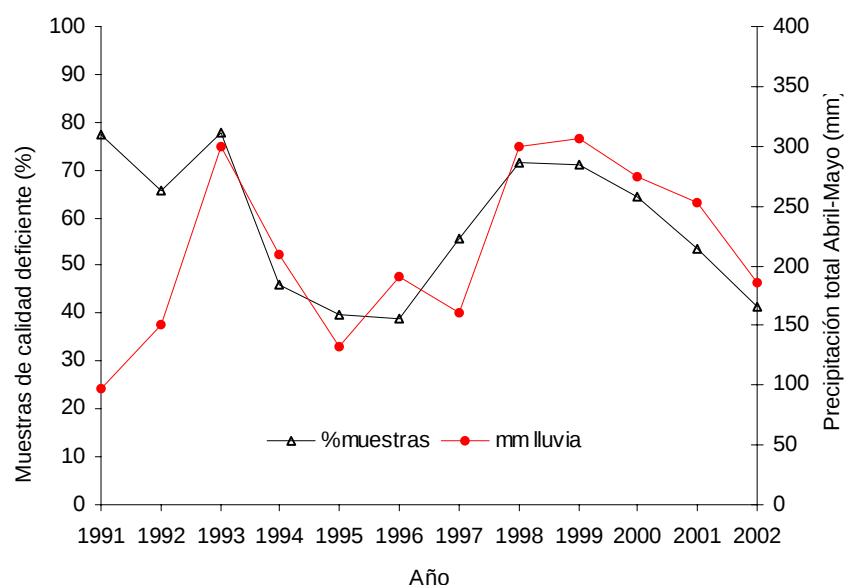
En un estudio realizado en explotaciones del Reino Unido que realizaban presecado del forraje para elaboración de ensilaje de hierba en rotopacas, Haigh, (1990) relaciona el contenido en materia seca del ensilaje con la duración del presecado mediante la ecuación $MS=0.23h+18.4$, lo que indica un valor diario de incremento en MS de 5.5 ud (%) día⁻¹ de presecado, bastante próximo al obtenido en este estudio.

Tal y como indican Pitt y Muck, (1993), la mayor dificultad de compactar el forraje presecado, comparado con el de corte directo, puede provocar un incremento de las pérdidas por deterioro aeróbico, en particular si la maquinaria empleada en la cosecha proporciona un picado grosero. A este respecto es importante señalar que un 40% de los ensilajes con más del 30% MS habían sido cosechados con autocargador convencional y un 30% con autocargador picador, no diferenciándose entre sí en cuanto a calidad, lo que refuerza la idea de que las ventajas de obtener ensilajes de alto contenido en materia seca a partir de hierba joven supera los posibles inconvenientes derivados de las limitaciones de la maquinaria o del modo de almacenamiento, tomando las debidas precauciones.

El hecho de que a lo largo del período de estudio se incrementase el porcentaje de muestras con más del 25% MS de forma consistente desde el primer al último año (15.6 a 98.0%, respectivamente), en paralelo con la duración del presecado en el campo (0.89 a 1.70 días de media, respectivamente), mientras que el porcentaje de muestras de calidad satisfactoria (con arreglo al contenido energético y proteico, y a la calidad de conservación) estuviese sujeto a fuertes fluctuaciones anuales en función de la climatología sugiere que el nivel del 25% de materia seca frecuentemente recomendado como umbral para garantizar una buena calidad de conservación (Crawshaw y Hughes, 1978; Haigh, 1987) no sería lo suficientemente efectivo para preservar el forraje, en las condiciones de las explotaciones gallegas estudiadas.

En la Figura 3.3.1. se puede observar una clara relación entre la frecuencia anual de muestras de calidad deficiente (DMO (%) <62.0 ó PBt (%MS) < 11.0 ó pHdif >0.25) y la precipitación total en el período Abril-Mayo para las muestras de primer corte a partir de 1993, lo que ilustra gráficamente acerca de lo anteriormente expuesto. Las razones del diferente comportamiento de los dos primeros años de estudio, respecto al resto de la serie, no están suficientemente claras si bien debe recordarse que en ellos se registraron las menores frecuencias de presecado de los ensilajes, que fueron cosechados con autocargador no picador en más de un 85% de los casos.

Figura 3.3.1. Evolución de la frecuencia anual de muestras de ensilaje de primer corte de calidad deficiente y la precipitación total de los meses de Abril y Mayo a lo largo del período de estudio



Debe tenerse en cuenta, sin embargo, la opinión de O’Kiely y Muck (1998) acerca de que si bien un presecado correcto permite mejorar la calidad del ensilaje y reduce o elimina la producción de efluente, cuando se practica con condiciones meteorológicas adversas puede acarrear severas pérdidas cualitativas y cuantitativas. Aunque no se dispone de datos sobre la ocurrencia de lluvia durante las operaciones de ensilado durante los años 1998 a 2001, tres de los cuales tuvieron una primavera húmeda, la información para el resto del período ilustra el efecto negativo de la lluvia sobre la calidad final del ensilaje, que se hace patente de forma particular para las muestras presecadas con tiempo lluvioso, las cuales, con un contenido medio en MS del 22.4%, mostraron una calidad fermentativa significativamente inferior a la de los ensilajes de corte directo, afectados o no por la lluvia, y en particular a la de los ensilajes presecados con buen tiempo (29.6% MS), los cuales mostraron una mejor calidad en cuanto al contenido energético y conservación comparados con el resto de las muestras.

Conviene recordar el acelerado proceso de concentración de la producción de leche en Galicia en progresivamente menos explotaciones, con el consiguiente incremento en tamaño de las mismas. El ensilaje de alta humedad se adapta mal a su manipulación en

carros mezcladores, cada vez más frecuentes en las explotaciones de mayor dimensión, y dificulta la obtención de dietas con un elevado contenido en materia seca a fin de maximizar la ingesta, sobre todo con vacas de alta producción (Mahanna, 1994). Si a ello unimos lo anteriormente expuesto, relativo a la mejor calidad media de los ensilajes presecados, puede explicarse satisfactoriamente la preferencia por la obtención de ensilajes presecados por parte de los ganaderos de la zona estudiada.

3.3.5. Uso de aditivos

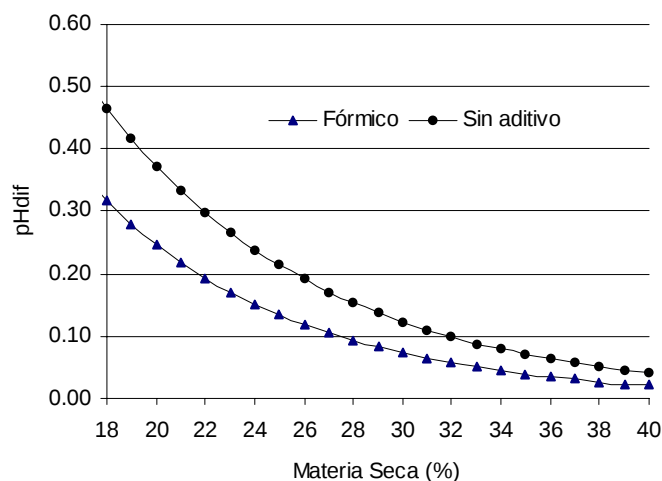
Wilkinson y Toivonen (2003) indican que la frecuencia de uso de aditivo en el ensilado de hierba en diferentes países europeos es muy variable, oscilando entre el 30% del Reino Unido o el 25% de Alemania al 4-5% de Dinamarca e Irlanda o el 2-3% de Holanda. Las cifras ofrecidas para España son del 2% para el ensilado de raigrás italiano y el 9% para otros tipos de hierba. Comparados con estos datos, la frecuencia de utilización de aditivos en las explotaciones gallegas estudiadas (34.3%, como media del período estudiado), puede considerarse de muy elevada y, tal como se indicó en el apartado correspondiente, sometida a un amplio intervalo de variación entre diferentes años, oscilando entre casi el 50% al 11.2% del total de muestras. Se destaca que los tres últimos años del estudio fueron los que menor porcentaje de muestras tratadas con aditivos registraron, en particular para el último año, en el que se observó la frecuencia más baja de la serie. No es posible deducir de los resultados si esto marca el comienzo de una tendencia hacia un menor uso de aditivos en las explotaciones. Sin embargo, de los tres tipos de aditivo utilizados (ácido fórmico y sus mezclas con formol, sales de ácido e inoculantes), el incremento de la frecuencia de uso de este último grupo en los últimos años (tendencia advertida en los países europeos por el citado trabajo de Wilkinson y Toivonen, 2003) parece compatible con el reseñado incremento de la frecuencia de realización del presecado, toda vez que se ha detectado una mayor efectividad del uso de los aditivos biológicos con hierba presecada comparado con el obtenido con forraje de alta humedad (Henderson, 1987, Flores *et al.*, 2000b).

El uso de aditivos en las explotaciones ganaderas tiene como objetivo el asegurar una satisfactoria calidad de conservación del forraje en condiciones en que ésta se podría ver comprometida, bien por causas relativas a la baja ensilabilidad del forraje o por

desarrollarse las operaciones de ensilado en condiciones climatológicas adversas (ADAS, 1984). Bajo este punto de vista, si bien las muestras de ensilaje tratadas con ácido fórmico e inoculante mostraron un mayor contenido energético y proteico medio que el correspondiente a los ensilajes sin aditivo o adicionados con un conservante del grupo de sales de ácido, los resultados obtenidos en el estudio evidencian la escasa efectividad de los aditivos empleados para conseguir una satisfactoria calidad de conservación, con la salvedad de los inoculantes aplicados a hierba presecada, cuyas muestras presentaron un valor de pHdif de 0.01 como media. Para las muestras de corte directo, el ácido fórmico no se mostró superior a las sales de ácido en cuanto a la mejora de la calidad de fermentación, siendo los valores medios de MS de las muestras de ambos grupos muy similares (18.8 y 18.6%, respectivamente), con valores de pHdif elevados (0.25 y 0.28, respectivamente) y superiores al valor medio de las muestras tratadas con inoculante (0.18), las cuales presentaron un alto contenido en humedad (valor medio MS: 15.5%). La aplicación de aditivos a las muestras presecadas tampoco se mostró efectiva en la mejora de la calidad de conservación, comparando los resultados con los de los ensilajes sin aditivo, con la salvedad citada para los inoculantes. Debe advertirse que el escaso número de muestras para los ensilajes tratados con este tipo de aditivo aconseja interpretar los resultados con precaución.

En la Figura 3.3.2. se muestra la relación entre los valores medios de pHdif y el contenido en materia seca de los ensilajes tratados con ácido fórmico y sin aditivo, obtenida tras ajustar una ecuación exponencial del tipo $Y = ae^{-bx}$, donde Y es el valor de pHdif medio correspondiente a las muestras de entre 18 y 40% MS, tomadas a intervalos crecientes de una unidad (%) de materia seca, y X el valor de MS de ese intervalo. Los coeficientes obtenidos para las muestras con fórmico y sin conservante, respectivamente, son 2.90 ± 0.32 y 3.43 ± 0.69 para a y 0.123 ± 0.02 y 0.111 ± 0.01 para b . Como puede observarse, el valor umbral medio de pHdif=0.10 se alcanza para un contenido en MS de aproximadamente 27% y 32% para la media de las muestras con fórmico y sin conservante, respectivamente, lo cual sugiere que el ácido fórmico, en las condiciones de utilización de las explotaciones, no resulta efectivo en la mejora de la calidad fermentativa de los ensilajes de alta humedad.

Figura 3.3.2. Relación entre el valor pH_{dif} y el contenido en materia seca de las muestras de ensilaje sin aditivo y tratadas con ácido fórmico



La falta de respuesta a la aplicación de ácido fórmico en las explotaciones contrasta con lo observado en condiciones experimentales por numerosos autores (O’Kiely y Flynn, 1987, Steen, 1988, McDonald *et al.*, 1991, entre otros) quienes indican que este aditivo mejora de forma consistente la calidad fermentativa de la hierba respecto a ensilajes sin conservante en condiciones de baja ensilabilidad. A partir de los resultados de un estudio donde se evaluó durante varios años la efectividad de diferentes aditivos comerciales, entre los que se incluían sales de ácido e inoculantes, en la mejora de la calidad de conservación de forrajes de diferente aptitud para ensilar en silos de laboratorio, Flores *et al.*, (1997) concluyen que, en condiciones de baja ensilabilidad, únicamente el ácido fórmico consiguió mejorar significativamente la calidad fermentativa de ensilajes, mientras que la efectividad de las sales de ácido a este respecto era irregular entre las diversas formulaciones comerciales y limitada a condiciones de ensilabilidad más favorables.

Sin embargo, en estudios encaminados a evaluar la efectividad de aditivos en la práctica de las explotaciones se han encontrado escasas respuestas al uso de ácido fórmico, que concuerdan con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Haigh, (1987), a partir de los resultados de 856 y 223 muestras de ensilajes de hierba sin conservante y tratadas con ácido fórmico, respectivamente, procedentes de explotaciones del Reino Unido indica que

la aplicación de fórmico no conseguía mejorar consistentemente la calidad de los ensilajes de raigrás cosechados con alta humedad, sugiriendo que este aditivo era más efectivo en el rango 22-26% MS, atribuyendo la falta de efectividad a la variabilidad en las dosis de aplicación. En un estudio realizado en Irlanda, Wilson y O’Kiely (1990) encuentran que el efecto positivo de la aplicación de aditivos a hierba de alta humedad es muy moderado en cuanto a la mejora de la calidad del ensilaje comparado con la exhibida por las muestras no tratadas con conservante, indicando no obstante que las muestras tratadas con ácido fórmico tenían un superior valor de digestibilidad *in vitro* comparadas con el resto.

La información obtenida en el presente trabajo acerca de la dosis de conservante utilizada en el caso de los ensilajes tratados con aditivo debe ser tomada con precaución, dada la dificultad de la estimación de la cantidad de forraje ensilada en las explotaciones. Por otra parte, en el caso de las sales de ácido e inoculantes la diversidad de formulaciones de los productos comerciales no permite analizar el efecto de la dosificación aplicada al forraje. Con estas salvedades, y restringiendo el análisis a la aplicación de ácido fórmico, de las 520 muestras de las que se disponía de datos estimativos acerca de la dosis aplicada, se observó que únicamente en el 10.8% de los casos se aplicó ácido fórmico a una dosis superior a 2.5 litros t^{-1} , siendo éste el umbral inferior recomendado en cuanto a la dosis de aplicación (Crawshaw, 1977). Como se observa en la Tabla 3.3.30, el contenido medio de materia seca de los ensilajes es menor cuanto mayor es la dosis de aplicación del conservante, observándose una tendencia hacia un valor de pHdif más reducido con el incremento de las dosis de aplicación, sin que este efecto llegue a ser significativo ($p=0.181$).

Tabla 3.3.30. Frecuencias de dosificación del ácido fórmico, contenido en materia seca y valor pHdif de los ensilajes tratados con este conservante

	Dosis de ácido fórmico (litros t^{-1} de forraje)			p	dms
	≤ 1 litro	1 a ≤ 2.5 litros	> 2.5 litros		
n	370	94	56		
Frecuencia (%)	71.1	18.1	10.8		
MS (%)	24.7	22.2	20.0	0.012	2.32
pHdif	0.23	0.20	0.18	0.181	-

n: número de muestras

p: significación del test F en el análisis de varianza

dms: diferencia mínima significativa ($\alpha=0.05$) entre dos valores de la misma fila

Henderson, (1987), subraya la necesidad de obtener una mezcla uniforme del aditivo aplicado con el forraje, indicando que, en el Reino Unido, la efectividad de los aditivos en las explotaciones estuvo limitada hasta que se empezaron a utilizar dosificadores de aditivos montados en las cosechadoras. En nuestro estudio no fueron utilizados aplicadores en las explotaciones para la distribución de aditivos, la cual se realizó a mano, en el silo, entre capas sucesivas de forraje, lo cual probablemente contribuyó, en una medida que no puede ser cuantificada, a los deficientes resultados derivados de la aplicación de los aditivos. En el caso de las sales de ácidos no puede descartarse el uso de productos que, incluso en condiciones de distribución óptima, sean de dudosa eficacia.

De los resultados obtenidos se puede afirmar que existen evidencias de que el incremento del nivel de materia seca del forraje mediante el presecado es, en la práctica de las explotaciones, una herramienta mucho más potente que el uso de aditivos para la mejora de la calidad fermentativa de los ensilajes, observación que confirma las conclusiones de Waldo (1978) y Haigh (1987), en trabajos similares. La modificación de la técnica de distribución de los aditivos, y el empleo de dosis adecuadas, sin duda contribuiría a mejorar la eficacia de los mismos, particularmente en el caso del ácido fórmico aplicado a la hierba de alto contenido en humedad.

3.3.6. Tipo de cosechadora

Los resultados acerca de los tipos de cosechadora utilizados en la ejecución de los ensilajes en las explotaciones estudiadas muestran la existencia de profundos cambios en los sistemas de recolección a lo largo del período 1991-2002, tendentes a una reducción en la frecuencia de uso de los remolques autocargadores de menor capacidad y que proporcionan un escaso picado (remolques autocargadores no picadores) y un incremento sostenido de la de remolques picadores, de mayor capacidad de carga, así como de las cosechadoras picadoras de precisión autopropulsadas, indicando que las explotaciones lecheras gallegas que mantienen su actividad en la producción de leche, en paralelo al incremento medio de tamaño experimentado en los doce años de estudio, ajustan el sistema utilizado en la recolección de la hierba para ensilar evolucionando hacia el uso de maquinaria cada vez más específica, que proporciona un picado más fino y de mayor rendimiento.

La desaparición de las máquinas de mayales simple del escenario de las operaciones de ensilado en las explotaciones gallegas puede explicarse por la imposibilidad de realizar el presecado del forraje con esta cosechadora, que siega, pica y carga la hierba en el remolque en una sola operación, y con su escaso rendimiento. En un ensayo realizado en el CIAM a lo largo de tres años, en el que se evaluaron diferentes equipos de ensilado trabajando simultáneamente en la cosecha de hierba de pradera, Flores *et al.*, (1993) observan rendimientos medios de 0.50, 0.55, 0.62, 1.0 y 1.2 ha h⁻¹ para rotoempacadora, cosechadora de mayales, autocargador no picador, autocargador picador y cosechadora autopropulsada, respectivamente.

El mantenimiento del uso de rotoempacadoras en las explotaciones, con ciertas oscilaciones anuales, se relaciona con la adaptación de esta máquina a la estructura fraccionada de la propiedad de una parte relevante de las explotaciones lecheras, que en no pocas ocasiones dificulta el uso de equipos complejos de ensilado, con la flexibilidad que supone su uso para aprovechar la hierba de determinadas parcelas fuera del plan general de ensilado, su polivalencia para la recolección de ensilaje y heno, y como señala Pflimlin (1998), de forma especial con la posibilidad que brinda de abordar el trabajo de recolección y ensilado con mínimos requerimientos de mano de obra, en contraposición con la necesidad de movilizar a un mínimo de 4 ó 5 personas para la ejecución de un silo. Wilkinson y Toivonen (2003) indican que, en los países europeos, la mayor parte de la hierba es cosechada con máquinas picadoras de precisión, que en los últimos años han evolucionado desde el uso de maquinaria arrastrada con tractor hacia una presencia cada vez mayor de las máquinas autopropulsadas, en paralelo con una tendencia cada vez más acusada a la realización del ensilado por parte de contratistas. Estos optan mayoritariamente por estas cosechadoras, las cuales presentan, adicionalmente a su alto rendimiento y picado preciso del forraje, la ventaja de su versatilidad para ensilar hierba, maíz y otros cultivos forrajeros.

Esta tendencia ha sido observada también en nuestro estudio, cuyos resultados muestran que, en 2002, el porcentaje de ensilajes que habían sido cosechadas por medios propios, ayuda mutua entre vecinos y contratistas era del 42.2, 39.9 y 17.9% para las explotaciones con 35 o menos vacas, mientras que para las de más de 35 vacas se duplicaba el

porcentaje de ensilajes realizados por contrata (35.7%), reduciéndose al 25.1% de los casos los ensilajes realizados con ayuda mutua y al 39.2% el de los ejecutados por medios propios. A pesar de no disponer de datos detallados al respecto, se sabe que hasta 1996 la figura del contratista para la realización de las operaciones de ensilado era, en general, una excepción en las explotaciones estudiadas. En este sentido, el incremento de esta figura se considera un elemento de racionalización económica en cuanto a que la compra de maquinaria específica para ensilar por parte de productores individuales incrementa notablemente el coste del ensilaje debido al escaso uso anual de las cosechadoras en la reducida dimensión media de las explotaciones (Castro *et al.*, 1998).

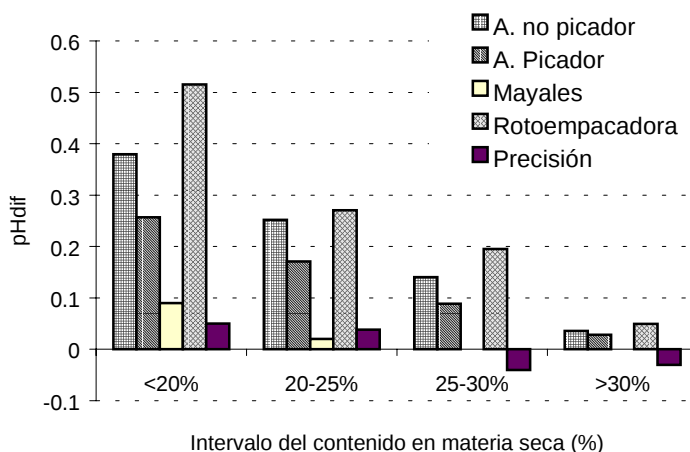
Los resultados obtenidos en cuanto a la calidad de las muestras ensiladas con cada tipo de máquina confirman, en general, los resultados de la bibliografía que indican las ventajas de un picado fino sobre la calidad de conservación de los ensilajes (por ejemplo, Gordon, 1984), como se deduce de los valores medios de pH_{dif} de las muestras ensiladas con cosechadora de precisión y de mayales (0.003 y 0.006), inferiores a los correspondientes a las demás máquinas. Se destaca la buena calidad fermentativa de los ensilajes recogidos con cosechadora de mayales, a pesar del alto contenido en humedad de las muestras (valor medio 21.9% MS), lo que confirma resultados experimentales previos. Comparando la longitud media de partícula de ensilajes de hierba recogida con autocargador picador y cosechadora de mayales Flores *et al.*, (1991) observan un mejor picado para la máquina de mayales comparada con el autocargador picador (medias de 7.5 ± 5.2 y 10.7 ± 6.1 cm, respectivamente).

La calidad media de conservación de las muestras cosechadas con autocargadores y rotoempacadora fue semejante, y claramente superior al valor umbral de 0.10 para pH_{dif} indicativo de una satisfactoria calidad de conservación. Sin embargo, es necesario recordar que, del total de muestras situadas en el intervalo de más del 30% de materia seca, todas ellas con una calidad de fermentación satisfactoria, el 40 y 30% del total, respectivamente, procedían de hierba cosechada con remolques autocargadores, no picadores y picadores, respectivamente, mientras el resto eran muestras recogidas con rotoempacadora y cosechadora picadora de precisión. En la Figura 3.3.3 puede observarse que, independientemente del tipo de máquina, un superior nivel de materia seca conlleva la mejora de la calidad de conservación, por lo que puede afirmarse que, con la excepción de la

cosechadora de mayales y picadoras de precisión, en la práctica de las explotaciones la calidad de fermentación depende en mucha mayor medida del contenido en materia seca de la hierba ensilada que del tipo de máquina utilizada en la cosecha.

Al margen de esta observación, cabe indicar que los ensilajes cosechados con autocargador picador tienden a mostrar mejor calidad fermentativa que los recogidos con autocargador no picador y rotoempacadora, y que esta máquina es la que peor resultados ofrece, a este respecto, para la hierba con menos del 30% MS y, en particular, con hierba de alta humedad. Este aspecto había sido señalado con anterioridad en ensayos realizados en el CIAM, a partir de cuyos resultados Castro *et al.*, (1998) señalan que la calidad fermentativa de ensilajes de hierba con un contenido en MS inferior al 25% cosechados con rotoempacadora y conservados en bolsas herméticas presentaba elevados valores de pH y de ácido butírico, comparados con ensilajes ejecutados con autocargadores, cosechadoras de corte directo y picadoras de precisión, y que la adición de ácido fórmico a 3.0 litros t⁻¹ incorporado con aplicador montado en la máquina no conseguía controlar satisfactoriamente la fermentación.

Figura 3.3.3 Calidad de fermentación media para las muestras de ensilajes agrupadas por su contenido en materia seca y cosechadas con diferentes máquinas



3.3.7. Tipo de silo

Wilkinson y Toivonen (2003) indican que el tipo de silo predominante en las explotaciones europeas es el trinchera o bunker, con paredes y solera de obra de fábrica. La evolución de las frecuencias de muestras procedentes de los tipos de silo presentes en las explotaciones estudiadas a lo largo del período 1991-2002 parece indicar una lenta

tendencia hacia una mayor presencia de los silos de obra de fábrica en las explotaciones, si bien el porcentaje de muestras procedentes de silos almiar el último año del estudio representaba prácticamente las tres cuartas partes del total. Chastain *et al.*, (1998) recomiendan una anchura mínima del silo de 4.9 a 6.1 m (aproximadamente 2 veces la anchura habitual de tractores que realizan la compactación del forraje) a fin de realizar un pisado eficaz, y una altura mínima de 1.80 m a fin lograr una densidad próxima a 230 kg MS/m³, que los referidos autores consideran necesaria para minimizar los efectos de la infiltración de aire durante el almacenamiento y utilización del ensilaje de forraje del 35-40% MS. Bajo este punto de vista, mientras que los dos tipos de silo de las explotaciones estudiadas muestran una anchura media adecuada (6.3 ± 1.4 y 7.1 ± 1.8 m para almiar y trinchera o bunker, respectivamente), los silos tipo almiar, por su reducida altura (1.3 ± 0.5 m) serían más susceptibles de presentar problemas de deterioro aeróbico en el ensilado de material presecado que los silos de obra de fábrica (altura media 1.9 ± 0.7 m). Los silos tipo almiar suelen presentar un mayor nivel de pérdidas comparados con los silos de obra de fábrica, indicando Jaster (1995) valores de pérdidas de materia seca durante el almacenamiento de 27 y 18% para los primeros, y de 34 a 30 para los segundos, cuando el contenido en materia seca del forraje ensilado era del 15 y 25%, respectivamente, de lo que se deduce que el empleo de silos de obra de fábrica, comparado con el tipo almiar, mejoran la eficiencia del proceso de ensilado.

Aunque en nuestro estudio no se recogieron datos que permitiesen apreciar diferencias en cuanto al nivel de pérdidas, toda vez que el muestreo fue realizado, en su mayor parte, cuando los silos no habían sido todavía abiertos para su consumo por el ganado, una evidencia de las mejores condiciones de almacenamiento proporcionada por los silos de obra de fábrica vendría dada por la mejor calidad fermentativa media de las muestras procedentes de este tipo de silo, comparada con la correspondiente a los silos almiar, para contenidos medios semejantes de materia seca (24.6 y 24.1% MS, respectivamente). Esto sugiere que el tipo de silo predominante en las explotaciones lecheras estudiadas constituye un factor limitante de la calidad del ensilaje de hierba. Por otra parte, el hecho de que en prácticamente ninguna explotación existiese un sistema de canalización de efluentes hacia un colector específico o fosa de purín, constituye un riesgo potencial de contaminación del medio con efluentes del silo, si bien la elevada frecuencia de presecado

de la hierba indudablemente contribuye a reducir la incidencia potencial de la polución por efluentes.

3.3.8. Tamaño de explotación

Los resultados obtenidos indican claramente la existencia de una relación positiva entre la calidad de las muestras de ensilaje y el tamaño de la explotación de la que proceden, a tenor de los valores medios obtenidos al agrupar las explotaciones en tres rangos de tamaño (número de vacas de leche) en los intervalos ≤ 15 , 16-35 y > 35 vacas, habiéndose observado diferencias significativas para el valor energético y proteico medio de los ensilajes, así como de su calidad fermentativa, entre las medias de los tres estratos. Las explotaciones del estrato superior realizan un aprovechamiento más precoz de la hierba, siendo la fecha media de cosecha de los ensilajes de primer corte el 30 de Abril para este grupo, con 8 y 11 días de antelación respecto del primer aprovechamiento de los otros dos estratos siguientes, respectivamente, lo cual explicaría parte de las diferencias de calidad entre los ensilajes de las explotaciones de diferente tamaño. El segundo corte se efectuó 42 días más tarde, sin apreciarse diferencias entre estratos. Adicionalmente, las explotaciones de mayor dimensión mostraron una frecuencia superior de ensilajes cosechados con picadoras de precisión y autocargador picador comparada con la de los otros dos estratos. Mientras que del total de muestras de las explotaciones de ≤ 15 vacas únicamente el 5% se habían cosechado con autocargador picador y el 0.3% con picadora de precisión, dichos porcentajes fueron del 17 y 1.0%, y del 42 y 15% para las muestras de los estratos de 16 a 35 y de más de 35 vacas, respectivamente. Aproximadamente el 30% de los silos muestreados en este último grupo eran de obra de fábrica, porcentaje que se redujo al 15 y 11% para los otros dos estratos de tamaño. No se observaron diferencias entre los tres estratos de explotaciones en cuanto a la frecuencia de presecado ni su duración, de lo cual es reflejo la ausencia de diferencias entre aquellos en el contenido medio de materia seca de las muestras. El uso de aditivos fue más frecuente en las explotaciones de mayor dimensión, si bien su contribución a la mejora de la calidad del ensilaje es dudosa, a tenor de lo anteriormente expuesto.

3.4. CONCLUSIONES

1. Los valores medios de total de 2632 muestras de ensilaje de primer y segundo corte procedentes de explotaciones lecheras gallegas ubicadas en la provincia de A Coruña a lo largo del período 1991-2002 presentaron valores medios de: MS (%) 26.5 ± 9.4 , MO (%MS) 89.5 ± 1.9 , PB (N total x 6.25) 13.4 ± 2.3 , DMO (%) 66.8 ± 5.2 y pH 4.6 ± 0.42 . El primer corte se realizó el 11 de Mayo ± 17 días y el segundo corte el 20 de Junio ± 16 días. Estos valores medios pueden calificarse como de aceptables, si bien la calidad de conservación, indicada por la relación entre el pH de las muestras y su nivel de materia seca está muy próxima al valor umbral que señala una fermentación incorrecta.
2. La frecuencia media de muestras de calidad deficiente, atendiendo a la fermentación del ensilaje (42%), prácticamente duplica a la correspondiente a las muestras que presentaban un bajo contenido energético o proteico, lo que señala la mejora de la calidad de fermentación de los ensilajes producidos en las explotaciones gallegas como uno de los principales objetivos.
3. De entre los factores conocidos que explican la calidad de las muestras de ensilaje, el año, la fecha y el número de corte, la localidad y el tipo de hierba fueron los más importantes, en lo que a digestibilidad y contenido en proteína se refiere. En cuanto a la calidad de conservación, el año, la localidad, el tipo de cosechadora y la realización de presecado son los que realizan una mayor contribución al respecto. El porcentaje de varianza explicada, sin embargo, fue inferior al 50% de la varianza total, evidenciando la existencia de otros factores diferentes a los estudiados que condicionan la calidad de los ensilajes así como la dificultad de obtener muestras suficientemente representativas de la masa de forraje ensilada.
4. Fue observada una tendencia positiva en cuanto al valor energético y la calidad de conservación de los ensilajes a lo largo del período estudiado, evolucionando en paralelo a un incremento en el contenido en materia seca de las muestras, resultado de una frecuencia superior de realización del presecado y del incremento del tiempo de secado de la hierba en el campo. Como media, las muestras presecadas tendieron

a presentar una mejor calidad comparadas con la de los ensilajes cosechados por corte directo.

5. Sin embargo existe una notable variabilidad interanual en dicha calidad relacionada con las condiciones meteorológicas durante las operaciones de ensilado. En los años de primavera lluviosa la calidad media del ensilaje se vio negativamente afectada. Como media, el 17% de los ensilajes se vieran afectados por la lluvia en algún momento del proceso de ensilado, elevándose dicho porcentaje hasta el 25% en el primer corte. Las muestras presecadas con tiempo lluvioso mostraron una calidad fermentativa inferior a la de los ensilajes de corte directo, afectados o no por la lluvia, y en particular a la de los ensilajes presecados con buen tiempo, los cuales mostraron una mejor fermentación y un superior contenido energético comparados con el resto de las muestras
6. El presecado de la hierba hasta valores de materia seca superiores al 30% se mostró en la práctica como una herramienta mucho más potente que el uso de aditivos para conseguir una buena calidad de fermentación. Sin embargo el 40% de los ensilajes presecados tenían valores de materia seca inferiores al 25%. Se evidencia que la calidad de los ensilajes tiene una elevada dependencia de las condiciones climáticas y que la programación de los trabajos de ensilado es con frecuencia inadecuada, en particular en los años de primaveras lluviosas.
7. El uso de aditivo se reveló ineficaz para conseguir una correcta fermentación de los ensilajes no presecados. Se observan notables deficiencias en la aplicación de aditivos que limitan su efectividad en la práctica de las explotaciones, relativas a la dosificación del producto y a su distribución en la masa de forraje. Como media, el 89% de los ensilajes tratados con ácido fórmico recibieron una dosis inferior a la recomendada y no se utilizaron aplicadores para asegurar la mezcla homogénea del aditivo y el forraje en ningún caso. Las muestras de ensilaje presecado que habían sido tratadas con inoculante mostraron una calidad fermentativa satisfactoria.
8. En cuanto al sistema utilizado en la recolección de la hierba para ensilar se advierte una clara evolución a lo largo del período de estudio hacia el uso de

maquinaria cada vez más específica, de mayor rendimiento, que permite la realización del presecado y proporciona un picado más fino. Las frecuencias de ensilajes cosechados con autocargador no picador, autocargador picador, cosechadora de mayales (corte directo), cosechadoras de precisión y rotoempacadora fueron del 86.7, 5.1, 3.1, 0.0 y 5.1% para el primer año de ensayo, y de 25.8, 38.6, 0.0, 19.9 y 15.7% para el último, respectivamente. Con la excepción de las cosechadoras de precisión y la máquina de mayales, la calidad de conservación de los ensilajes en la práctica de las explotaciones dependió más del contenido en materia seca de las muestras que del tipo de cosechadora. Se advierte un importante incremento de la frecuencia de ensilajes realizados por contratistas especializados. Mientras que en los seis primeros años de estudio esta figura era prácticamente desconocida en las explotaciones, el porcentaje de muestras cosechadas por contratistas fue del 23% del total en 2002.

9. El forraje es ensilado mayoritariamente en silos tipo almiar, sobre tierra (83% de las muestras, excluidos los ensilajes cosechados con rotoempacadora). La calidad de conservación de los ensilajes realizados en silos con paredes y soleras de hormigón fue superior a la de las muestras procedentes de silo almiar. Este tipo de silo presenta numerosos inconvenientes para la calidad de los ensilajes, en particular presecados, la seguridad de los operarios y la adecuada gestión de los efluentes.
10. Las explotaciones de mayor tamaño de la muestra estudiada cosechan la hierba más precozmente y emplean una tecnología de ensilado más sofisticada, lo cual no impide que aproximadamente un 45% del total de las muestras de ensilaje se clasifiquen como de calidad no satisfactoria, ya sea por una deficiente calidad de fermentación o a tenor de su contenido energético y proteico. Este porcentaje, que se amplía al 55 y 66% de las muestras de las explotaciones de los otros dos estratos, muestra que, a pesar de la evidencia de una tendencia positiva en la mejora de la calidad del ensilaje en las explotaciones lecheras estudiadas, queda todavía un amplio margen por recorrer, que sin duda tiene que ver con la mejora de la técnica de ensilado en condiciones meteorológicas desfavorables para la realización del presecado.

4. CAPITULO II

FACTORES DE VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO, DIGESTIBILIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLANTA DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN ESTADO FRESCO UTILIZADO PARA FORRAJE EN GALICIA

A fin de contribuir a incrementar el conocimiento acerca de los factores que afectan al rendimiento y calidad del maíz forrajero en Galicia, se planteó un estudio de dos años de duración en el cual se evaluaron nueve híbridos comerciales cultivados en dos localidades y cosechados en cinco momentos de madurez diferentes, siendo evaluado el efecto de los factores ambientales, genotípicos y del estado de madurez sobre la producción, digestibilidad y composición química de la planta de maíz en estado fresco.

4.1. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.1. Localización del ensayo y material vegetal empleado

El ensayo se desarrolló en los años 2001 y 2002 en las fincas experimentales del CIAM sitas en los ayuntamientos de Abegondo (provincia de A Coruña) y Pobra de Brollón (provincia de Lugo). La primera está situada en la zona costera atlántica de Galicia, a 100 m de altitud, con suelos de textura franco-limosa y clima templado-húmedo, de inviernos suaves y lluviosos y veranos suaves y relativamente secos. La segunda localidad se sitúa en la zona interior gallega, con suelos de textura franco-arcillosa y clima continental, de inviernos fríos y lluviosos y veranos calurosos y muy secos.

Las variedades estudiadas fueron nueve híbridos comerciales, cuatro de ellos pertenecientes al ciclo FAO 200 (variedades Abondance, Magellan, Clarica y Xuncal), tres al ciclo 300 (variedades Furio, Surtep y Hórreo 368) y dos al ciclo 400 (Hórreo 400 y Maverik).

4.1.2. Disposición del ensayo

Dentro de cada localidad y año, el diseño elegido fue el de parcelas subdivididas (Split-plot), donde la parcela principal era la fecha de cosecha y la subparcela la variedad, con dos repeticiones. Los diferentes momentos de recolección para cada variedad fueron cinco, a intervalos semanales, comenzando a partir de la sexta semana tras la floración femenina, hasta la décima semana (momentos de corte S6 a S10, respectivamente). La fecha de floración femenina se correspondió con el momento en que eran visibles los estigmas (sedas) del 50% de las plantas de cada variedad.

La siembra, efectuada alrededor de la segunda semana de mayo, se realizó para cada variedad y repetición en parcelas elementales de 80.6 m², a golpes (una planta por golpe), con 12 líneas de 8.4 m de longitud separadas 80 cm y una densidad inicial de 120 mil plantas por ha. Fueron aplicados 350 kg ha⁻¹ del complejo 15-15-15 y 120 kg ha⁻¹ de nitrato amónico cálcico del 20.5% como abonados de fondo y cobertera, respectivamente, así como 6 L ha⁻¹ de un herbicida a base de metolacoloro+atrazina en preemergencia y 25 kg ha⁻¹ del insecticida clorpirifos contra gusanos del suelo.

4.1.3. Toma de muestras y datos de campo en las diferentes fechas de cosecha

En el momento de corte correspondiente a cada variedad se recogieron al azar 30 plantas de las ocho líneas centrales de la parcela elemental, cortándolas manualmente a una altura de aproximadamente 12-15 cm sobre el suelo, entre el segundo y tercer entrenudo. Se separó la mazorca (MZ: grano+zuro) de la parte verde (PV: penacho+hojas+tallo+espatas) de cada planta y se registró el peso de la planta entera (PE) y de las dos fracciones MZ y PV de cada parcela elemental en una báscula electrónica de precisión 1 g. Dichas fracciones fueron picadas por separado en una trituradora de forrajes Viking, tomándose una muestra representativa, mediante cuarteos sucesivos, de aproximadamente 500 g de cada fracción para ser analizada.

Para cada planta se registró asimismo la posición de la línea de leche (ML) del grano (situado en la parte central de la mazorca) en su avance desde el extremo distal hacia el

punto de inserción en el zuro. Para ello fue utilizado el criterio de Hunter *et al.*, (1991), asignando a cada mazorca un valor entre uno y cinco según los siguientes estadios de desarrollo del grano: 1.- Endospermo totalmente líquido (no es visible la línea de leche); 2.- El 25% del grano está lleno de endospermo solidificado (la línea de leche se presenta en el cuarto superior de la longitud del grano); 3.- El 50% del endospermo es sólido (la línea de leche se presenta en el punto medio del grano); 4.- El 75% del grano contiene endospermo sólido (la línea de leche se presenta alrededor de los $\frac{3}{4}$ de recorrido) y 5.- El endospermo está completamente sólido (no se puede apreciar la línea de leche, apareciendo en la base del grano una capa de abscisión de color marrón o negro que indica la madurez fisiológica de la planta). Esta labor fue realizada por dos operadores a lo largo del ensayo, siendo tomado el promedio de ambas valoraciones como indicativo del estado de madurez del grano. En cada fecha de corte fue registrado asimismo el número de hojas secas de la planta a partir de la base del tallo.

A partir de los datos termométricos registrados en las estaciones meteorológicas de las fincas de Mabegondo y Pobra de Brollón se realizó el cálculo de la acumulación de Unidades Térmicas de Crecimiento (UTC) diarias a lo largo del período de ensayo (Derieux, 1988), según la expresión $UTC_n = \sum_{i=1}^n (\frac{T_i + t_i}{2} - 6)$ donde UTC son las unidades térmicas de crecimiento (en °C) para un período de n días, T_i y t_i las temperaturas máximas y mínimas del día i , con un umbral superior e inferior de 30 y 6 °C por día, respectivamente.

4.1.4. Análisis de las muestras

El contenido en materia seca (MS) de las muestras de mazorca y parte vegetativa se determinó mediante secado en estufa de aire forzado Unitherm, a 80 °C durante 24 y 16 h, respectivamente, siendo posteriormente molidas a 1 mm en molino de martillos Christy-Norris y determinado el contenido en materia orgánica (MO) en un analizador termogravimétrico, MAC500 de Leco (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EEUU), siendo expresado el valor de Materia Orgánica (MO) como 100-CZ.

El contenido en proteína bruta (PB); fibra ácido detergente (FAD) y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (IVDMO) de las fracciones MZ y PV se estimó mediante la técnica de Espectroscopía de Reflectancia en la región del Infrarrojo Cercano (NIRS),

utilizando las calibraciones desarrolladas en el CIAM para mazorca y parte verde de maíz según lo descrito por Campo (1999); Brichette *et al.*, (2001), Moreno-González *et al.*, (2002), y Campo y Moreno-González (2003). El contenido en carbohidratos solubles en agua, (CSA) de las fracciones PV y MZ y en carbohidratos no estructurales totales, (CNET) de la última fracción se estimaron asimismo por NIRS, utilizando las calibraciones desarrolladas en el CIAM por Castro (resultados no publicados). La concentración de almidón en la materia seca de la mazorca se tomó como la diferencia entre los contenidos en CNET y CSA de dicha fracción. Los valores correspondientes a la planta entera se obtuvieron combinando los resultados analíticos obtenidos para las fracciones PV y MZ con sus respectivas proporciones, en peso, en la materia seca total de la planta entera.

4.1.5. Análisis estadístico

Análisis de correlación y regresión. Para el estudio de las correlaciones y la elaboración de ecuaciones de regresión entre diferentes variables se utilizaron los procedimientos CORR y GLM del paquete estadístico SAS v. 8.1 (SAS Institute, 2000).

Análisis de varianza. Para el análisis estadístico, realizado mediante ANOVA, se consideraron todos los factores como aleatorios, salvo la fecha de corte, que se consideró un factor fijo. El modelo general utilizado fue

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i A + \rho(\alpha)_{ij} R(A) + \lambda_k L + \lambda\alpha_{ik} RxA + \rho\lambda(\alpha)_{ijk} RXL(A) + \phi_l S + \phi\lambda_{kl} SxL + \phi\alpha_{il} SxA + \\ + v_m V + v\alpha_{im} VxA + v\lambda_{km} VxL + v\phi_{lm} VxS + \epsilon_{ijklm},$$

donde A es el año (2001 y 2002); R es la repetición (1 y 2), L es la localidad (Mabegondo y Pobra), S es el momento de corte (semanas 6, 7, 8, 9 y 10 tras la floración femenina) y V la variedad (1 a 9).

Para la exploración del efecto Año x Variedad se realizó un análisis por separado, para cada variedad en cada año, según el modelo $Y_{jkl} = \mu + \lambda_k L + \rho_{jk} R(L) + \phi_l S + \phi\lambda_{kl} SxL + \epsilon_{jkl}$,

El procedimiento utilizado en el análisis fue el GLM de SAS (2000), siendo considerados como aleatorias las interacciones correspondientes al único factor fijo (semana de corte) con los restantes factores incluidos en el modelo y las de éstos entre sí. La separación de medias

entre los diferentes niveles de un factor se realizó, cuando el test F del ANOVA para dicho factor resultó significativo ($p < 0.05$), calculando la diferencia mínima significativa (dms) entre las medias de dos niveles cualesquiera de dicho factor, al 5% de significación, la cual se construyó a partir de la expresión $dms = \sqrt{2MSE / n} \times t_{0.025, gle}$, donde MSE es el cuadrado medio del error utilizado en el denominador del test F del ANOVA, gle los grados de libertad de dicho denominador y n el número de observaciones de cada nivel del factor cuyo efecto se analiza. Las medias relativas al rendimiento en materia seca o en materia seca digestible fueron ajustadas utilizando la densidad final de cada parcela elemental como covariable.

Componentes de la varianza. Se realizó mediante el procedimiento MIXED de SAS (2000), según el modelo general utilizado en el ANOVA.

4.2. RESULTADOS

4.2.1. Datos climáticos y de cultivo

En la Tabla 4.2.1. se muestran los valores de temperatura media diaria y de precipitación total registrados en las dos localidades durante los dos años de estudio, correspondientes a los meses de Mayo-Junio, Julio-Agosto y Septiembre-Octubre.

Tabla 4.2.1. Temperaturas medias diarias y precipitación en los años 2001 y 2002

	Temperatura media diaria, °C			Precipitación total del período, mm		
	Media ¹	2001	2002	Media ¹	2001	2002
Loc: Mabegondo						
Mayo a Junio	14.6	15.3	14.8	128	111	187
Julio a Agosto	17.9	18.9	18.0	58	123	46
Septiembre a Octubre	15.6	16.1	17.0	189	190	284
Loc: Pobra de Brollón						
Mayo a Junio	16.0	18.0	15.3	144	75	132
Julio a Agosto	20.6	21.0	18.9	64	111	11
Septiembre a Octubre	16.0	16.7	16.3	178	109	229

¹ Medias de 24 y 36 años en las localidades de Mabegondo y Pobra de Brollón, respectivamente

El año 2002 resultó más fresco y lluvioso en los meses de Mayo y Junio, mientras que Julio y Agosto fueron asimismo más fríos, pero sensiblemente más secos comparados con 2001. En la localidad de Pobra de Brollón se empezó a regar el cultivo a comienzos de Julio, por aspersión, hasta mediados de Septiembre, según las necesidades del cultivo. Los últimos dos meses del ensayo fueron, de media, notablemente más lluviosos en 2002, y ligeramente más cálidos en dicho año en la localidad de Mabegondo.

Los días transcurridos entre la siembra y la primera fecha de cosecha (semana 6 tras la floración femenina) fueron 115 ± 5.3 y 125 ± 5.9 para los años 2001 y 2002, como media de las dos localidades y el conjunto de las variedades (Tabla 4.2.2.). Las fechas medias de floración del conjunto de variedades y el intervalo entre fechas correspondientes a la variedad más precoz (Abondance) y la más tardía (Maverik) fueron, en 2001, el 21 de Julio (intervalo del 12 al 31 de Julio) y el 3 de Agosto (intervalo 20 de Julio al 8 de Agosto), para las localidades de Pobra y Mabegondo, respectivamente. En 2002, las citadas fechas para ambas localidades fueron, respectivamente, el 30 de Julio (intervalo del 20 de Julio al 6 de Agosto) y el 15 de Agosto (intervalo del 4 al 26 de Agosto),

resultando para el conjunto de variedades en las dos localidades una fecha media de floración 10 días más tardía en 2002 respecto a 2001 y, para el conjunto de variedades en los dos años, 14 días más temprana en la localidad de Pobra de Brollón respecto de la de Mabegondo.

Las unidades térmicas de crecimiento desde la siembra hasta la semana 10 tras la floración femenina no fueron diferentes ($p < 0.05$) para los años 2001 y 2002, siendo de 1784 y 1750 °C, respectivamente.

Tabla 4.2.2. Valores medios de Unidades Térmicas de Crecimiento y días de cultivo en los dos años de ensayo

Semana ¹	Año 2001		Año 2002	
	UTC ²	Días transcurridos Siembra-Cosecha	UTC ²	Días transcurridos Siembra-Cosecha
6	1478±129	115±5.3	1456±68	125±5.9
7	1558±139	122±5.4	1535±67	132±5.9
8	1638±142	129±5.6	1609±60	139±5.9
9	1714±139	136±5.9	1682±59	146±5.9
10	1784±139	143±5.6	1750±58	153±5.9

Fecha media de siembra: 15 de Mayo (2001); 14 de Mayo (2002)

Días transcurridos entre Siembra y Floración: 74±5.3 (2001); 85±5.9 (2001)

² Unidades térmicas de crecimiento, base 6 °C

4.2.2. Valores medios del conjunto de muestras

En la Tabla 4.2 3. se reflejan los valores medios de composición química, digestibilidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca para el conjunto de la muestra . Para la planta entera, el contenido medio de materia seca (MS, %) fue de 33.3% (rango 22.3 a 48.6), mientras que los valores medios (y rango de variación) de las concentraciones (%MS) de materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra ácido detergente (FAD), carbohidratos no estructurales (CNET), carbohidratos solubles (CSA) y almidón (ALM) fueron 96.5 (94.3 a 98.3); 6.0 (4.0 a 7.7); 22.9 (18.0 a 29.0); 45.8 (32.1 a 59.1); 11.7 (6.5 a 20.7) y 34.0 (16.7 a 49.6) , respectivamente.

Para las fracciones parte verde (PV) y mazorca (MZ), el valor medio (y rango de variación) de MS (%) fue de 22.9 (16.0 a 35.8) y 52.4 (37.0 a 67.9), respectivamente, y los de los contenidos en MO, PB, FAD y CSA (%MS) fueron de 93.9 (91.8 a 97.2) y 98.2 (97.0 a 98.9); 5.0 (2.5 a 8.0) y 6.9 (5.0 a 9.1); 40.4 (30.9 a 49.8) y 8.9 (6.2 a 12.9);

14.5 (5.2 a 27.3) y 9.3 (5.7 a 13.3), respectivamente. El valor medio del contenido en CNET (%MS) de la mazorca fue de 70.5 (rango 50.9 a 86.7).

Tabla 4.2 3. Valores medios de composición química, digestibilidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca (n=360)

Variable		Media	s.d.	c.v.	Máximo	Mínimo
Materia Seca (%)	Planta Entera	33.31	5.10	15.32	48.62	22.33
	Parte Verde	22.99	3.41	14.83	35.48	16.01
	Mazorca	52.40	6.12	11.68	67.95	37.04
Composición química (%MS)						
Materia Orgánica	Planta Entera	96.59	0.50	0.52	98.38	94.39
	Parte Verde	93.99	0.73	0.78	97.25	91.85
	Mazorca	98.24	0.60	0.61	99.88	97.04
Proteína Bruta	Planta Entera	6.09	0.72	11.79	7.73	4.04
	Parte Verde	5.02	1.04	20.69	8.03	2.53
	Mazorca	6.95	0.79	11.31	9.17	5.05
Fibra Ácido Detergente	Planta Entera	22.92	2.21	9.64	29.09	18.03
	Parte Verde	40.45	2.91	7.20	49.88	30.99
	Mazorca	8.98	1.29	14.33	12.92	6.25
Carbohidratos no Estructurales	Planta Entera	45.82	4.93	10.76	59.15	32.13
	Mazorca	70.57	5.49	7.78	86.74	50.96
Carbohidratos Solubles en Agua	Planta Entera	11.73	2.47	21.02	20.75	6.59
	Parte Verde	14.50	4.09	28.22	27.33	5.20
	Mazorca	9.35	1.54	16.44	13.39	5.70
Almidón	Planta Entera	34.09	6.24	18.30	49.69	16.79
Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica (%)	Planta Entera	74.00	2.32	3.13	79.36	67.65
	Parte Verde	60.63	3.97	6.54	70.39	46.90
	Mazorca	84.13	2.11	2.51	88.78	76.35
Producción de materia seca (t MS ha ⁻¹)	Planta Entera	18.44	3.93	21.34	30.86	9.54
	Parte Verde	8.28	2.24	27.03	16.08	3.49
	Mazorca	10.16	2.28	22.43	16.61	5.35
Producción de MS debida a la mazorca (%)		55.35	6.26	11.31	68.32	38.96
Producción de materia orgánica digestible (t MOD ha ⁻¹)	Planta Entera	13.15	2.70	20.55	20.84	7.04
	Parte Verde	4.71	1.28	27.28	8.43	2.11
	Mazorca	8.40	1.92	22.80	13.49	4.43
Producción de MOD debida a la mazorca (%)		63.94	6.55	10.24	76.82	44.74
Densidad (x 1000 plantas ha ⁻¹)		91.2	11.1	12.15	109.3	59.4
Unidades Térmicas de Crecimiento (siembra-cosecha)		1620	150	9.30	2006	1328
Días de crecimiento (siembra-cosecha)		134	12.5	9.36	162	105

s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

La fracción parte verde representa a la planta entera excluida la mazorca

De entre los parámetros de composición química, el contenido en materia orgánica fue el menos variable, mostrando coeficientes de variación inferiores a la unidad para PE, PV y MZ, mientras que la mayor variabilidad se encontró para el contenido en carbohidratos solubles de la parte verde (c.v. de 28.2%) y carbohidratos solubles y almidón de la planta entera (c.v. de 21.0 y 18.3 %, respectivamente) reflejando no sólo las diferencias atribuibles a los distintos ambientes y genotipos, sino al proceso de traslocación de azúcares de la parte verde a la mazorca con el avance hacia la madurez de la planta. Es de señalar la elevada variabilidad de los contenidos en PB de la parte verde y de FAD de la mazorca (c.v.: 20.6 y 14.3%, respectivamente), mientras que el valor del coeficiente de variación de los contenidos medios en materia seca de la planta entera, parte verde y mazorca fue de 15.3, 14.8 y 11.6%, respectivamente.

La densidad media del cultivo fue de 91.2 (rango 109.3 a 59.4) mil plantas ha⁻¹, reflejo de las diferentes condiciones de medio a lo largo del ensayo. Los valores inferiores se registraron para el ensayo realizado en Mabegondo en 2001, en el cual la densidad de plantas de una de la variedades se vio anormalmente reducida durante la emergencia de las plántulas de maíz por el ataque de una población residente de cornejas. El intervalo medio entre la siembra y la cosecha fue de 134 (rango 162 a 105) días, correspondiendo un valor de unidades térmicas de crecimiento (UTC) de 1620 (rango 2006 a 1328) °C.

4.2.3. Correlaciones entre diversos parámetros de composición química, digestibilidad y rendimiento

En la Tabla 4.2.4. se indican los coeficientes de correlación del contenido en materia seca y caracteres de calidad de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca del conjunto de las muestras con la edad de la planta, expresada como días transcurridos tras la floración femenina hasta la cosecha. Se observa la correlación positiva ($p < 0.001$) de la edad con el contenido en materia seca, materia orgánica, CNET, almidón, porcentaje de mazorca y rendimiento de materia seca, y negativa con el contenido en FAD y carbohidratos solubles de la planta entera, y la ausencia de correlación del contenido en PB y digestibilidad. Para la fracción mazorca fue observada una asociación semejante y del mismo signo que la descrita en el caso de la planta entera para los contenidos de MS,

FAD, CNET, CSA, y rendimiento en materia seca, mientras que la concentración en MO y PB, y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica no estaban afectadas por la edad. Se destaca que el coeficiente de correlación entre la edad de la planta y el contenido en MS fue más elevado para la fracción mazorca que para la planta entera ($r = 0.85$ y 0.73 , para MZ y PE respectivamente) al igual que ocurrió con el rendimiento en materia seca ($r=0.57$ y 0.25 , respectivamente, para las fracciones MZ y PE) Para la parte verde, la asociación entre contenido en MS y edad fue asimismo positiva ($p<0.001$), pero de menor magnitud ($r=0.50$), así como con el contenido en FAD ($r=0.44$), observándose correlaciones negativas para el contenido en PB, CSA, y digestibilidad ($p<0.001$), así como con el rendimiento en materia seca de esta fracción ($p<0.05$).

La relación entre el contenido en MS de la planta entera y la edad de la planta fue afectada por el ciclo, obteniéndose la ecuación

$$\text{MS (\%)} = (26.91 + \Delta_1) + (0.277 + \Delta_2) D \quad R^2=0.63, \text{RSD}=\pm 3.11, p<0.0001$$

s.e.: ± 0.6 ($p<0.0001$) ± 0.03 ($p<0.0001$),

donde D son los días transcurridos a partir de la semana 6, hasta la semana 10 tras la floración femenina, tomando Δ_1 y Δ_2 los valores $1.53 (\pm 0.43, p<0.003)$ y $0.158 (\pm 0.015, p<0.0003)$ para las variedades del ciclo 200; $1.30 (\pm 0.51, p<0.04)$ y $0.087 (\pm 0.045, p<0.046)$ para las de ciclo 300.

Tabla 4.2.4. Correlaciones entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca con la edad de la planta (días tras la floración femenina)

	MS	MO	PB	FAD	CNET	CSA	ALMI	IVDMO	PRODMS	PCTMZS
PE	0.73***	0.39***	-0.01ns	-0.48***	0.77***	-0.45***	0.79***	0.09 ns	0.25***	0.65***
MZ	0.85***	0.03 ns	0.05 ns	-0.54***	0.69***	-0.49***		0.05 ns	0.57***	
PV	0.50***	-0.09 ns	-0.27***	0.44***		-0.24***		-0.45***	-0.13*	

ns: no significativo ($p\geq 0.05$); *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$

MS: materia seca (%); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); CNET: carbohidratos no estructurales (%MS); CSA: carbohidratos solubles en agua (%MS); ALMI: almidón (%MS); IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica; PCTMZ: porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta

Como puede apreciarse en la Tabla 4.2 5(a), para el conjunto de muestras de planta entera de maíz se observaron correlaciones significativas ($p<0.001$) entre el contenido en materia seca de la planta y la concentración en carbohidratos no estructurales totales, almidón, porcentaje de mazorca en el total de la materia seca de la planta (PCTMZ) y

materia orgánica, con valores del coeficiente de correlación r de 0.78, 0.76, 0.70 y 0.53, respectivamente, mientras que la correlación fue negativa con el contenido en FAD y carbohidratos solubles en agua ($r = -0.64$ y -0.37 , respectivamente).

Cuando se consideraba cada híbrido por separado, como media de los distintos ambientes, la correlación entre MS y diversos caracteres de calidad de la planta entera se incrementó sensiblemente para aquellos relacionados con el desarrollo de la mazorca, si bien se observó un amplio rango de variación, obteniéndose un valor del coeficiente de correlación r para los contenidos de FAD, Almidón, CSA, y el porcentaje de mazorca que osciló entre los diferentes genotipos de -0.41 a -0.89 , de 0.83 a 0.93 , de -0.41 a -0.82 y de 0.73 a 0.90 , respectivamente ($p < 0.001$ en todos los casos).

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la planta entera exhibió una baja asociación positiva con el contenido de materia seca, materia orgánica, CNET, almidón y PB ($r = 0.20, 0.47, 0.35, 0.27$ y 0.16 , respectivamente), siendo negativa y de mayor magnitud con el contenido en FAD ($r = -0.74$). El contenido en proteína mostró una débil correlación negativa con el contenido en FAD y CSA ($r = -0.23$ y -0.35 , respectivamente) y positiva con el contenido de almidón ($r = 0.18$), observándose ausencia de asociación ($p > 0.05$) entre la concentración en PB y los contenidos en MS, MO y CNET. El contenido en FAD mostró una asociación negativa con la concentración de CNET y almidón ($r = -0.78$ y -0.74 , respectivamente). Como era de esperar, se observó una elevada correlación positiva entre el contenido de almidón con el de CNET y del porcentaje de mazorca en la materia seca (PCTMZ) con la concentración de almidón y CNET ($r = 0.93, 0.80$ y 0.88), mientras que la asociación negativa entre el contenido en carbohidratos solubles y la concentración de almidón y porcentaje de mazorca ($r = -0.67$ y -0.64 , respectivamente), refleja el proceso de conversión de azúcares en almidón durante la maduración de la planta.

La relación entre la concentración de almidón (ALM, %MS) y el porcentaje de mazorca de la planta entera con el contenido en materia seca (MS, %), en carbohidratos solubles en agua (CSA, %MS) y en FAD (%MS) se describe, para el conjunto de muestras ($n=360$) y dentro del rango de valores indicado en la Tabla 3, por las ecuaciones siguientes:

$$\text{ALM} = -32.86 (\pm 7.57) + 3.049 \text{ MS} (\pm 0.44) - 0.0304 (\pm 0.0063) \text{ MS}^2$$

$$(R^2=0.60, \text{RSD}=\pm 3.9, p<0.0001)$$

$$\text{ALM} = 2.96 (\pm 1.40) + 0.934 (\pm 0.041) \text{ MS} (R^2=0.58, \text{RSD}=\pm 4.0, p<0.0001)$$

$$\text{ALM} = -14.54 (\pm 1.38) + 0.878 (\pm 0.024) \text{ PCTMZ} (R^2=0.78, \text{RSD}=\pm 2.9, p<0.0001)$$

$$\text{ALM} = 54.06 (\pm 1.18) - 1.701 (\pm 0.09) \text{ CSA} (R^2=0.45, \text{RSD}=\pm 4.6, p<0.0001)$$

$$\text{ALM} = 76.88 (\pm 2.57) - 1.866 (\pm 0.11) \text{ FAD} (R^2=0.43, \text{RSD}=\pm 4.6, p<0.0001)$$

$$\text{PCTMZ} = -3.97 (\pm 1.57) + 2.66 \text{ MS} (\pm 0.49) - 0.0260 (\pm 0.0071) \text{ MS}^2$$

$$(R^2=0.51, \text{RSD}=\pm 4.3, p<0.0001)$$

$$\text{PCTMZ} = 26.58 (\pm 1.51) + 0.863 (\pm 0.046) \text{ MS} (R^2=0.49, \text{RSD}=\pm 4.4, p<0.0001)$$

Tabla 4.2.5. Coeficientes de correlación entre el contenido en materia seca, composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de las muestras de planta entera de maíz (a), de la fracción “parte verde” (b) y de la mazorca (c)

a) Planta entera(n=360)

	MS	MO	PB	FAD	CNET	CSA	ALMI	IVDMO	PCTMZ
MS	-	0.53***	0.10 ns	-0.64***	0.78***	-0.37***	0.76***	0.20***	0.70***
MO		-	0.05 ns	-0.59***	0.53***	-0.29***	0.53***	0.47***	0.66***
PB			-	-0.23***	0.05 ns	-0.35***	0.18***	0.16**	0.30***
FAD				-	-0.78***	0.12*	-0.66***	-0.74***	-0.79***
CNET					-	-0.35***	0.93***	0.35***	0.80***
CSA						-	-0.67***	0.02 ns	-0.64***
ALMI							-	0.27***	0.88***
IVDMO								-	0.49***

b) Parte verde(n=360)

	MS	MO	PB	FAD	CSA	IVDMO	PCTMZ
MS	-	0.22**	-0.36***	0.17**	0.12*	-0.18***	0.35***
MO		-	-0.11*	-0.28***	0.29***	0.28***	-0.01 ns
PB			-	-0.01 ns	-0.39***	0.08 ns	0.09 ns
FAD				-	-0.83***	-0.91***	0.38***
CSA					-	0.62***	-0.46***
IVDMO						-	-0.24***

c) Mazorca(n=360)

	MS	MO	PB	FAD	CNET	CSA	IVDMO
MS	-	-0.17**	0.14**	-0.69***	0.67***	-0.59***	0.00 ns
MO		-	-0.43***	0.39***	-0.14**	0.04 ns	0.23***
PB			-	-0.15**	-0.04 ns	-0.31***	-0.07 ns
FAD				-	-0.67***	0.24***	-0.20***
CNET					-	-0.42***	0.12*
CSA						-	0.20***

ns: no significativo ($p \geq 0.05$); *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$

MS: materia seca (%); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); CNET: carbohidratos no estructurales (%MS); CSA: carbohidratos solubles en agua (%MS); ALMI: almidón (%MS); IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica; PCTMZ: porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta

Para la parte verde (Tabla 4.2 5. b), se destaca la elevada correlación negativa entre el contenido en FAD y la concentración en carbohidratos solubles en agua y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica ($r = -0.83$ y -0.91 , respectivamente), mientras que estos dos últimos parámetros mostraron una asociación positiva, ($r = 0.62$). El contenido en PB se correlacionó negativamente con el contenido en MS ($r = -0.36$), siendo significativas todas las asociaciones anteriormente descritas ($p < 0.001$). Se destaca la correlación negativa entre el porcentaje de mazorca en la materia seca de la planta y el contenido en CSA, así como con la digestibilidad del tallo ($r = -0.46$ y -0.24 , respectivamente, $p < 0.001$).

En general, las correlaciones entre los distintos parámetros de composición química, digestibilidad y contenido en materia seca para la mazorca (Tabla 4.2 5c) fueron de inferior magnitud comparadas con las observadas para la planta entera, existiendo una asociación positiva entre el contenido de MS de la mazorca y la concentración en CNET y PB, y negativa con el contenido en FAD y CSA ($r = 0.67$, 0.14 , -0.69 y -0.59 , respectivamente, $p < 0.01$), mostrando una disminución del contenido en fibra y azúcares solubles en agua y un incremento del contenido en almidón con la madurez. Consecuentemente, la correlación entre CNET y los contenidos en FAD y CSA fue negativa ($r = -0.67$ y -0.42 , respectivamente). La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la mazorca mostró una nula asociación con los contenidos en MS y PB y débil con los restantes parámetros.

En la Tabla 4.2.6 se muestran los coeficientes de correlación existentes entre los caracteres de rendimiento, digestibilidad, contenido en FAD y PB de la planta entera y las fracciones parte verde y mazorca. Además de la elevada correlación entre el rendimiento en materia seca de la planta entera y la de las fracciones PV y MZ ($r = 0.87$ en ambos casos, $p < 0.001$), se evidenció una moderada asociación entre el rendimiento de la parte verde y los factores de calidad de la planta entera, siendo positiva para el contenido en FAD y negativa para digestibilidad y contenido en proteína de la planta entera ($r = 0.59$, -0.50 y -0.45 , respectivamente, $p < 0.001$). Por otra parte, es de destacar la débil correlación entre el rendimiento en materia seca de la planta entera y los caracteres de

calidad de ésta o de cualquiera de las fracciones, en particular para la digestibilidad de la mazorca, que muestra una ausencia prácticamente total de asociación con el rendimiento.

Tabla 4.2.6. Coeficientes de correlación entre el rendimiento en materia seca de la planta entera y las fracciones parte verde y mazorca con los caracteres de calidad digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica, contenido en fibra y en proteína.

	PRODMS			IVDMO			FAD			PB	
	PV	MZ	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ
PRODMS											
PE	0.87***	0.87***	-0.34***	-0.31***	0.03ns	-0.26***	0.21***	-0.15**	-0.39***	-0.33***	-0.23***
PV		0.52***	-0.50***	-0.12*	-0.03ns	0.59***	-0.03ns	0.13*	-0.45***	-0.30***	-0.22***
MZ			-0.09ns	-0.43***	0.09ns	-0.14**	0.39***	-0.38***	-0.23***	-0.27***	-0.19***

PRODMS: Producción de materia seca (t MS ha⁻¹)

IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

FAD: fibra ácido detergente (%MS)

PB: proteína bruta (%MS)

PE: Planta entera ; PV: Fracción parte verde (planta entera sin mazorca) ; MZ: Mazorca

ns: no significativo ($p \geq 0.05$); *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$

4.2.4. Correlaciones entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y criterios objetivos de madurez para el conjunto de muestras

Como se indica en la Tabla 4.2.7, para el conjunto de muestras de planta entera de maíz fueron observadas correlaciones positivas entre los criterios Unidades Térmicas de Crecimiento (acumuladas en el período siembra-cosecha o floración-cosecha), días de cultivo (siembra-cosecha), posición de la línea de leche del grano (ML, según la clasificación de Hunter *et al.*, 1991) y número de hojas secas a partir de la base del tallo con los contenidos en MS, PB y Almidón, el rendimiento en materia seca y materia orgánica digestible (MOD) por ha y con la contribución de la mazorca a la producción total de MS o MOD. Todas ellas se evidenciaron significativas ($p < 0.05$), salvo para la asociación entre ML y PB.

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la planta mostró una asociación muy baja o nula con todos los criterios de madurez, siendo algo más elevada, y de signo negativo, con el número de hojas secas del tallo ($r = -0.31$, $p < 0.0001$). Este criterio mostró un coeficiente de correlación algo más elevado con la digestibilidad de la fracción parte verde de la planta ($r = -0.44$, $p < 0.0001$).

La posición de la línea de leche en el grano fue el criterio que mostró correlaciones más elevadas con el contenido en materia seca de la planta, la concentración de almidón y la contribución de la mazorca a la producción total de MS o MOD ($r = 0.78, 0.80, 0.67$ y 0.70 , respectivamente, $p < 0.0001$), seguido, a este respecto, por la acumulación de UTC en el período floración-cosecha, ($r = 0.76, 0.71, 0.53$ y 0.53 , respectivamente, $p < 0.0001$).

El rendimiento de la planta mostró una moderada asociación con todos los criterios de madurez, siendo observadas las correlaciones más elevadas para el valor de UTC siembra-cosecha ($r = 0.38$ y 0.40 para el rendimiento en MS y MOD, respectivamente, $p < 0.0001$).

Tabla 4.2.7. Correlación entre diversos parámetros de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y criterios objetivos de madurez para el conjunto de las muestras (n=360)

		UTC ¹ siembra- cosecha	UTC ¹ floración- cosecha	Días de cultivo ²	Línea de leche ³	Nº hojas secas ⁴
Materia Seca (%)	r	0.53	0.76	0.39	0.78	0.47
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Fibra Ácido Detergente (%MS)	r	-0.33	-0.45	-0.30	-0.49	-0.07
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
Proteína Bruta (%MS)	r	-0.39	-0.13	-0.23	0.10	-0.24
	p	<.0001	0.010	<.0001	n.s.	<.0001
Almidón (%MS)	r	0.47	0.71	0.54	0.80	0.44
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica (%)	r	0.01	0.00	0.10	0.08	-0.31
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<.0001
Producción de materia seca (t MS ha ⁻¹)	r	0.38	0.35	0.27	0.16	0.33
	p	<.0001	<.0001	<.0001	0.0023	<.0001
Producción de materia orgánica digestible (t MOD ha ⁻¹)	r	0.40	0.37	0.32	0.19	0.30
	p	<.0001	<.0001	<.0001	0.0003	<.0001
Contribución de la mazorca a la producción total de MS (%)	r	0.36	0.53	0.51	0.67	0.21
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Contribución de la mazorca a la producción total de MOD (%)	r	0.34	0.53	0.56	0.70	0.29
	p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

¹UTC: Unidades Térmicas de Crecimiento (base 6 °C)

² Días desde la siembra hasta la cosecha

³ ML: línea de leche del grano (rango 1-5) según clasificación de Hunter *et al.*, (1991)

⁴ Número de hojas secas en la base del tallo

r : coeficiente de correlación; p : significación; ns: no significativa ($p > 0.05$)

Es interesante observar la consistencia de las asociaciones anteriormente descritas para el conjunto de las variedades cultivadas en los distintos ambientes. El coeficiente de correlación entre el contenido en MS (%) y almidón (%MS) de la planta entera y la posición de la línea de leche en el grano (valor ML) fue elevado en las dos localidades y

los dos años de estudio. Para la localidad de Mabegondo, el valor de r osciló entre 0.74 y 0.81 para la asociación entre MS y ML y entre 0.86 y 0.82 para la de almidón y ML en los años 2001 y 2002, respectivamente. Para la localidad de Pobra de Brollón r varió entre 0.85 y 0.86 (correlación MS con ML) y entre 0.74 y 0.85 (correlación almidón con ML) en ambos años, respectivamente ($p < 0.0001$ en todos los casos). La relación entre el rendimiento en MS del cultivo y las unidades térmicas de crecimiento estuvo sujeta a una mayor oscilación entre localidades y dentro de cada localidad, oscilando entre 0.26 ($p < 0.05$) y 0.49 ($p < 0.0001$) en Mabegondo y entre 0.54 ($p < 0.0001$) y 0.72 ($p < 0.0001$) en Pobra de Brollón en los años 2001 y 2002, respectivamente.

4.2.5. Componentes de la varianza del rendimiento y parámetros de calidad de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca.

En la Tabla 4.2.8. se muestra la estructura de los tests F realizados en el ANOVA para analizar la significación de las diferentes fuentes de variación incluidas en el modelo sobre las variables de rendimiento y calidad de la planta de maíz, mientras que en la Tabla 4.2.9. se muestran los resultados del análisis de varianza realizado para las distintas fuentes de variación de la calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y sus fracciones parte verde y mazorca, indicándose los valores del estadístico F y su significación.

Tabla 4.2.8. Grados de libertad y estructura de los test F del ANOVA para las distintas fuentes de variación incluidas en el modelo

Fuente de Variación		Denominador del test F en el ANOVA	
	g.l.		g.l.
Año	1	CM(Rep(Año)) + CM(Año*Localidad) - CM(Localidad*Rep(Año)) + CM(Año*Corte) + CM(Año*Variedad) - 2*CM(Error)	1
Rep(Año)	2	CM(Localidad*Rep(Año))	2
Localidad	1	CM(Año*Localidad) + CM(Localidad*Corte) + CM(Localidad*Variedad) - 2*CM(Error)	1
Año*Localidad	1	CM(Localidad*Rep(Año))	2
Localidad*Rep(Año)	2	CM(Error)	284
Localidad*Corte	4	CM(Error)	284
Año*Corte	4	CM(Error)	284
Año*Variedad	8	CM(Error)	284
Localidad*Variedad	8	CM(Error)	284

Corte*Variedad	32	CM(Error)	284
Corte	4	CM(Localidad*Corte) + CM(Año*Corte) + CM(Corte*Variedad) - 2*CM(Error)	7
Variedad	8	CM(Año*Variedad) + CM(Localidad*Variedad) + CM(Corte*Variedad) - 2*CM(Error)	14

CM: cuadrado medio; g.l.: grados de libertad

Para la planta entera, el análisis de los efectos de los factores ambientales (año, localidad y repetición) y sus interacciones, evidenció un efecto significativo ($p < 0.05$) de la localidad en la concentración de PB en la materia seca; de la interacción año x localidad sobre el contenido en MS, FAD, digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y porcentaje de mazorca en la producción total de materia seca; y de la localidad x repetición(año) sobre todas las variables salvo el contenido en CSA.

Se detectaron efectos significativos ($p < 0.05$) de las interacciones localidad x corte, año x corte y año x variedad sobre la digestibilidad de la planta entera y el rendimiento en MS y MOD, mientras que el efecto de la interacción localidad x variedad fue significativo para IVDMO y rendimiento de MOD. Salvo para el contenido en MS y CNET, la interacción entre la semana de corte de la planta y la variedad no afectó significativamente ($p > 0.05$) a ninguna variable de calidad y rendimiento, sugiriendo un comportamiento uniforme de los diferentes genotipos con el avance hacia la madurez durante el período de ensayo.

El efecto de la densidad, incluida como covariable en el modelo, sólo se mostró significativo para el rendimiento de materia seca y materia orgánica digestible de la planta entera ($p < 0.001$).

Tabla 4.2.9. Valor del estadístico F y significación de las fuentes de variación incluidas en el modelo de análisis de varianza para los principales parámetros de calidad de la planta entera de maíz

Fuente de variación	MS	PB	FAD	CNET	CSA	ALMI	PCTMZ	IVDMO	Producción (t ha ⁻¹)	
									MS	MOD
Año	0.30 ^{ns}	8.99 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.05 ^{ns}	6.22 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.95 ^{ns}	2.38 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.08 ^{ns}
Repetición(Año)	0.61 ^{ns}	0.85 ^{ns}	3.32 ^{ns}	3.35 ^{ns}	0.44 ^{ns}	3.21 ^{ns}	1.48 ^{ns}	2.22 ^{ns}	0.61 ^{ns}	0.83 ^{ns}
Localidad	0.05 ^{ns}	18.4 [*]	0.14 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.34 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.20 ^{ns}	2.16 ^{ns}	2.87 ^{ns}
Año x Localidad	20.8 [*]	0.08 ^{ns}	55.4 ^{**}	7.88 ^{ns}	4.76 ^{ns}	4.20 ^{ns}	18.7 [*]	27.1 [*]	4.89 ^{ns}	4.22 ^{ns}
Localidad x Rep(Año)	9.33 ^{***}	65.0 ^{***}	5.84 ^{**}	6.60 ^{**}	1.11 ^{ns}	4.76 ^{**}	8.38 ^{***}	3.94 [*]	21.2 ^{***}	16.3 ^{***}
Corte	78.5 ^{***}	0.73 ^{ns}	64.6 ^{***}	74.9 ^{***}	5.71 [*]	88.1 ^{***}	89.0 ^{***}	1.50 ^{ns}	4.51 ^{ns}	5.87 [*]
Localidad x Corte	2.29 ^{ns}	0.61 ^{ns}	0.91 ^{ns}	0.69 ^{ns}	7.26 ^{***}	4.42 ^{**}	2.59 [*]	3.13 [*]	3.61 ^{**}	3.06 [*]
Año x Corte	2.38 ^{ns}	3.94 ^{**}	1.49 ^{ns}	3.19 [*]	3.87 ^{**}	0.30 ^{ns}	1.26 ^{ns}	2.65 [*]	4.68 ^{**}	4.43 ^{**}
Variedad	5.80 ^{**}	4.67 ^{**}	11.64 ^{***}	2.08 ^{ns}	4.63 ^{**}	2.09 ^{ns}	5.79 ^{**}	10.2 ^{***}	9.60 ^{**}	7.57 ^{**}
Año x Variedad	3.39 ^{**}	4.27 ^{***}	3.36 ^{**}	4.09 ^{***}	4.88 ^{***}	8.04 ^{***}	3.50 ^{***}	2.68 ^{**}	3.97 ^{***}	3.88 ^{***}
Localidad x Variedad	5.57 ^{***}	9.56 ^{***}	2.24 [*]	4.54 ^{***}	3.32 ^{**}	4.62 ^{***}	3.74 ^{***}	3.50 ^{***}	1.68 ^{ns}	1.99 [*]
Corte x Variedad	1.78 ^{**}	1.00 ^{ns}	1.38 ^{ns}	2.10 ^{***}	1.44 ^{ns}	1.44 ^{ns}	0.91 ^{ns}	1.22 ^{ns}	0.59 ^{ns}	0.65 ^{ns}
Covariable (Densidad)	0.39 ^{ns}	0.01 ^{ns}	1.19 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.72 ^{ns}	1.07 ^{ns}	1.43 ^{ns}	78.4 ^{***}	76.1 ^{***}

ns: no significativo ($p \geq 0.05$); *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$

MS: materia seca (%); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); CNET: carbohidratos no estructurales (%MS); CSA: carbohidratos solubles en agua (%MS); IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

La madurez de la planta (semana de corte tras la floración femenina) ejerció un fuerte efecto ($p < 0.0001$) sobre los contenidos en materia seca, FAD, CNET, almidón y proporción de mazorca, afectando también significativamente ($p < 0.05$) al contenido en CSA y rendimiento en materia orgánica digestible, no observándose significación para el efecto de la madurez sobre la digestibilidad de la planta entera y su contenido en PB. Todas las variables de calidad y rendimiento fueron afectadas ($p < 0.01$) por la variedad, salvo el contenido en CNET y almidón.

En la Tabla 4.2.10. se muestran los componentes de la varianza del contenido en materia seca, caracteres de calidad y rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca, expresados en porcentaje sobre la varianza total de cada parámetro. En ella se ha agrupado la contribución de los factores año, localidad, repetición y sus interacciones bajo el epígrafe de “ambiente”, incluyéndose el porcentaje de varianza explicada por las interacciones variedad x año y localidad x año en “variedad x ambiente” y, de forma similar, la contribución de las interacciones corte x localidad y corte x año en “madurez x ambiente”.

La varianza explicada por el modelo para las distintas variables dependientes consideradas osciló entre el 95.2 y el 65.3% de la varianza total, para el contenido en materia seca de la mazorca y el de carbohidratos solubles de la parte verde, respectivamente. Los factores ambientales (año, localidad, repetición y sus interacciones) aportaron la mayor parte de la variabilidad en los parámetros de calidad y rendimiento siguientes: PB de planta entera y parte verde (41.3 y 33.8 %, respectivamente); FAD de planta entera (33.0%); carbohidratos solubles en agua de la parte verde (24.6%), digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de planta entera, parte verde y mazorca (46.9; 26.8 y 30.5 %, respectivamente) y rendimiento de planta entera y parte verde (45.0 y 48.9 % para $t \text{ ha}^{-1}$ MS y 41.6 y 40.8% para $t \text{ ha}^{-1}$ MOD, respectivamente).

El genotipo (variedad) aportó el mayor porcentaje de variabilidad del contenido en PB de la mazorca (45.0%) y FAD en la parte verde (24.3%), siendo de mencionar su contribución a la varianza de PB, FAD y digestibilidad de planta entera (25.0; 23.3 y

26.0%, respectivamente), así como al rendimiento de planta entera y parte verde en MS y MOD (20.6 y 25.4 % para t ha⁻¹ MS y 18.4 y 24.4% para t ha⁻¹ MOD, respectivamente).

Tabla 4.2.10.- Componentes de la varianza (expresados en porcentaje de la varianza total) del contenido en materia seca, composición química, digestibilidad y rendimiento de la planta entera, fracción parte verde y mazorca de maíz

		Ambiente ¹	Variedad	Madurez ²	Variedad x Ambiente ³	Madurez x Ambiente ⁴	Madurez x Variedad	Residuo	Total
Materia Seca (%)	PE	14.33	12.93	55.18	4.09	0.85	1.13	11.51	100.00
	PV	29.27	8.07	23.31	7.84	4.05	4.02	23.43	100.00
	MZ	8.60	10.72	73.36	1.95	0.35	0.25	4.78	100.00
Composición química (%MS)									
Proteína Bruta	PE	41.33	25.05	0.00	12.14	1.26	0.00	20.22	100.00
	PV	33.75	13.43	9.97	11.20	1.51	0.05	30.08	100.00
	MZ	23.01	44.97	0.49	12.96	1.27	0.64	16.66	100.00
Fibra Ácido Detergente	PE	33.01	23.27	24.43	2.83	0.21	0.75	15.51	100.00
	PV	10.21	24.32	19.93	7.64	5.17	0.00	32.73	100.00
	MZ	28.54	7.11	33.98	4.26	1.54	2.35	22.22	100.00
Carbohidratos no Estructurales	PE	8.88	4.32	63.05	5.32	0.92	2.12	15.39	100.00
	MZ	5.57	0.00	56.14	9.10	1.99	3.18	24.02	100.00
Carbohidratos Solubles en Agua	PE	16.56	19.30	19.67	8.48	6.46	1.55	27.99	100.00
	PV	24.63	20.84	5.36	8.11	4.91	1.51	34.64	100.00
	MZ	13.01	17.94	15.80	10.38	19.01	2.32	21.56	100.00
Almidón	PE	4.71	4.93	67.10	8.04	1.24	0.75	13.23	100.00
Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica (%)	PE	46.88	26.02	0.68	4.21	2.05	0.54	19.62	100.00
	PV	26.75	13.95	20.62	9.47	2.47	0.00	26.74	100.00
	MZ	30.53	14.40	0.00	13.13	8.98	1.47	31.50	100.00
Producción t MS ha⁻¹	PE	45.05	20.60	6.87	3.81	3.67	0.00	20.00	100.00
	PV	48.92	25.43	0.11	4.36	3.87	0.00	17.31	100.00
	MZ	22.48	7.66	43.08	2.68	1.59	0.00	22.50	100.00
Producción t MOD ha⁻¹	PE	45.05	20.60	6.87	3.81	3.67	0.00	20.00	100.00
	PV	40.83	24.36	4.17	6.15	4.84	0.00	17.31	100.00
	MZ	22.65	8.30	43.03	2.14	0.97	0.12	22.50	100.00
Producción de MS debida a la mazorca (%)		27.17	11.56	44.25	3.27	0.68	0.00	13.08	100.00

¹ Ambiente incluye los efectos: Año, Rep (Año), Localidad, Año x Localidad y Localidad x Rep (Año)

² Corte: Semana tras la floración femenina

³ Variedad x Ambiente incluye los efectos: Año x Variedad y Localidad x Variedad

⁴ Madurez x Ambiente incluye los efectos: Localidad x Corte y Año x Corte

PE: Planta entera ; PV: Fracción parte verde (planta entera sin mazorca) ; MZ: Mazorca

Por su parte, el estado de madurez de la planta (semana de corte) fue responsable de la mayor parte de variabilidad para el contenido en materia seca de la planta entera y de la mazorca (55.1 y 73.3%, respectivamente), de almidón en la planta entera (67.1%), FAD de mazorca (33.9%), contenido en CNET de la planta entera y de la mazorca (63.0 y 56.1%, respectivamente), del contenido en carbohidratos solubles en agua (19.6%) y

almidón (67.1%) de la planta entera, del rendimiento en MS y MOD de la fracción mazorca (43.0 y 43.3, respectivamente) y del porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta (44.2%). Es de destacar que la madurez explica el 20% de la varianza total de la digestibilidad *in vitro* de la parte verde de la planta.

La interacción genotipo x ambiente contribuyó significativamente a la varianza de prácticamente todos los parámetros de calidad y rendimiento analizados, si bien dicha aportación fue cuantitativamente inferior a la descrita para los factores anteriormente citados, superando el 10% de varianza explicada para el contenido en PB de la planta entera, parte verde y mazorca (12.1, 11.2 y 12.9%, respectivamente) y la digestibilidad *in vitro* de la mazorca (13.1%). Se destaca que la interacción madurez x ambiente contribuyó en un 19.0% a la varianza total del contenido en CSA de la mazorca, mientras que la aportación de la interacción corte x variedad a la varianza total fue prácticamente despreciable para todos los parámetros estudiados.

4.2.6. Efecto de la fecha de corte sobre la calidad y el rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca

Contenido en materia seca y composición química

Como se ha indicado con anterioridad, el avance hacia la madurez afectó significativamente al contenido en materia seca de la planta entera (PE), parte verde (PV) y mazorca (MZ), que se incrementó de forma prácticamente linear entre las semanas seis y 10 (S6 a S10) tras la floración femenina, registrándose un aumento medio por semana de 2.6; 1.18 y 3.6 unidades (%MS) para PE, PV y MZ, respectivamente. El contenido en materia orgánica de la parte verde y mazorca no se vio afectado por el momento de corte, si bien en la planta entera se incrementó ligeramente (0.62 unidades, $p=0.01$) entre los cortes S6 y S10. El contenido en proteína bruta de la parte verde descendió ($p=0.03$) de 5.1 a 4.4 %MS en dicho período, mientras el correspondiente a la planta entera y la fracción mazorca permaneció prácticamente constante (Tabla 4.2.11.).

El avance hacia la madurez, en el período citado, redujo significativamente el contenido en fibra ácido detergente de la planta entera y la mazorca, incrementando el de la parte verde, con valores de FAD (%MS) de 24.7 a 21.6; 38.4 a 42.0 y 10.2 a 8.2 para PE, PV y

MZ, cortes S6 a S10, respectivamente. El descenso en FAD de la planta entera se produjo de forma prácticamente continuada, si bien a partir de la semana 9 dicho incremento no fue significativo ($p>0.05$).

Tabla 4.2.11. Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre la composición química, digestibilidad *in vitro* y producción de la planta entera (PE), parte verde (PV) y mazorca (MZ) de maíz

Semana	Materia Seca (%)			Materia Orgánica (%MS)			Proteína Bruta (%MS)		
	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ
6	28.03	20.90	44.52	96.28	94.19	98.22	6.03	5.18	6.99
7	30.68	21.53	49.08	96.49	93.99	98.23	6.16	5.37	6.89
8	33.32	22.73	52.79	96.59	93.87	98.25	6.16	5.28	6.87
9	35.96	24.18	56.37	96.71	93.84	98.26	6.03	4.83	6.91
10	38.59	25.63	59.25	96.86	94.02	98.24	6.06	4.44	7.11
<i>P</i>	<i><0.0001</i>	<i>0.0037</i>	<i><0.0001</i>	<i>0.014</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>0.036</i>	<i>ns</i>
d.m.s _{0,05}	1.89	2.47	1.48	0.014	-	-	-	0.72	-

Semana	Fibra Ácido Detergente (%MS)			Carbohidratos solubles (%MS)			Carbohidratos no estructurales (%MS)		Almidón (%MS)
	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ	PE	MZ	PE
6	24.79	38.44	10.29	13.65	16.52	10.42	39.56	63.84	25.90
7	23.32	39.53	9.29	12.36	15.03	9.87	43.73	68.44	31.37
8	22.72	40.84	8.64	11.25	13.57	9.29	46.69	72.35	35.44
9	22.15	41.38	8.39	10.95	13.63	8.91	48.65	73.69	37.70
10	21.64	42.05	8.28	10.42	13.76	8.22	50.48	74.50	40.05
<i>P</i>	<i>0.0009</i>	<i>0.024</i>	<i>0.011</i>	<i>0.025</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i><0.0001</i>	<i>0.0002</i>	<i>0.0009</i>
d.m.s _{0,05}	0.75	2.40	0.71	2.17	-	-	2.09	3.18	3.52

Semana	Digestibilidad de la materia orgánica <i>in vitro</i> (%)			Producción de materia seca (t/ha)			Producción de materia orgánica digestible (t/ha)		
	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ	PE	PV	MZ
6	73.36	63.30	83.62	16.76	8.74	8.02	11.81	5.20	6.58
7	74.03	61.87	84.10	17.86	8.39	9.47	12.73	4.87	7.82
8	74.34	60.39	84.70	18.72	8.29	10.43	13.39	4.67	8.68
9	74.23	59.30	84.40	19.36	8.19	11.16	13.95	4.54	9.26
10	74.03	58.30	83.85	19.51	7.80	11.71	13.96	4.26	9.65
<i>p</i>	<i>ns</i>	<i>0.012</i>	<i>Ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>0.001</i>	<i>0.037</i>	<i>ns</i>	<i>0.0008</i>
d.m.s _{0,05}	-	2.56	-	-	-	1.13	1.65	-	0.83

PE: planta entera; PV: parte verde; MZ: mazorca

p: significación del test F en el ANOVA; *ns*: no significativo ($p>0.05$)

d.m.s_{0,05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma columna ($p<0.05$).

PE: planta entera; PV: fracción “parte verde” (planta entera excluida la mazorca); MZ: mazorca

Producción de materia seca y materia orgánica digestible ajustada por la covariable densidad

La acumulación de carbohidratos no estructurales en la planta entera y su distribución en las diferentes fracciones de la misma es función de la actividad fotosintética de la planta y depende del estado de madurez de la misma. Como era de esperar, la evolución del contenido en CNET cursó de forma inversa a la observada para la fibra, observándose un incremento significativo en la fracción mazorca y en la planta entera (valores de 39.5 a 50.4 y 63.8 a 74.5 %MS, cortes S6 a S10, PE y MZ , respectivamente). La

transformación de los azúcares de la planta en almidón con el avance de la madurez es puesta de manifiesto por el descenso en la concentración de carbohidratos solubles (CSA) y el incremento en almidón en la planta entera (valores de 13.6 a 10.4 %MS para el contenido en CSA y de 25.9 a 40.0 %MS para el de almidón, cortes S6 a S10, respectivamente), en paralelo al descenso en la concentración de CSA de la parte verde, que osciló entre 16.5 a 13.7 %MS entre el primer y último aprovechamiento, si bien esta variación no llegó a evidenciarse significativa ($p>0.05$).

A pesar de que desde la séptima a la décima semana tras la floración el contenido en CSA de la planta entera no desciende significativamente, el aumento en la misma de la concentración de almidón hasta la novena semana ($p<0.05$) es reflejo del incremento de la proporción de la fracción mazorca en el peso seco de la planta, que aumenta ($p=0.001$) de forma continuada desde el 48.3% en la sexta semana hasta el 60.4% en la décima.

Se detectaron interacciones significativas entre corte x localidad y corte x año, que sin embargo no modificaron substancialmente la tendencia descrita por los valores medios de los diferentes aprovechamientos. La significación de la interacción corte x variedad (no mostrada en las tablas) para el contenido en MS y CNET reflejó fundamentalmente el efecto de la diferente duración del ciclo de las variedades empleadas, observándose, para los cortes S6 y S10 contenidos en MS (%) que oscilaron de 28.3 a 40.5; de 28.2 a 38.4; y de 27.3 a 38.3 para las variedades de los ciclos 200, 300 y 400, respectivamente, mientras que los correspondientes valores de CNET (%MS) para las medias de los distintos ciclos fueron de 39.7 a 52.0; 39.2 a 49.4 y de 39.5 a 48.4; semanas sexta a décima, respectivamente.

Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

La digestibilidad de la planta entera y mazorca, para el conjunto de ambientes y variedades, no se vio afectada significativamente por la madurez de la planta en el período considerado, si bien se observó una tendencia a aumentar ligeramente dicho valor hasta la semana octava para descender posteriormente (valores de 73.3, 74.3 y 74.0 % para PE; 83.6, 84.7 y 83.8 % para MZ en los cortes S6, S8 y S10, respectivamente). La digestibilidad de la parte verde se redujo significativamente ($p=0.012$) a lo largo de los diferentes cortes entre la semana sexta y décima, con valores de 63.3 y 58.3 % entre ambos aprovechamientos. La relativa constancia de la digestibilidad de la planta entera, a

pesar de este descenso, se explica por el referido incremento de la contribución de la fracción mazorca al peso total de la planta, tal y como se comentó anteriormente.

Fueron detectadas interacciones significativas para corte x año y corte x localidad sobre la digestibilidad, que se detallan en la Tabla 4.2.12. y que confirman, en líneas generales, las tendencias descritas anteriormente para el conjunto de años y localidades. La no significación de la interacción corte x variedad evidencia un comportamiento semejante de las variedades ensayadas en las diferentes fechas de corte, a este respecto.

Como media de las dos localidades, en 2001 la digestibilidad de la planta entera en la semana 6 fue significativamente inferior a la del resto de los cortes, ascendiendo el valor IVDMO hasta el aprovechamiento S8 para descender posteriormente, mientras que la digestibilidad de la mazorca en S8 y S9 se mostró superior ($p < 0.05$) a la del resto de aprovechamientos. En 2002 no se detectaron diferencias significativas para la digestibilidad de la planta entera entre los diferentes cortes, mientras que la digestibilidad de la mazorca en la semana 10 fue significativamente inferior a la correspondiente a la semana 8.

Como media de los dos años, en la localidad de Mabegondo la digestibilidad de la planta entera en la semana 6 fue inferior ($p < 0.05$) a la del resto de los aprovechamientos, y la correspondiente al corte S8 fue superior ($p < 0.05$) a la del último corte. En esta localidad, la digestibilidad de la mazorca en la semana octava fue asimismo significativamente superior a la correspondiente a los cortes S10, S7 y S6. En Pobra de Brollón no se observaron diferencias significativas entre cortes para IVDMO de la planta entera ni de la mazorca, destacándose que la magnitud del descenso de la digestibilidad de la fracción parte verde con el avance de la madurez fue inferior al registrado en la localidad de Mabegondo.

Puede observarse como los valores de IVDMO (%) del segundo año superaron a los del primero en todos los cortes, tanto para la planta entera como para la parte verde y la mazorca (diferencias medias de 2.3; 1.8 y 1.4 unidades porcentuales, respectivamente). Por otra parte, los valores de digestibilidad obtenidos en la localidad de Mabegondo tendieron a ser superiores a los de Pobra de Brollón para la planta entera y la mazorca, a

partir de la semana séptima, sucediendo a la inversa para la digestibilidad de la parte verde en los dos últimos aprovechamientos. La magnitud de la diferencia entre los valores medios de las dos localidades para la digestibilidad de PE y las fracciones PV y MZ fue numéricamente inferior a la observada entre años (diferencias medias entre los valores de IVDMO de Mabegondo y Pobra de 0.7, -0.8 y 0.8 unidades, PE, PV y MZ, respectivamente).

Tabla 4.2.12. Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la planta de maíz (%) Interacciones Corte x Año y Corte x Localidad para planta entera, parte verde y mazorca

Semana	Planta Entera		Parte Verde		Mazorca	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002
6	71.82	74.89	62.32	64.27	82.22	85.01
7	72.99	75.14	61.34	62.38	83.36	84.84
8	73.39	75.28	59.77	61.00	84.28	85.11
9	73.13	75.31	58.04	60.55	83.93	84.85
10	72.95	75.04	57.11	59.47	83.34	84.35
<i>p</i>	0.015		0.007		<0.0001	
d.m.s. _{0.05}	0.62		1.18		0.68	

Semana	Planta Entera		Parte Verde		Mazorca	
	Mabegondo	Pobra	Mabegondo	Pobra	Mabegondo	Pobra
6	73.33	73.39	63.13	63.46	83.36	83.86
7	74.37	73.69	61.89	61.83	84.54	83.66
8	74.92	73.75	60.33	60.44	85.47	83.92
9	74.74	73.71	58.76	59.83	84.96	83.83
10	74.25	73.69	57.11	59.48	84.41	83.28
<i>p</i>	0.03		n.s.		<0.0001	
d.m.s. _{0.05}	0.62				0.68	

p: significación del test F en el ANOVA; ns: no significativo ($p > 0.05$)

d.m.s._{0.05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma columna ($p < 0.05$).

La fracción parte verde representa a la planta entera excluida la mazorca

Rendimiento en materia seca y materia orgánica digestible

El rendimiento en materia seca de la planta entera y de la mazorca se incrementó con la madurez, siendo observada una tendencia cuadrática que sólo se manifestó de forma significativa ($p = 0.001$) para la fracción mazorca, cuyo rendimiento no se incrementó a partir de la semana novena. Los valores medios de producción para las semanas sexta y décima, en t MS ha⁻¹, fueron de 16.7 y 19.5; 8.0 y 11.7 para PE y MZ, respectivamente. Las tasas de acumulación de materia seca (t ha⁻¹) para los cuatro períodos semanales comprendidos entre los cortes S6 y S10 fueron de 1.1; 0.9; 0.6 y 0.1 para la planta entera

y de 1.4; 1.0; 0.7 y 0.6 para la mazorca. El rendimiento de la parte verde tendió a disminuir a lo largo de dicho período (8.7 y 7.8 t MS ha⁻¹ para S6 y S10, respectivamente), aunque de forma no significativa.

La tendencia observada para el rendimiento en materia orgánica digestible (MOD) fue semejante a la descrita para el rendimiento en materia seca, si bien el efecto de la fecha de aprovechamiento fue significativo para la planta entera ($p=0.037$) y la fracción mazorca ($p=0.0008$). Para el conjunto de los ambientes y variedades, el incremento de MOD con el avance hacia la madurez en los cuatro períodos que mediaron entre las semanas sexta a décima tras la floración femenina fue de 0.92; 0.66; 0.56 y 0.01 t ha⁻¹ para la planta entera y de 1.24; 0.86; 0.58 y 0.35 t ha⁻¹ para la mazorca. El rendimiento de la parte verde descendió de 5.2 a 4.2 t MOD ha⁻¹ entre las semanas sexta y novena, aunque dicho descenso no fue significativo ($p=0.14$). La contribución de la fracción mazorca a la producción total de materia orgánica digestible por ha se incrementó significativamente ($p=0.0002$) con la madurez en el período considerado, representando el 56.1; 61.8; 65.1; 67.1 y 69.4% del total en los cortes S6, S7, S8, S9 y S10, respectivamente.

Fueron detectadas interacciones significativas para corte x localidad y corte x año en el rendimiento de materia seca y materia orgánica digestible, cuyos resultados para la planta entera se exponen en la Tabla 4.2.13. Al margen de la mayor producción (3 t MS y 2 t MOD ha⁻¹), para la media de todos los cortes, registrada en la localidad de Pobra de Brollón, cuyas condiciones de cultivo fueron más favorables (mayor temperatura durante el período de crecimiento y disponibilidad de regadío), se destaca que en esta localidad la producción de MS y MOD se incrementó significativamente hasta la semana novena, mientras que en la de Mabegondo el rendimiento obtenido en la octava semana no se diferenció significativamente del de las dos siguientes fechas de cosecha. De la misma forma, mientras que en el año 2001 a partir de la semana octava no se incrementó significativamente la producción, como media de las dos localidades, en 2002 dicho incremento continuó hasta la semana novena.

Los contenidos medios en MS de la planta entera y la posición de la línea de leche del grano (ML) en las semanas octava y novena para el conjunto de variedades ensayadas y para la media de las dos localidades, fueron: en 2001, de 34.5±3.6 y 3.1±0.4; 36.8±4.3 y

3.9±0.4 para MS (%) y ML, S8 y S9, respectivamente y en 2002, de 32.1±3.0 y 3.0±0.3; 35.0±2.9 y 3.8±0.3 para MS (%) y ML, S8 y S9, respectivamente. Para la media de los dos años, los respectivos valores observados fueron: en la localidad de Mabegondo, de 33.4±3.3 y 3.2±0.3; 35.8±3.8 y 3.9±0.3 para MS (%) y ML, S8 y S9, respectivamente y en la localidad de Pobra de Brollón, de 33.2±3.8 y 3.0±0.3; 36.0±3.8 y 3.8±0.3 para MS (%) y ML, S8 y S9, respectivamente.

Tabla 4.2.13. Rendimiento en materia seca y materia orgánica digestible de la planta entera de maíz. Interacciones Corte x Año y Corte x Localidad

Semana	Producción de Materia Seca (t ha ⁻¹)				Producción de Materia Orgánica Digestible (t ha ⁻¹)			
	Año		Localidad		Año		Localidad	
	2001	2002	Mabegondo	Pobra	2001	2002	Mabegondo	Pobra
6	17.73	15.78	15.81	17.70	12.23	11.37	11.11	12.49
7	18.52	17.19	16.60	19.11	13.02	12.43	11.87	13.58
8	19.55	17.88	17.24	20.19	13.85	12.93	12.42	14.36
9	19.45	19.29	17.55	21.15	13.70	13.99	12.63	15.06
10	19.53	19.49	17.62	21.40	13.77	14.14	12.63	15.28
<i>p</i>	0.001		0.006		0.001		0.017	
d.m.s. _{0.05}	0.92		0.92		0.67		0.67	

p: significación del test F en el ANOVA; *ns*: no significativo (*p*>0.05)

d.m.s._{0.05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma columna (*p*<0.05).

Producción de materia seca y materia orgánica digestible ajustada por la covariable densidad

4.2.7. Efecto de la variedad sobre la calidad y el rendimiento de la planta entera de maíz y las fracciones parte verde y mazorca

Aunque el objetivo del ensayo no era el de discriminar entre los diferentes genotipos empleados en cuanto a su calidad y rendimiento, dada la apreciable contribución de la variedad a la variabilidad encontrada en la digestibilidad y rendimiento de la planta entera y las fracciones parte verde y mazorca, se exponen en la Tabla 4.2.14. los valores medios correspondientes a los nueve híbridos, promediados para los diferentes ambientes y momentos de corte.

Para la planta entera, la variedad afectó significativamente a todas las variables salvo al contenido en materia orgánica, carbohidratos no estructurales y almidón. Para la fracción parte verde, dicho efecto fue significativo para la concentración de PB, FAD Y CSA, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y el rendimiento. Para la fracción mazorca, el contenido en MS, la concentración de PB, FAD y CSA y el rendimiento se vieron significativamente afectados por la variedad.

Entre los valores medios de los distintos híbridos se registraron, para la planta entera, diferencias máximas de 1.3 unidades de PB (%MS), 3 unidades de FAD (%MS), 3.8 unidades de IVDMO (%), 5.2 t MS ha⁻¹ y 11.2 unidades porcentuales en la proporción de mazorca en la materia seca (PCTMZ). Con relación a la media general de todos los ambientes, momentos de corte y variedades, dichas diferencias representaron el 21.3, 13.1, 5.1, 27.1 y 11.2%, para PB, FAD, IVDMO, rendimiento y PCTMZ, respectivamente, siendo de resaltar la variabilidad existente entre híbridos para el contenido en PB y rendimiento de la planta entera.

Para la fracción parte verde, las diferencias máximas (y porcentaje sobre la media general) entre híbridos para la concentración de PB y FAD, IVDMO y rendimiento fueron de 0.4 unidades (7.9%) para PB, 5.5 unidades (13.5%) para FAD, 6.3 unidades (10.5%) para IVDMO y 3.55 t MS ha⁻¹ (42.8%) para el rendimiento. Para la mazorca, las diferencias máximas (y porcentaje sobre la media general) entre híbridos para la concentración de PB y FAD, IVDMO y rendimiento fueron de 1.7 unidades (25.3%) para PB, 1.0 unidades (11.1%) para FAD, 3.2 unidades (3.8%) para IVDMO y 1.8 t MS ha⁻¹ (17.9%) para el rendimiento.

Se destaca que, mientras que la variabilidad entre híbridos del contenido en fibra de la parte verde y mazorca fue semejante a la de la planta entera, el contenido en PB fue mucho más variable en la mazorca que en la parte verde (aproximadamente 3.2 veces). En cambio, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y el rendimiento en materia seca de la parte verde fue mucho más variable en esta fracción, comparada con lo observado para la mazorca (aproximadamente 2.7 y 2.4 veces para IVDMO y rendimiento, respectivamente).

Dos híbridos, el H368 y H400 mostraron una digestibilidad de la planta entera significativamente inferior al resto, correspondiéndose con un contenido en FAD significativamente superior tanto en la planta entera como en la mazorca. Por su parte, el contenido en FAD en la parte verde del híbrido más tardío (Maverik) fue significativamente inferior al resto, traducándose en un valor de IVDMO para esta fracción superior al de los demás genotipos, salvo dos de ellos (Surtep y Xuncal).

Tabla 4.2.14. Efecto de la variedad sobre el contenido en materia seca, composición química, digestibilidad de la materia orgánica *in vitro* y producción de materia seca de la planta entera de maíz y las fracciones “parte verde” y mazorca (medias de los diferentes ambientes y momentos de corte)

a) Planta entera

Variedad (Ciclo FAO)	MS	MO	PB	FAD	CNET	CSA	ALMI	IVDMO	Producción (t MS ha ⁻¹)	PCTMZ	Días Crecimiento ¹
ABONDANCE(200)	38.1	96.8	6.6	21.7	47.5	11.2	36.3	75.1	15.5	58.4	125.9
MAGELLAN(200)	33.3	96.6	6.8	22.1	47.9	10.5	37.4	73.9	15.8	58.3	126.9
CLARICA(200)	33.9	96.8	6.2	22.1	47.7	11.6	36.1	74.0	18.3	57.5	130.3
XUNCAL(200)	32.9	96.4	6.3	23.2	44.9	11.6	33.3	74.5	18.0	53.5	131.3
FURIO(300)	34.7	96.8	5.6	22.6	45.1	11.0	34.2	75.2	18.5	57.5	137.2
SURTEP(300)	32.9	96.8	6.1	22.8	45.3	11.8	33.5	74.3	18.6	55.6	137.2
H368 (300)	32.4	96.4	5.9	24.9	44.2	11.1	33.1	71.7	19.9	52.8	138.5
H400(400)	31.2	96.3	5.7	25.0	43.7	11.7	32.1	71.7	20.9	52.2	140.0
MAVERICK(400)	30.4	96.4	5.5	22.0	46.0	15.1	30.9	75.5	20.5	52.4	141.5
<i>p</i>	0.002	0.27	0.006	0.0002	0.101	0.007	0.111	0.0003	0.002	0.004	<.0001
d.m.s. _{0.05}	3.14	-	0.73	1.25	-	2.20	-	1.58	2.29	3.63	3.86

¹ Días de crecimiento entre siembra y recolección

b) Parte verde²

Variedad (Ciclo FAO)	MS	MO	PB	FAD	CSA	IVDMO	Producción (t MS ha ⁻¹)
ABONDANCE(200)	26.15	94.44	4.75	40.26	15.54	60.90	6.46
MAGELLAN(200)	22.70	93.72	5.42	40.95	12.46	60.48	6.60
CLARICA(200)	22.62	94.24	5.38	40.16	14.94	59.89	7.80
XUNCAL(200)	23.18	93.94	5.39	40.08	14.18	62.07	8.41
FURIO(300)	23.45	94.06	4.74	41.66	12.55	59.87	7.91
SURTEP(300)	23.16	94.23	5.90	40.41	13.25	61.38	8.25
H368 (300)	22.72	93.60	4.59	42.16	13.65	57.91	9.43
H400(400)	21.73	93.79	4.55	41.74	14.09	58.89	10.01
MAVERICK(400)	21.24	93.86	4.46	36.62	19.87	64.30	9.69
<i>p</i>	0.054	0.309	0.033	0.003	0.005	0.021	0.001
d.m.s. _{0.05}	3.01	-	1.04	2.39	3.63	3.48	1.42

² Representa la planta entera excluida la mazorca

c) Mazorca

Variedad (Ciclo FAO)	MS	MO	PB	FAD	CNET	CSA	IVDMO	Producción (t MS ha ⁻¹)
ABONDANCE(200)	57.02	97.93	8.00	8.54	69.99	8.06	84.72	9.04
MAGELLAN(200)	50.72	98.02	7.73	8.74	72.81	9.07	82.96	9.23
CLARICA(200)	54.00	98.23	6.87	8.85	71.46	9.11	83.86	10.47
XUNCAL(200)	51.69	98.09	7.10	8.69	70.99	9.17	84.79	9.62
FURIO(300)	54.64	98.50	6.32	8.59	68.85	9.72	85.94	10.62
SURTEP(300)	49.92	98.51	6.24	8.90	70.36	10.51	84.13	10.37
H368 (300)	52.11	98.35	7.09	9.63	71.13	8.64	83.20	10.44
H400(400)	51.27	98.24	6.72	9.83	70.47	9.23	82.70	10.86
MAVERICK(400)	50.25	98.31	6.51	9.06	69.03	10.59	84.90	10.77
<i>p</i>	0.0001	0.093	0.001	0.031	0.686	0.010	0.069	0.015
d.m.s. _{0.05}	2.60	-	0.78	0.89	5.15	1.44	2.41	1.16

p: significación del test F en el ANOVA. *ns*: no significativo ($p > 0.05$)

d.m.s._{0.05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma columna y localidad ($p < 0.05$).

MS: materia seca (%); PB: proteína bruta (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); CNET: carbohidratos no estructurales (%MS); CSA: carbohidratos solubles en agua (%MS); ALMI: almidón (%MS); PCTMZ: porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta; IVDMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

Los valores de rendimiento en MS están ajustados por la covariable densidad

El contenido medio en MS de las variedades de ciclo más largo tendió a ser inferior al correspondiente valor del resto de híbridos, si bien la diferencia más marcada se encontró para la variedad más precoz (Abondance), que mostró valores de MS significativamente superiores al resto para PE, PV y MZ. Se observó una correlación significativa ($r=0.93$, $p<0.0001$) entre los días de crecimiento y el rendimiento medio para cada híbrido. Teniendo en cuenta que este período medio de crecimiento se refiere a los días transcurridos para cada híbrido, en las condiciones de ensayo, entre la siembra y la semana 8 tras la floración femenina, dicha relación, para el rango 125.9 a 141.5 días, puede expresarse mediante la ecuación $P = -22.34 (\pm 5.7) + 0.303 (\pm 0.04) D$, donde P es el rendimiento en t MS ha⁻¹ y D la duración del cultivo, en días desde la siembra hasta la semana 8 tras la floración femenina. El incremento en 0.3 t MS ha⁻¹ por día de aumento en la duración del ciclo puede ilustrar acerca de las diferencias medias de rendimiento entre los diferentes híbridos.

Relación entre rendimiento en materia orgánica digestible por ha, posición de la línea de leche del grano y contenido en materia seca para los diferentes híbridos en los dos años de ensayo

El resultado de analizar por separado para los diferentes híbridos, en los años 2001 y 2002, la evolución del contenido de materia seca, rendimiento en materia orgánica digestible y posición de la línea de leche (ML) del grano en los distintos momentos de corte puede ilustrar acerca de la consistencia del criterio ML como indicador de madurez y su correspondencia con el rendimiento para cada variedad. En las Tablas 4.2.15. y 4.2.16. se muestran los resultados para los años 2001 y 2002, respectivamente.

En 2001, cuatro de los nueve híbridos no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$) en cuanto al rendimiento en MOD entre el primer y último aprovechamiento, si bien dicha variable tendió a mostrar el valor numéricamente superior entre las semanas 7 y 8 tras la floración femenina. Para los cinco híbridos restantes, en dos de ellos no se produjo un incremento significativo del rendimiento en MOD a partir de la semana séptima y en los tres restantes, a partir de la octava. La posición de la línea de leche en estos momentos osciló entre 2.1 y 3.2, y el contenido en MS entre 29.5 y 37.0, correspondiendo los valores extremos al híbrido más tardío (Maverik, semana 7) y a un híbrido de ciclo 300 (Furio, semana 8).

En 2002, únicamente el híbrido más precoz (Abondance) no vio afectado su rendimiento por el momento de corte. De los ocho restantes, en dos casos no se observó un incremento significativo de la producción de MOD por ha a partir de la semana 8, lo que ocurrió a partir de la semana 9 para seis de ellos. La posición de la línea de leche en el momento de corte a partir del cual no se incrementó posteriormente el rendimiento de forma significativa osciló entre 2.4 y 4.1 y el contenido en MS entre 29.2 y 36.7%, correspondiendo de nuevo los valores inferiores al híbrido más tardío (Maverik, semana 8) y los superiores, en este caso, a un híbrido del ciclo 200 (Clarica, semana 9).

Tabla 4.2.15. Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre el contenido en materia seca y producción de materia orgánica digestible de la planta entera y posición de la línea de leche en el grano de las variedades en el año 2001 (medias de dos localidades y dos repeticiones por localidad)

Año 2001		Semanas tras floración femenina					p	d.m.s. _{0.05}
Variedad (Ciclo)		6	7	8	9	10		
ABONDANCE (200)	Materia Seca (%)	32.49	37.14	40.19	43.69	46.82	<0.0001	1.61
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	10.69	11.31	12.14	11.81	11.70	0.166	-
	ML	1.50	2.50	3.75	4.63	5.00	<0.0001	0.48
MAGELLAN (200)	Materia Seca (%)	27.35	30.32	33.41	38.22	42.40	<0.0001	1.25
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	10.16	9.88	11.85	11.69	12.21	0.0057	1.34
	ML	1.75	2.38	3.00	4.13	5.00	<0.0001	0.22
CLARICA (200)	Materia Seca (%)	27.13	31.85	34.68	38.15	38.85	<0.0001	1.95
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.80	12.64	14.26	13.51	13.89	0.043	1.69
	ML	1.50	2.75	3.63	4.25	5.00	<0.0001	0.46
XUNCAL (200)	Materia Seca (%)	27.04	30.46	33.94	36.65	36.73	<0.0001	1.25
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	12.08	13.45	13.34	13.13	12.34	0.34	-
	ML	1.75	2.25	3.00	4.00	4.88	<0.0001	0.37
FURIO (300)	Materia Seca (%)	29.89	33.19	37.09	39.30	39.74	0.0003	3.00
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	12.45	12.59	14.35	13.93	13.97	0.032	1.42
	ML	1.50	2.25	3.28	3.75	4.75	<0.0001	0.38
SURTEP (300)	Materia Seca (%)	29.30	30.71	33.44	36.55	38.63	<0.0001	2.35
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	12.00	12.31	14.15	14.45	14.53	0.024	1.80
	ML	1.50	2.38	3.00	4.00	4.75	<0.0001	0.44
H368 (300)	Materia Seca (%)	29.75	32.58	34.69	34.45	36.77	0.0002	1.86
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	14.38	14.74	15.09	14.59	14.90	0.88	-
	ML	1.50	2.50	3.25	3.88	4.63	<0.0001	0.48
H400 (400)	Materia Seca (%)	28.21	30.33	31.73	32.22	35.54	<0.0001	1.47
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	13.12	14.64	16.10	15.67	15.07	0.090	-
	ML	1.25	2.13	2.88	3.63	4.25	<0.0001	0.48
MAVERIK (400)	Materia Seca (%)	27.18	29.56	31.59	32.53	35.06	<0.0001	1.93
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	13.46	14.47	15.61	14.34	15.01	0.046	1.46
	ML	1.00	2.10	2.63	3.38	4.13	<0.0001	0.48

ML: Posición de la línea de leche según la clasificación de Hunter *et al.*, (1991), Rango 1 a 5 (1: Endospermo totalmente líquido, 5: Endospermo completamente sólido). p: significación del test F en el ANOVA.

d.m.s._{0.05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma línea (p<0.05).

Se señalan con recuadro los valores correspondientes a la semana de corte a partir de la cual no se detectaron diferencias significativas en la producción de materia orgánica digestible por hectárea con el avance de la madurez. La producción está ajustada por la covariable densidad.

Tabla 4.2.16. Efecto de la fecha de cosecha (semanas tras la floración femenina) sobre el contenido en materia seca y producción de materia orgánica digestible de la planta entera y posición de la línea de leche en el grano de las variedades en el año 2002 (medias de dos localidades y dos repeticiones por localidad)

Año 2002		Semanas tras floración femenina					p	d.m.s. _{0.05}
Variedad (Ciclo)		6	7	8	9	10		
ABONDANCE (200)	Materia Seca (%)	32.24	32.75	35.74	38.05	41.94	<0.0001	0.71
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	9.59	10.69	10.50	12.08	12.04	0.059	-
	ML	1.25	2.25	3.13	4.13	5.00	<0.0001	0.22
MAGELLAN (200)	Materia Seca (%)	26.38	30.55	32.50	34.58	38.47	<0.0001	1.47
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	10.54	11.08	12.06	11.94	11.48	0.035	0.95
	ML	1.00	1.75	2.75	3.38	4.63	<0.0001	0.49
CLARICA (200)	Materia Seca (%)	27.95	29.93	33.52	36.79	40.30	<0.0001	1.76
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.49	11.97	12.84	14.04	13.96	0.0009	0.94
	ML	1.00	2.25	3.25	4.13	5.00	<0.0001	0.40
XUNCAL (200)	Materia Seca (%)	26.18	29.81	32.62	35.72	38.91	<0.0001	1.47
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.86	12.58	12.71	13.26	14.25	0.016	1.18
	ML	1.25	2.00	3.00	4.00	4.88	<0.0001	0.38
FURIO (300)	Materia Seca (%)	27.54	30.66	32.86	36.31	41.11	0.0003	1.41
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.63	12.89	13.07	14.92	15.69	0.0002	1.06
	ML	1.50	2.50	3.25	3.75	4.50	<0.0001	0.45
SURTEP (300)	Materia Seca (%)	26.79	29.28	31.47	34.14	38.70	<0.0001	0.85
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.49	12.87	13.08	14.41	14.55	0.006	0.98
	ML	1.50	2.13	3.13	3.63	4.38	<0.0001	0.36
H368 (300)	Materia Seca (%)	26.31	27.79	30.66	34.24	35.92	0.0002	0.88
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	10.58	11.94	12.60	14.28	13.81	0.006	1.33
	ML	1.75	2.38	3.00	3.88	4.50	<0.0001	0.56
H400 (400)	Materia Seca (%)	26.22	28.20	30.34	33.96	34.96	<0.0001	2.16
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	11.82	13.10	14.22	15.01	15.10	<0.0001	0.79
	ML	1.75	2.50	3.13	3.75	4.38	<0.0001	0.44
MAVERIK (400)	Materia Seca (%)	26.50	27.10	29.24	31.76	33.78	<0.0001	0.77
	Producción (t MOD ha ⁻¹)	12.95	14.57	15.30	16.16	16.67	0.005	1.54
	ML	1.00	1.70	2.40	3.38	4.00	<0.0001	0.22

ML: Posición de la línea de leche según la clasificación de Hunter *et al.*, (1991), Rango 1 a 5 (1: Endospermo totalmente líquido, 5: Endospermo completamente sólido)

p: significación del test F en el ANOVA.

d.m.s._{0.05}: diferencia mínima significativa entre valores de la misma línea (p<0.05).

Se señalan con recuadro los valores correspondientes a la semana de corte a partir de la cual no se detectaron diferencias significativas en la producción de materia orgánica digestible por hectárea con el avance de la madurez. La producción está ajustada por la covariable densidad.

Ecuaciones de regresión entre el contenido en materia seca, concentración de almidón y porcentaje de mazorca en la planta entera y el estado de desarrollo del grano

En la Tabla 4.2.17. se indican ecuaciones de regresión, obtenidas para el conjunto de muestras, que describen la relación entre el contenido en materia seca y almidón de la planta entera y el porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta con el estado de desarrollo del grano (valor ML). Estas relaciones fueron afectadas significativamente

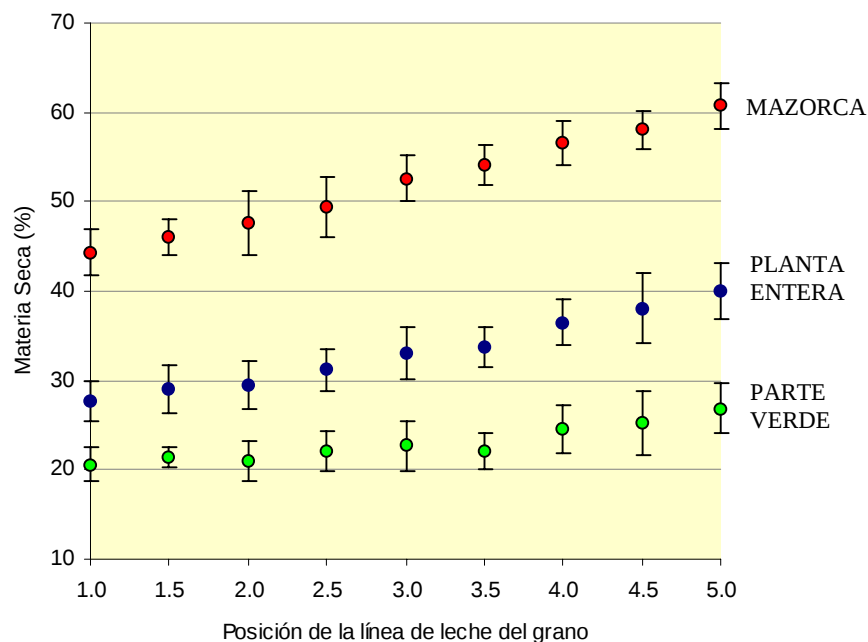
por el ciclo FAO de los distintos híbridos, cuya inclusión en el modelo de regresión permitió incrementar el porcentaje de varianza explicada por el criterio de madurez.

El incremento del contenido en MS de la planta con el aumento de una unidad del valor ML fue de 3.4, 3.1 y 2.5 unidades para los ciclos FAO 200, 300 y 400, respectivamente, toda vez que el ciclo afectó significativamente ($p < 0.0001$) a la pendiente de la ecuación que relaciona, de forma linear, ambas variables. La relación entre el contenido en almidón y el valor ML fue también linear, afectando el ciclo, de forma significativa, al intercepto de la ecuación ($p < 0.05$), pero no a la pendiente (3.97 unidades, en %MS, de incremento en almidón por aumento de una unidad en el valor ML del grano).

La ecuación que describe la relación entre el porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta (PCTMZ) y el valor ML fue también linear, afectando el ciclo tanto al intercepto como a la pendiente ($p < 0.05$). El incremento PCTZM por unidad de aumento de ML fue de 12.3, 8.4 y 4.3 unidades porcentuales para los ciclos 200, 300 y 400, respectivamente. El porcentaje de variación del contenido en MS, almidón y proporción de mazorca en la planta entera explicada por los modelos que incluyen ML como predictor y el ciclo como covariable fue, respectivamente, del 65, 67 y 50%, ($p < 0.0001$ en todos los casos) y los errores mínimos de predicción (valor RSD) de, respectivamente, ± 2.99 , ± 3.53 y ± 4.43 para MS, almidón y PCTZM de la planta entera.

En la Figura 4.2.1. se representan los valores medios del contenido en materia seca de la planta entera y de las fracciones parte verde y mazorca para el conjunto de muestras agrupadas en intervalos de posición de la línea de leche del grano de 0.5 unidades, mostrando que, aunque este criterio es de utilidad para indicar el contenido en MS de la planta, y por tanto del estado de madurez de la misma, el margen de variación del contenido en MS para cada valor de ML es relativamente amplio, oscilando el valor de la desviación estándar del contenido en MS entre ± 2.5 y ± 4.2 para la planta entera, entre ± 1.9 y ± 3.8 para la parte verde y entre ± 2.6 y ± 4.0 para la mazorca entre los estados 1 y 5 de desarrollo del grano.

Figura 4.2.1. Relación entre la posición de la línea de leche del grano y el contenido en materia seca de la planta entera, fracción “parte verde” y mazorca (valores medios del conjunto de muestras)



Posición de la línea de leche según la clasificación de Hunter *et al.*, (1991)

Rango 1 a 5 (1: Endospermo totalmente líquido, 5: Endospermo completamente sólido)

En la Tabla 4.2.18., se indica la relación entre el estado de desarrollo del grano (valor ML) y la edad de la planta, en días tras la floración femenina, dentro del rango 42 (semana 6) a 70 días (semana 10) . En ella puede observarse que, considerando el conjunto de las variedades, por cada semana transcurrido a partir de la semana 6 tras la floración el avance de la línea de leche es de 0.8 unidades. El ciclo FAO al que pertenece cada variedad afectó a esta relación, de forma que para las variedades más precoces (ciclo FAO 200) dicho avance sería de 0.88 unidades por semana, mientras que para el resto (ciclos FAO 300 y 400) el incremento medio se reduciría a 0.72 unidades por semana de retraso en el corte.

Tabla 4.2.17. Efecto del Ciclo FAO de los híbridos sobre la relación entre el contenido en materia seca, almidón y porcentaje de mazorca en la materia seca de la planta entera con el estado de desarrollo del grano (valor ML) para el conjunto de muestras del ensayo (n=360)

Variable dependiente	Ecuación	p	R ²	Media	RSD	Efecto Ciclo FAO		
						Ciclo	Intercepto Δ_1	Pendiente Δ_2
Contenido en Materia Seca (%) de la planta entera	MS = 23.71 + (2.51 + Δ_2) ML s.e. ± 0.45 ± 0.17 p <.0001 <.0001	<.0001	0.65	33.3	± 2.99	200		0.913 ± 0.13 (p<.0001)
						300		0.621 ± 0.13 (p<.0001)
						400		0.00
Contenido en Almidón (%MS) de la planta entera	ALM = (20.31 + Δ_1) + 3.97 ML s.e. ± 0.59 ± 0.16 p <.0001 <.0001	<.0001	0.67	34.0	± 3.53	200	2.88 ± 0.49 (p<.0001)	
						300	1.03 ± 0.52 (p=0.040)	
						400	0.00	
Producción de Materia Seca debida a la mazorca (%)	PCTMZ = (40.11 + Δ_1) + (4.33 + Δ_2) ML s.e. ± 1.37 ± 0.45 p <.0001 <.0001	<.0001	0.50	55.3	± 4.43	200	7.97 ± 1.64 (p<.0001)	-1.52 ± 0.52 (p=0.004)
						300	4.15 ± 1.80 (p=0.022)	-0.75 ± 0.58 (ns)
						400	0.00	0.00

Intervalo de ML: 1 a 5, según clasificación de Hunter *et al.*, (1991)

p: significación; R²: coeficiente de determinación de la regresión; RSD: desviación estándar residual de la regresión; s.e.: error estándar de la estimación del parámetro de la regresión

Tabla 4.2.18. Relación entre el estado de desarrollo del grano (valor ML) y los días transcurridos desde el primer aprovechamiento (semana 6 tras la floración femenina) para el conjunto de muestras del ensayo (n=360)

Variable dependiente	Ecuación	p	R ²	Media	RSD	Efecto Ciclo FAO		
						Ciclo	Intercepto Δ_1	Pendiente Δ_2
Posición de la línea de leche en el grano (valor ML)	ML = 1.43 + 0.115 d s.e. ± 0.03 ± 0.002 p <.0001 <.0001	<.0001	0.88	3.05	± 0.42			
Posición de la línea de leche en el grano (valor ML)	ML = (1.35 + Δ_1) + (0.103 + Δ_2) d s.e. ± 0.04 ± 0.003 p <.0001 <.0001	<.0001	0.90	3.05	± 0.38	200	0.21 ± 0.09 (p<.0001)	0.023 ± 0.005 (p=0.004)
						300	0.03 ± 0.02 (ns)	0.004 ± 0.002 (ns)
						400	0.00	0.00

Intervalo de ML: 1 a 5, según clasificación de Hunter *et al.*, (1991)

d número de días transcurridos desde el primer aprovechamiento en la semana 6 tras la floración femenina (rango 1-28)

p: significación; R²: coeficiente de determinación de la regresión; RSD: desviación estándar residual de la regresión; s.e.: error estándar de la estimación del parámetro de la regresión

4.3. DISCUSIÓN

4.3.1. Valores medios del conjunto de muestras

Los valores medios y rango de variación obtenidos en el presente trabajo se ajustan, en general, a lo observado por otros autores en ensayos similares. Andrieu *et al.*, (1993), en un estudio sobre los factores de variación de la composición y digestibilidad de 15 híbridos comerciales cultivados durante 2 años en 7 localidades francesas cosechados entre 20 y 83 días tras la floración femenina indican valores medios (y rango de variación) de: MS (%) 29.1 (18.3-53.1); MO (%MS) 95.2 (92.0 a 96.7); PB (%MS), 7.4 (5.0-9.9); FAD (%MS), 22.9 (17.4-30.2); carbohidratos solubles en agua (CSA, %MS) 11.9 (3.6-22.6); almidón (%MS) 23.6 (2.9-40.4) y digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (%) 71.9 (66.5-80.6), mientras que la proporción de mazorca (con espigas) en la materia seca total de la planta fue de 55.8% (27.0-68.0). En nuestro estudio, los valores medios (y rango de variación) de las muestras de planta entera en cuanto al contenido en MS (%), y de la concentración (%MS) de MO, PB, FAD, CSA y Almidón fueron, respectivamente, de 33.3 (22.3 a 48.6), 96.5 (94.3 a 98.3), 6.0 (4.0 a 7.7), 22.9 (18.0 a 29.0), 11.7 (6.5 a 20.7) y 34.0 (16.7 a 49.6), siendo el porcentaje de mazorca de 55.3 (38.9 a 68.3). Se hace evidente la similitud de resultados con los referidos por los referidos autores, si bien debe destacarse que en el presente trabajo la primera fecha de cosecha se realizó más tardíamente (semana 6 tras la floración femenina) que en el referido trabajo de Andrieu *et al.*, (1993), lo que puede explicar la mayor concentración de almidón en nuestro caso. El mayor valor medio de digestibilidad de la materia orgánica de la planta entera observado en nuestro ensayo (74.0, rango 67.6 a 79.3%) puede atribuirse al hecho, tal y como se discute en otro apartado de esta tesis, de que los valores de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal según el método Tilley-Terry realizado en el laboratorio del CIAM, para muestras de planta de maíz, tienden a sobreestimar los correspondientes valores de digestibilidad de la materia orgánica determinados *in vivo*.

Para un genotipo cosechado en diferentes momentos en el período comprendido entre la floración y el estado vítreo del grano, Flores *et al.*, (2000c), encuentran, para los cortes realizados entre las semanas 6 y 10 tras la floración femenina, valores medios (y

coeficiente de variación, %) para la planta entera antes de ensilar, de: MS (%) 32.4 (14.1); MO (%MS) 96.2 (0.5), PB (%MS) 7.9 (3.37), FAD (%MS) 23.7 (6.5); Almidón (%MS) 27.0 (16.1); IVDMO (%) 76.1 (1.2) y porcentaje de mazorca en la materia seca total de la planta (%) 51.7 (12.1). Para la parte verde, los correspondientes contenidos medios (y coeficiente de variación, %) fueron: MS (%) 23.2 (8.7); MO (%MS) 93.5 (0.7), PB (%MS) 6.6 (6.2), FAD (%MS) 36.2 (4.5) y IVDMO (%) 63.8 (2.8). Entre la floración y la semana 10 tras la floración, la variación para los contenidos de MS, MO, PB, FAD y IVDMO fueron de 14.2 a 37.4, 92.0 a 96.2, 12.6 a 7.2, 31.7 a 21.9, 74.2 a 75.6, respectivamente, para la planta entera, mientras que para la parte verde dicha variación fue, entre las semanas 2 y 10 tras la floración, de 20.3 a 25.6 para MS, de 93.4 a 92.8 para MO, de 10.2 a 6.2 para PB, de 32.6 a 37.7 para FAD y de 74.0 a 62.1. Si bien estos resultados son comparables a los obtenidos en el presente trabajo, se advierte en éste un mayor coeficiente de variación para la mayor parte de los parámetros de calidad de la planta, en particular para el contenido en proteína y digestibilidad *in vitro*, como consecuencia lógica de la inclusión de diferentes genotipos y ambientes en el mismo.

En una revisión sobre las fuentes de variación del valor nutritivo de la planta de maíz, Demarquilly (1994) indica que, en condiciones de cultivo normales, la materia seca aumenta de forma consistente entre los estados de floración al estado vítreo. Al mismo tiempo, los contenidos en cenizas, nitrógeno y fibra disminuyen ligeramente, mientras que el contenido en glúcidos solubles disminuye rápidamente en beneficio del contenido en almidón. La relativa constancia de la digestibilidad de la mazorca, entre híbridos cosechados en el mismo estado de madurez, y entre diferentes estados de madurez para el mismo híbrido ha sido señalada por diversos autores, entre ellos Deinum et al, (1984) y Demarquilly (1994), quienes indican un valor medio entre 84-85%, lo que coincide con los resultados obtenidos en nuestro estudio (valor medio 84.1%), si bien fue observado un rango de variación relativamente importante, entre 76.3 y 88.7% para el conjunto de las muestras. La mayor amplitud en la variación de digestibilidad de la fracción parte verde coincide con lo expuesto por los anteriores autores. Demarquilly (1994) señala una variación, entre los estados de grano lechoso y vítreo, de 70 a 60%, mientras que Deinum et al., (1984) indican un rango de 74 al 58% a lo largo del período floración-madurez fisiológica de la planta. En nuestro estudio, como ha sido expuesto anteriormente, el valor

medio del valor IVDMO para la parte verde fue de 60.6, con un rango entre valores extremos de 46.9 a 70.3 para el conjunto de la muestra.

4.3.2. Cambios en la composición química de la planta con la madurez

Las correlaciones observadas entre el contenido en materia seca de las muestras y los parámetros de calidad y rendimiento de la planta, reflejan la evolución de los distintos componentes de la planta con el avance de la madurez. La edad, expresada como días tras la floración femenina, varió de 42 a 70 días (media de 48 días). Para el conjunto de muestras, el contenido en MS se incrementó con la edad ($r=0.73$), principalmente debido al incremento relativo de la proporción de mazorca, como se evidencia por la asociación entre la edad de la planta y el contenido en MS de la mazorca ($r = 0.85$) y el porcentaje de mazorca ($r = 0.65$), superiores a la correlación entre la edad y el contenido en MS de la fracción parte verde ($r = 0.50$). El desarrollo del grano se deriva de la formación de almidón a partir del contenido en carbohidratos solubles sintetizados tras la floración o que habían sido almacenados previamente, siendo observada una relación inversa entre estos dos componentes, descrita por la ecuación: $\text{Almidón} = 54.0 - 1.701\text{CSA} \pm 4.6$; $R^2 = 0.45$; $n = 360$. Andrieu *et al.*, (1992) encuentran una relación muy semejante entre ambas variables, según la ecuación: $\text{Almidón} = 45.0 - 1.7986(\text{CSA}) \pm 4.0$; $R^2 = 0.75$; $n = 234$. Las correlaciones encontradas entre la edad y otros componentes de la planta y sus fracciones muestran un descenso del contenido en FAD en la planta entera y la mazorca con la madurez, acompañado de un incremento del rendimiento en MS de ambas fracciones, sin afectar significativamente a su digestibilidad, mientras que la concentración de fibra en la parte verde aumenta, en paralelo a un descenso de la digestibilidad y a una ligera disminución de su rendimiento en MS. Estos resultados coinciden, en líneas generales, con la descripción realizada por otros autores acerca de la evolución de la composición de la planta de maíz con la madurez (Wiersma *et al.*, 1993, Russell *et al.*, 1992, Demarquilly, 1994, Coors *et al.*, 1997)

Según Andrieu y Demarquilly, 1974, el manejo agronómico del maíz para ensilar implica realizar la recolección en el momento en que se maximice la proporción de grano, siendo la base de esta recomendación la mayor concentración de almidón y por tanto de materia seca digestible en el grano comparado con el resto de la planta. La concentración de

azúcares en la parte verde, sin embargo, está inversamente relacionada a la proporción de grano, lo cual es evidenciado en los resultados de nuestro ensayo por la existencia de una correlación negativa entre la concentración en carbohidratos solubles en la fracción parte verde y el porcentaje de mazorca. McAllan y Phipps, (1977), comparando plantas de diferente proporción de espigas, observaron que el mayor contenido en azúcares del tallo de plantas con bajo contenido en espigas implica una mayor digestibilidad de esta fracción, que tiende a compensar la menor proporción de mazorca, con lo que la digestibilidad de la planta era independiente del porcentaje de mazorca. Phipps y Weller, (1979) indican asimismo que la digestibilidad de la planta entera de maíz no está influenciada por la proporción de grano en la planta.

Sin embargo, de nuestros resultados se deduce la existencia de una asociación positiva entre el contenido en mazorca y la digestibilidad de la planta entera ($r = 0.49$ para el conjunto de muestras), que se hace asimismo evidente al comparar los valores medios de los distintos genotipos, toda vez que los híbridos con mayor porcentaje de mazorca presentaron los valores de IVDMO de la planta entera más altos, salvo en el caso del híbrido más tardío (Maverik), de digestibilidad comparable a la de aquellos, lo cual se explica debido a que la digestibilidad de la fracción parte verde fue la más elevada de todos los genotipos ensayados. Otra posible explicación a la correlación positiva observada entre la digestibilidad *in vitro* de la planta entera y el contenido en mazorca es que para los dos híbridos que mostraron, junto con el anterior, el menor porcentaje en mazorca (H368 y H400, ciclos 300 y 400, respectivamente), el valor de digestibilidad de la planta entera fue significativamente inferior al resto, a lo que contribuyó la baja digestibilidad de la fracción parte verde de los mismos. Los contenidos en FAD de la fracción parte verde y de la mazorca de estas variedades fueron los más elevados de la colección.

Moreno-González *et al.*, (1993), analizando los resultados de un ensayo de un año de duración en el que se evaluaron 64 genotipos, incluyendo líneas puras e híbridos, no encuentran correlaciones significativas entre los caracteres de producción (rendimiento en materia seca) de la planta entera, parte verde y mazorca y los caracteres de calidad digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (IVDMO) y contenido en FAD, y una alta asociación negativa entre IVDMO y FAD de la planta entera y de la parte verde

($r = -0.94$ y -0.93 , respectivamente). En nuestro ensayo, mientras que la correlación entre la digestibilidad de la parte verde y su contenido en fibra ($r = -0.91$) fue semejante a la referida por dichos autores, la correspondiente asociación para la planta entera fue menos elevada ($r = -0.74$), lo que se relaciona con la menor variabilidad en el contenido en fibra de la planta entera encontrado en el presente trabajo, donde únicamente fueron evaluados híbridos comerciales. Por otra parte, además de una moderada asociación entre el rendimiento de la parte verde y los factores de calidad de la planta entera, se destaca, en concordancia con lo observado por los anteriores autores, la débil correlación entre el rendimiento en materia seca de la planta entera y los caracteres de calidad de ésta o de cualquiera de las fracciones poniendo de manifiesto la relativa independencia de la evolución de la acumulación de materia seca en la planta respecto a la calidad de la misma, a lo largo del período de estudio.

En un trabajo realizado en Canadá, Vattikonda y Hunter (1983) indican correlaciones de 0.8-0.7 para la relación entre la digestibilidad de la planta entera y la digestibilidad de la fracción parte verde y de 0.4-0.5 entre aquella y el contenido en grano. Por su parte Cox *et al.*, (1994), observa correlaciones entre la digestibilidad de la planta entera y el contenido en grano de entre 0.79 y 0.63 para híbridos de distintos ciclos, cultivados en diferentes años. En nuestro trabajo, la correlación entre la digestibilidad de la planta entera y la parte verde fue de 0.56, mientras que entre aquella y el porcentaje de mazorca fue de 0.49. Aunque los resultados no son estrictamente comparables, al estar incluido el zuro en la fracción mazorca, cuya composición no fue determinada, los resultados parecen evidenciar la importancia de la digestibilidad de la parte verde en la determinación de la digestibilidad del conjunto total de la planta, toda vez que esta fracción aportó, como media de todas las muestras para los diferentes momentos de corte, entre el 52 y el 40% del rendimiento total en MS de la planta en los aprovechamientos realizados en las semanas 6 y 10 tras la floración femenina, respectivamente. Parece haber evidencias de que la digestibilidad de la planta de maíz puede estar más correlacionada con la digestibilidad de la pared celular de la fracción caña, que con el porcentaje de grano o de mazorca en la cosecha. Resultados de un estudio donde se evaluaron cuatro híbridos en dos fechas de siembra en Holanda (Struik, 1983), indican que la digestibilidad de la pared celular de la fracción caña explicó el 87% de la variación de la digestibilidad de la planta entera. A este respecto, Verbic *et al.*, (1995) y Wolf *et al.*, (1993) indican que

la calidad de esta fracción es un factor que condiciona estrechamente el valor nutricional de la planta entera, el cual puede ser aumentado incrementando la proporción de grano y/o mejorando la calidad nutritiva de la caña. Este último aspecto les merece especial atención a Deinum y Bakker, (1981) ya que las posibilidades de la mejora genética de la calidad del grano son limitadas a causa de su menor variabilidad, comparada con la exhibida por la fracción caña, lo cual coincide con lo observado en el presente trabajo.

4.3.3.- Fuentes de variación de los caracteres de calidad y rendimiento de la planta de maíz

Existe acuerdo en afirmar que el valor nutritivo del maíz forrajero está relacionado fundamentalmente con su digestibilidad (Carter *et al.*, 1992). Se ha encontrado una variabilidad genética significativa entre híbridos de maíz tanto en evaluaciones de digestibilidad *in vitro* (Deinum y Bakker, 1981) como *in vivo* (Barrière *et al.*, 1992), estando afectado el rendimiento y calidad, en diversa medida, por factores ambientales, genéticos y de manejo, en particular por el estado de madurez en la cosecha (Cusicanqui y Lauer, 1999). Los resultados de nuestro ensayo han mostrado que los factores ambientales contribuyen a explicar, en mayor medida que cualquier otro factor conocido, la variabilidad del rendimiento de la planta entera y la parte verde, la digestibilidad *in vitro* de la planta entera, la parte verde y la mazorca, el contenido en azúcares y fibra de la parte verde y la proteína de esta fracción y de la planta entera.

Por otra parte, el genotipo explicó el mayor porcentaje de varianza de los contenidos en proteína de la mazorca y de la fibra de la parte verde, además de realizar una importante contribución a la variabilidad observada en la digestibilidad de la planta entera y, en menor medida, de la mazorca y la parte verde, y del rendimiento de la planta entera y de la parte verde. La aportación del estado de madurez a la variabilidad de la digestibilidad de la planta entera y de la mazorca fue prácticamente nulo, mientras que contribuyó a explicar, en mayor medida que cualquier otro factor, un alto porcentaje de varianza de los caracteres de calidad y rendimiento de la mazorca excepto su contenido en proteína. La aparente contradicción entre el alto porcentaje de varianza explicada por los factores ambientales y la no significación estadística del año y localidad debe ser atribuida a la existencia de un solo grado de libertad para estos factores y a la estructura del modelo

empleado en el análisis, donde el único factor fijo considerado fue la fecha de corte. El efecto del ambiente sobre la digestibilidad de la planta de maíz, es elevado, según Barrière *et al.*, (1997), pero la interacción genotipo por ambiente es débil comparada con el genotipo. Los resultados del presente trabajo muestran que los factores ambientales son responsables del 46.8% de variabilidad de IVDMO de la planta entera, mientras que el genotipo contribuye con un 26.0% adicional, en tanto que la interacción genotipo x ambiente añade únicamente un 4.2%, lo cual concuerda con la observación de los anteriores autores.

Mientras algunos autores no encuentran un efecto significativo de la interacción genotipo x ambiente (Deinum, 1988; Vattikonda y Hunter, 1983), otros autores indican que, cuando las condiciones de temperatura y humedad del suelo difieren sensiblemente son de esperar diferencias en los caracteres de calidad de la planta de maíz (Cox *et al.*, 1994). Moreno-González *et al.*, (2002), en un experimento donde se evaluaron 26 variedades locales y 3 híbridos comerciales en la misma localidad durante dos años consecutivos, observaron que el contenido en MS y la digestibilidad de la planta entera estaban influenciadas por las condiciones ambientales, además del rendimiento, encontrando diferencias debidas al genotipo para todos los caracteres, excepto para el contenido en MS de la fracción parte verde, así como interacciones significativas entre el genotipo y el ambiente para todos los caracteres excepto el porcentaje de mazorca y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la parte verde.

En nuestro ensayo el genotipo influyó en todos los caracteres de calidad y rendimiento de la planta entera y las fracciones parte verde y mazorca, salvo sobre el contenido en CNET y almidón de la planta entera, el contenido en materia seca de la parte verde y la digestibilidad y el contenido en CNET de la mazorca. Por otra parte, las interacciones año x variedad y localidad x variedad fueron significativas para todos los caracteres, salvo la digestibilidad de la fracción mazorca, en el primer caso, y sobre el rendimiento de MS de la planta entera, parte verde y mazorca, en el segundo. La diferente evolución de las temperaturas a lo largo de los dos años de ensayo permiten sugerir una explicación al primer efecto, dado que la mayor acumulación de temperatura registrada hasta finales de septiembre en el primer año permitió a los híbridos más precoces alcanzar un mayor grado de madurez en 2001 comparado con 2002, para la misma edad en la cosecha,

contada en días desde la floración femenina. La UTC en el período del 15 mayo al 15 de octubre fue, en la localidad de Mabegondo, de 1741 y 1676 °C y en Pobra de Brollón de 1986 y 1769 °C en los años 2001 y 2002, respectivamente, si bien el valor de UTC a partir de finales de septiembre fue superior el último año del ensayo, lo que permitió alcanzar a los híbridos más tardíos niveles de materia seca comparables a los de 2001.

La existencia de un efecto significativo de la interacción localidad x variedad sobre el rendimiento se manifestó a través de un diferente comportamiento de los híbridos en las condiciones de regadío de la localidad de Pobra de Brollón, en la cual las diferencias en producción entre las variedades de ciclo más largo y las más precoces fueron mayores que las registradas en la localidad de Mabegondo, donde el cultivo se desarrolló en secano. Crasta *et al.*, (1997) observan que, en situaciones de déficit hídrico, la digestibilidad de la planta de maíz puede estar más asociada con diferencias en la disponibilidad de agua que con la temperatura. En nuestro estudio, las diferencias encontradas entre las dos localidades en cuanto los caracteres de calidad y rendimiento de la planta de maíz se refieren fundamentalmente al adelanto de la fecha de floración en la localidad del interior de Galicia, debido a una mayor acumulación de temperaturas durante los meses de verano y a un incremento del rendimiento debido a la disponibilidad de regadío, sin afectar sensiblemente a las características de calidad de la planta.

Andrieu *et al.*, (1992) observan que los efectos genotípicos afectan poco a la concentración de carbohidratos solubles. Sin embargo en nuestro ensayo el efecto del genotipo sobre el contenido en CSA de la planta entera fue cuantitativamente más elevado que el del ambiente, explicando dichos factores un 19.3 y un 16.5% de la varianza total, respectivamente. Este efecto se atribuye a que el híbrido más tardío (Maverik) mostró valores medios de CSA en la planta entera un 33% superiores a los del resto de las variedades (valor medio 11.3 %MS), que no se diferenciaron significativamente entre sí.

Russell *et al.*, (1992) encuentran un significativo efecto de la madurez sobre el rendimiento en MS, PB, FAD, CNET y porcentaje de mazorca, pero no sobre la digestibilidad *in vitro* de la planta entera de maíz, así como de la interacción madurez x genotipo en el contenido en MS, digestibilidad y rendimiento, cuando evaluaron diferentes híbridos cosechados entre las semanas 7 y 11 tras la floración femenina,

indicando un descenso superior en el rendimiento y digestibilidad de la planta cosechada en el estado más avanzado de madurez para los híbridos más tardíos. Mientras que en nuestro ensayo se encontraron efectos significativos de la madurez sobre todos los caracteres de calidad de la planta entera, salvo para el contenido en PB y digestibilidad *in vitro*, no se observó significación para el rendimiento en MS pero sí de materia orgánica digestible. En contraposición a lo observado por los anteriores autores, no se encontró un efecto significativo de la interacción madurez x variedad para el conjunto de ambientes sobre los caracteres de rendimiento en MS ó MOD ni para la digestibilidad *in vitro* de la planta entera.

La homogeneidad en el comportamiento de los híbridos cosechados en la misma fecha relativa al momento de floración femenina ha sido puesta de manifiesto por Moreno-González *et al.*, (2002), quienes, como resultado de un ensayo de un año de duración donde se evaluaron diferentes híbridos de ciclos 200 a 400 en una misma localidad, indican la ausencia de significación en la interacción variedad x momento de corte para el rendimiento en materia seca de la planta entera. Por su parte, Campo y Moreno-González, (2003), encuentran un efecto significativo del genotipo y del momento de corte (semanas tras la floración femenina) para el rendimiento en MS de la planta entera, mientras que el rendimiento de las fracciones parte verde y mazorca no estaban afectadas por el momento de corte pero sí por el genotipo, sin apreciar un efecto significativo sobre dichas variables de la interacción entre ambos caracteres. Los resultados obtenidos en nuestro ensayo, donde la variabilidad de las condiciones de medio se ampliaron a dos años y dos localidades, confirman lo observado por estos autores.

Darby y Lauer (2002), en un ensayo donde evaluaron híbridos de diferente ciclo entre los estados de grano lechoso y madurez fisiológica, encuentran interacciones significativas entre madurez y genotipo para el rendimiento en MS, debido a que los híbridos de ciclo más largo acumulan más materia seca que los de ciclo corto a partir de una determinada fecha. Una posible explicación a la ausencia de este efecto en nuestro ensayo es que los híbridos más tardíos no alcanzaron, para ninguno de los ambientes, el estado de madurez fisiológica en el último aprovechamiento, siendo cosechados en un estado menos avanzado.

Es interesante señalar que en el referido trabajo de Darby y Lauer (2002), mientras que para el forraje fresco no se encontró efecto de la interacción madurez x genotipo para la digestibilidad y el contenido en FAD, dicho efecto fue significativo para el ensilaje resultante, sugiriendo dichos autores que el proceso de ensilado acentúa las diferencias en calidad entre los híbridos en diferentes fechas de cosecha. a este respecto, las pérdidas por efluente cuando el cultivo es ensilado con bajo contenido en MS (Phipps y Weller, 1979) y las diferencias en la fermentación que tiene lugar en el silo a partir de los carbohidratos solubles pueden explicar porqué con cierta frecuencia ensilajes con baja proporción de grano presentan concentraciones de FAD elevadas y valores de digestibilidad reducidas comparados con ensilajes de planta de maíz con contenido normal en grano (McAllan y Phipps, 1977).

4.3.4.- Correlación entre parámetros de calidad y rendimiento de la planta de maíz y criterios objetivos de madurez

El estado de madurez tiene importantes efectos en muchas características del maíz cultivado para ensilar. El rendimiento total de la cosecha, el contenido en materia seca, porcentaje de grano, la digestibilidad de la caña (Daynard y Hunter, 1975), pérdidas en el ensilado (Giardini *et al.*, 1976) y la ingestión de materia seca de ensilado (Malterre, 1976) son factores que pueden ser influenciados por el estado de madurez de la planta. Para la identificación del estado óptimo de cosecha en el campo es necesario disponer de un método objetivo y fiable.

El contenido en MS de la planta entera es un buen indicador del estado de madurez del maíz (y por tanto del momento más adecuado para cosechar la planta), como lo demuestra la elevada asociación observada entre este parámetro y los caracteres relacionados con el desarrollo de la mazorca con valores del coeficiente de correlación r que osciló, para el conjunto de las muestras, entre 0.70 para el porcentaje de mazorca y 0.78 para el contenido en CNET. Para los distintos híbridos, considerados por separado como media de los distintos ambientes, dicha correlación osciló de 0.83 a 0.93 para el contenido en almidón y de 0.73 a 0.90 para el porcentaje de mazorca. Sin embargo la medida del contenido en MS de la planta requiere el disponer de instalaciones para el secado del

forraje, y el muestreo requiere tiempo, por lo que en la práctica esta medida es difícil de realizar.

Diversos autores, entre ellos Havilah *et al.*, (1995), Wiersma *et al.*, (1993) y Hunter *et al.*, (1991) han indicado que la posición de la línea de leche en el grano es una guía fiable del estado de madurez de la planta, que puede ser usada como criterio de manejo para indicar la proximidad del momento óptimo de cosecha en condiciones normales de cultivo. Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran que este criterio, para el conjunto de las muestras, es el que exhibe una mayor asociación con los caracteres de madurez contenido en materia seca de la planta entera, contenido de almidón y porcentaje de mazorca ($r=0.73$, 0.80 y 0.70), mientras que la acumulación de temperaturas (valor UTC) en el período floración-cosecha mostró una asociación ligeramente inferior con dichos caracteres. Sin embargo, el valor de UTC correspondiente al período siembra-cosecha fue el criterio que mostró un coeficiente de correlación con el rendimiento de materia seca de la planta entera superior al resto, si bien la magnitud del mismo ($r=0.38$) indica una débil asociación. El hecho de que el valor de r en la localidad de Pobra de Brollón sea consistentemente más elevado que en la de Mabegondo, se asocia con la existencia de regadío en la primera, que reduce o elimina el efecto de un posible efecto negativo de la falta de humedad sobre el rendimiento del cultivo. Los resultados ponen de manifiesto la utilidad del criterio ML como indicador del estado de madurez de la planta, asociado al grado de desarrollo de la mazorca, y la influencia de otros factores, además de la temperatura, en el rendimiento de la planta.

Havilah *et al.*, (1995) establecen una relación entre el contenido en MS de la planta con la posición de la línea de leche (rango 1-5) indicando que, en diferentes ambientes, por cada incremento en una unidad del valor ML el contenido en MS oscila entre 2.6 y 4.5 unidades (%). En nuestro estudio, dicha relación estuvo influida por el ciclo del híbrido, variando, para la media de los diferentes ambientes, entre 3.4, 3.1 y 2.5 para las variedades de los ciclos 200, 300 y 400, respectivamente. Por otra parte, el avance de la línea de leche con el tiempo transcurrido desde el momento en que el grano llega al estado de grano pastoso (posición ML=1 en nuestro estudio), es fijado por Wiersma *et al.*, (1993) y Hunter *et al.*, (1991) en 0.19 y 0.16 unidades ML por día en variedades de ciclo corto, mientras Havilah *et al.*, (1995) para variedades de distinto ciclo, indica un valor de

0.11 unidades d^{-1} . Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican una tasa de avance media de 0.126 y 0.115 unidades d^{-1} para las variedades de ciclo 200 y más tardías, respectivamente, como media para los diferentes ambientes, entre las semanas 6 y 10 tras la floración femenina.

El estado de madurez ha sido estimado frecuentemente en el campo mediante otras observaciones. Estas incluyen la presencia o ausencia de una pequeña depresión en el ápice del grano en las variedades de endospermo dentado o la senescencia de las hojas basales de la planta, estimación de humedad mediante presión con la mano de un puñado de material picado, observando la salida de líquido de la masa o el comportamiento del material comprimido una vez que cesa la presión, y la descripción de la consistencia del grano con términos como lechoso, pastoso-blando, pastoso-duro y vítreo para diferenciar diferentes fases del desarrollo del grano. Según Havilah *et al.*, (1995), dichas observaciones son difíciles de cuantificar, siendo imprecisa la descripción de la consistencia del grano en los términos anteriores. Por otra parte, existen variedades con endospermo liso y no dentado, y la disponibilidad de agua, temperatura y nutrientes pueden influenciar la persistencia de las hojas de la parte inferior de la planta de forma que la muerte de estas hojas puede tener poca relación con la madurez de la planta. En nuestro estudio, sin embargo, el número de hojas secas de la parte inferior del tallo fue el único criterio que mostró una correlación significativa con la digestibilidad *in vitro* de la planta entera para el conjunto de las muestras, si bien la magnitud de dicha asociación fue baja ($r = -0.31$).

4.3.5.- Momento óptimo de corte

Los resultados obtenidos en nuestro estudio indican, para el conjunto de variedades y ambientes y para los cortes realizados entre las semanas 6 y 10 tras la floración femenina, un incremento prácticamente lineal del contenido de materia seca de la planta entera, parte verde y mazorca, acompañado por un incremento en la concentración de materia orgánica y de almidón, que no es significativo a partir de la semana 9 para esta última variable. En paralelo con esta evolución, el contenido en FAD de la planta entera y mazorca descienden significativamente hasta las semanas 8 y 9, respectivamente, y la de la parte verde aumenta, también de forma significativa, hasta la semana 8. El contenido en

carbohidratos solubles de la planta entera y sus fracciones disminuye en los sucesivos momentos de corte, aunque sólo lo hace de forma significativa en la planta entera. El contenido en PB de planta entera y mazorca permanece prácticamente constante mientras desciende el de la parte verde de forma significativa hasta la semana 9. Como vemos, la composición química de la planta de maíz se ve modificada significativamente con el avance hacia la madurez hasta la semana 8 ó 9 tras la floración femenina. El descenso continuado de digestibilidad de la fracción parte verde en los sucesivos momentos de corte (-0.35 unidades por día entre las semanas 6 a 10) fue compensada por un incremento de la proporción de mazorca, cuya digestibilidad varió poco (entre 83.6 y 84.7 el primer aprovechamiento y el realizado en la semana 8), de forma que la digestibilidad de la planta entera osciló entre 73.3 y 74.0% entre las semanas 6 y 10, respectivamente, con un máximo (no significativo) en la semana 8, de 74.3%. Estas tendencias, en cuanto a la variación de la digestibilidad, se reprodujeron cuando se analizaron las interacciones corte x año y corte x localidad, mostrando que el valor de digestibilidad de la planta entera en el primer aprovechamiento mostraba el valor mínimo, para ascender hasta la semana 8 ó 9 dependiendo de la localidad y el año, y descender después ligeramente. Sin embargo, la variación de dicho valor entre los valores máximo y mínimo fue escasa, entre 0.3 y 1.5 unidades porcentuales. Como media de todos los aprovechamientos, las diferencias de digestibilidad de la planta entera entre años fueron más importantes que las registradas entre localidades (2.3 y 0.7 unidades, respectivamente), ocurriendo lo mismo para la parte verde y mazorca, lo que sugiere una mayor influencia del año, comparada con la localidad, en la digestibilidad de la planta entera y sus fracciones. La mayor digestibilidad encontrada para las muestras del año 2002 comparadas con el anterior, en el caso de la planta entera puede explicarse por un superior contenido en mazorca (53.5 y 57.1%, años 2001 y 2002, respectivamente), mientras que para la fracción parte verde dicho efecto se observó para las muestras procedentes de la localidad de Mabegondo, que tuvieron 2 puntos menos de FAD y una digestibilidad 5 puntos superior en 2002. Esta circunstancia ilustra acerca de la variabilidad causada en la digestibilidad por las condiciones ambientales.

En cuanto al rendimiento en MS y MOD, el análisis de las interacciones entre momento de corte y el año y entre aquel factor y la localidad permitió observar que el rendimiento se incrementaba desde la semana 6 hasta la octava o novena, dependiendo del año y de la

localidad, no variando significativamente en aprovechamientos posteriores. Este hecho sugiere que la fecha que optimiza la producción de materia seca y materia orgánica digestible por ha del cultivo está sujeta a variación entre años y localidades, situándose entre la semana octava y novena tras la floración femenina. El comportamiento homogéneo de las variedades estudiadas respecto de la producción alcanzada en cada fecha de corte es puesta de manifiesto por la ausencia de interacción significativa para el efecto corte x variedad ($p=0.962$ y $p=0.927$; rendimiento en MS y MOD, respectivamente).

Estos resultados coinciden, en líneas generales, con lo observado por Campo y Moreno-González (2003), los cuales, en un ensayo de un año de duración realizado en Mabegondo con genotipos semejantes a los utilizados en nuestro estudio, encuentran que la semana 9 tras la floración femenina permite obtener la máxima producción de MS de la planta entera, si bien aprecian un descenso significativo de dicho valor para el aprovechamiento realizado en la semana 10. La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de la planta entera alcanzó el máximo en la semana 8, para descender significativamente en la semana 10, con un comportamiento inverso al registrado por la concentración de FAD, que descendió hasta alcanzar un mínimo en la semana 9 tras la floración femenina e incrementarse posteriormente en el último aprovechamiento. De la Roza *et al.*, (1995), para una variedad de ciclo corto cultivada en la zona costera de Asturias, encuentran también un incremento de la concentración de fibra en la planta entera en un estado avanzado de madurez del grano (estado vítreo) comparado con el aprovechamiento realizado más precozmente (estado pastoso-vítreo), acompañado de un descenso en la digestibilidad y del contenido en almidón. Russell *et al.*, (1992) encuentran, para aprovechamientos realizados entre la semana 9 y 11 tras la floración femenina con variedades de distinto ciclo, un descenso del rendimiento en el último corte sin que la digestibilidad *in vitro* se viese significativamente afectada.

Wiersma *et al.*, (1993) evaluaron el efecto de la madurez en el rendimiento, calidad y contenido en MS de 4 híbridos de ciclo corto, cosechados en 5 estados de madurez del grano (pastoso blando o comienzo de aparición del carácter dentado en el grano, depresión dentada visible en el 95% de los granos, $\frac{1}{2}$ ML, $\frac{3}{4}$ ML y madurez fisiológica), encontrando que el contenido en MS se encontraba dentro del intervalo 30-40% (que

dichos autores consideran adecuado para ensilar) entre los estados de $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ ML. Asimismo, la producción de MS de la planta alcanzaba el máximo a $\frac{1}{2}$ ML (34% MS), mientras que el rendimiento en grano lo hacía en el intervalo comprendido entre $\frac{3}{4}$ ML (37 %MS) y la madurez fisiológica (40% MS). Por otra parte, los valores máximos de la digestibilidad de la materia seca *in vitro* se observaron entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ ML, descendiendo la concentración de PB entre el primer y último estado de forma continuada. Otros autores describen también el momento óptimo de recolección en función del contenido en materia seca de la planta y del estado de desarrollo del grano. Daccord *et al.*, (1996) indican que el estado óptimo para cosechar la planta entera de maíz viene dado por un contenido en materia seca de la planta de entre 30-35%, representando el mejor compromiso entre rendimiento, calidad de fermentación e ingestión. Por su parte, Herter *et al.*, (1996) en ensayos de campo realizados durante dos años con 9 híbridos comerciales cultivados en cuatro localidades observa que la digestibilidad más elevada se encuentra cuando el contenido en MS de la planta es de aproximadamente 33% MS, y que cuando la línea de leche se sitúa en la posición de $\frac{1}{2}$ del grano, el contenido en MS osciló entre 31-34% para la planta entera. Según Bal *et al.*, (1997) el estado óptimo de cosecha se encuentra entre los estados de $\frac{1}{4}$ a $\frac{2}{3}$ ML, con un contenido de 32-35% MS. El maíz cosechado fuera de este intervalo tiene un riesgo más elevado de producir un ensilaje de peor calidad debido al menor valor nutricional del forraje de partida o a una peor calidad de conservación.

En nuestro estudio, cuando consideramos el conjunto de variedades ensayadas, el rendimiento de la planta entera, tanto en términos de MS como de MOD producida por ha, no se incrementó significativamente a partir del momento en que el contenido en MS de la planta entera estaba entre el 33 y 36% y el valor de la línea de leche del grano se situaba entre 3.1 y 3.8, dependiendo de las localidades y los años. De acuerdo con nuestro criterio de descripción de la evolución de los sucesivos estados de desarrollo del grano, el estado 1 se correspondería con el grano pastoso mientras que los estados 2, 3, 4 y 5 lo serían con $\frac{1}{4}$ ML, $\frac{1}{2}$ ML, $\frac{3}{4}$ ML y la madurez fisiológica, respectivamente.

4.3.6.- Diferencias entre genotipos

En el presente trabajo fueron observadas diferencias significativas entre híbridos en cuanto a la mayor parte de los caracteres de calidad y, particularmente, en el rendimiento

así como diferencias de digestibilidad de la planta entera para híbridos de similar porcentaje de mazorca y contenido en almidón, que se hacen particularmente evidentes para los dos híbridos de ciclo más largo y el H368, comparados con el resto de las variedades. Roth (1994) en un ensayo donde evaluó nueve híbridos comerciales en tres ambientes (dos localidades en dos años diferentes y otra localidad un único año), realizando la cosecha entre el estado de 2/3 ML y madurez fisiológica encontró que la diferencia de digestibilidad *in vitro* entre genotipos en la misma localidad fue de 4.1 unidades., pero cuando se promediaban los genotipos para los tres ambientes, el rango entre híbridos fue de 2.7 unidades (%), y que las diferencias de producción entre híbridos, que ascendieron al 11.5% de la media, fueron porcentualmente mayores que para cualquier otro parámetro de calidad. En nuestro estudio, las diferencias entre el valor IVDMO y el rendimiento en MS de la planta entera de los distintos híbridos, promediada para los distintos ambientes y fechas de corte, fueron de 3.8 unidades y 4.5 t MS ha⁻¹ (5.1 y 24.4% de la media general, respectivamente) y, coincidiendo con lo observado por el autor anteriormente citado, la máxima diferencia en el rendimiento entre híbridos fue superior a la de mostrada por cualquier otra variable. Para los diferentes ambientes, la diferencia entre híbridos osciló entre 3.6 y 4.4 para IVDMO y 4.0 y 7.0 para rendimiento. Puede concluirse, concordando con lo expuesto por Roth (1994), que existen diferencias de rendimiento y calidad entre híbridos comerciales, y que los productores deberían considerar ambos atributos cuando seleccionan un híbrido para ensilar.

4.3.7.- Limitaciones del uso del criterio de la línea de leche (ML) como indicador del momento óptimo de cosecha

Establecido el intervalo de estados de desarrollo del grano que optimizaban el rendimiento en materia orgánica digestible de la planta para la media de las variedades estudiadas, la existencia de las aludidas diferencias entre híbridos, unida a la significación de la interacción entre el año y la variedad sugirió estudiar la evolución del rendimiento en MOD de cada variedad en los dos años de ensayo, comprobando la consistencia del criterio de la línea de leche como indicador del momento de cosecha. Los resultados obtenidos muestran que considerando el conjunto de los dos años de ensayo y para las diferentes variedades, la posición de la línea de leche en el momento de corte a partir del cual no se registraron incrementos significativos del rendimiento en MOD osciló entre

valores extremos de 2.1 y 4.1 (aproximadamente de $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ ML) con un contenido en MS de la planta entera situado entre 30 y 37%, correspondiéndose a aprovechamientos realizados alrededor de la semana 8 y 9 en los años 2001 y 2002, respectivamente.

Mientras que estos resultados se ajustan al intervalo descrito por la mayor parte de los autores revisados, debe ser tenido en cuenta la existencia de una amplia variabilidad entre híbridos y años para un mismo valor de ML. A partir de los resultados de un estudio de tres años de duración, Wiersma *et al.*, 1994 indicaban que el contenido en MS podía variar hasta 7 unidades (%) para un particular estado, entre diferentes híbridos y diversos años. A este respecto Lauer (1999) indica que otoños suaves y relativamente húmedos contribuyen a alargar el período de crecimiento de la parte vegetativa de la planta, conduciendo en ocasiones a un contenido en humedad de la fracción parte verde por encima de lo normal y advierte de que muestras de planta entera de maíz cosechado en diferentes años en explotaciones de EEUU en el estado de $\frac{1}{2}$ ML presentaban un contenido en materia seca que osciló entre valores extremos del 26 al 50% MS. En nuestro estudio, cuando se agruparon las muestras en intervalos de 0.5 unidades de la escala 1 a 5 de la línea de leche (que se considera la máxima precisión posible en las observaciones de campo) la desviación estándar del contenido medio en materia seca de cada intervalo osciló entre ± 2.5 y ± 4.2 unidades (%) para la planta entera. Esta variabilidad sugiere utilizar este criterio como un simple indicador de la proximidad del momento óptimo de recolección, que debería ser complementado con determinaciones de la humedad del forraje si se quiere tener la seguridad de que la cosecha se realizará a un determinado nivel de materia seca. Wiersma (1994) indica que una vez que el contenido en MS del híbrido se ha determinado, puede usarse con cierta fiabilidad el valor de 0.5 unidades (%) de incremento de MS por día de cosecha. La relación encontrada en nuestro estudio, a este respecto, depende del ciclo del híbrido y, para el intervalo entre las semanas 6 a 10 tras la floración femenina, las variedades de los ciclos 200, 300 y 400 incrementaron su contenido en MS, respectivamente, en 0.43, 0.36 y 0.28 unidades (%) por día de avance en la madurez.

Desde el punto de vista de la conservación del cultivo mediante ensilado, tal y como indican Phipps y Weller (1979) y Wilkinson y Osbourn, (1975), el contenido en MS de la planta entera es un importante criterio puesto que afecta las pérdidas por efluentes, la

intensidad de la fermentación y la ingestión de MS. Por otra parte debe ser tenido en cuenta que un contenido excesivo en materia seca del forraje dificulta la consolidación de la masa en el silo, indicándose que el rango óptimo de materia seca para almacenar maíz forrajero en silos tipo bunker o trinchera oscila entre el 30-35% (Lauer, 1999), coincidiendo con lo indicado por Daccord *et al.*, (1996) y Bal *et al.*, (1997). Los valores medios del contenido en materia seca resultante de agrupar las variedades estudiadas en el presente trabajo en sus respectivos ciclos FAO resultaron ser de 34.5, 33.3 y 30.7 en la semana 8, de 37.6; 35.8 y 32.6 en la semana 9 y de 40.5; 38.4 y 34.8 en la semana 10 para los ciclos 200, 300 y 400, respectivamente, lo cual parece sugerir que para las variedades más tardías la recolección podría retrasarse una semana más respecto del momento óptimo para las más precoces, incrementándose los contenidos en MS y almidón, sin afectar significativamente el rendimiento en MS ni la digestibilidad.

Sin embargo debe ser tenido en cuenta que, mientras que en Pobra de Brollón los aprovechamientos que optimizaron la producción de MOD por ha de los híbridos más tardíos tuvieron lugar en 2002 a lo largo de las dos primeras semanas de octubre, en Mabegondo esto tuvo lugar en dicho año en las dos últimas semanas de dicho mes, en condiciones climatológicas adversas debido a las precipitaciones registradas, lo que sugiere que, en determinados años, el uso de híbridos de ciclo superior a 300 puede resultar problemático en las condiciones de la Galicia atlántica norte al alcanzarse el momento óptimo de cosecha en un período con riesgo de altas precipitaciones, que pueden dificultar o impedir el tránsito de maquinaria en las parcelas durante las operaciones de ensilado.

Los híbridos más precoces tienen la ventaja de alcanzar el momento óptimo de cosecha antes que los más tardíos, lo cual es una ventaja ante condiciones climatológicas desfavorables, y también la de alcanzar mayor contenido en materia seca comparados con aquellos, si las condiciones son favorables. Como contrapartida al mayor contenido en materia seca y almidón de los híbridos precoces, debe considerarse el mayor rendimiento de los híbridos tardíos. En cualquier caso, debe ser tomada en cuenta la existencia de diferencias en la calidad y el rendimiento entre genotipos a la hora de la elección de un híbrido para ensilar.

4.4.- CONCLUSIONES

1. Los resultados ponen de manifiesto que los factores ambientales (localidad y año) ejercen una fuerte influencia en la mayor parte de los parámetros de composición química de la planta entera de maíz y la fracción parte verde, así como sobre la digestibilidad y rendimiento de la planta entera y parte verde, superior a la del genotipo y el estado de madurez de la cosecha entre las semanas seis a diez tras la floración femenina. Esto, unido a la existencia de interacciones significativas genotipo x ambiente pone de manifiesto la necesidad de realizar las evaluaciones del material vegetal en diferentes localidades y diferentes años.
2. El genotipo aportó el mayor porcentaje de variabilidad del contenido en proteína de la mazorca y del de la concentración de fibra de la parte verde, contribuyendo a explicar un porcentaje significativo de la variabilidad total del rendimiento y digestibilidad de la planta indica. Las diferencias máximas de digestibilidad y rendimiento entre híbridos, para el promedio de los distintos ambientes y fechas de corte fueron de 3.8 unidades (%) y 4.5 t MS ha⁻¹. Para los diferentes ambientes, dichas diferencias oscilaron entre 3.6 y 4.4 unidades (%) para la digestibilidad y entre 4.0 y 7.0 t MS ha⁻¹ para el rendimiento. Fueron encontradas diferencias significativas de digestibilidad de la planta entera entre genotipos con la misma proporción de mazorca, lo que indica la importancia de considerar conjuntamente los caracteres de digestibilidad y rendimiento en la elección de los híbridos para el cultivo.
3. El estado de madurez fue responsable de la mayor parte de la variabilidad en el contenido en materia seca y almidón de la planta entera y de la mazorca, así como del rendimiento de la mazorca, contribuyendo a explicar significativamente la varianza de la digestibilidad de la parte verde. Las variaciones de digestibilidad de la planta entera entre las semanas 6 y 10 tras la floración femenina fueron de escasa importancia, entre 0.3 y 1.5 unidades (%), para el promedio de las variedades en los distintos ambientes. El incremento de la proporción de mazorca con la madurez, cuya digestibilidad permaneció relativamente constante a través de los diferentes momentos de corte, compensó el significativo descenso de la

digestibilidad de la parte verde. Para el conjunto de los ambientes, no se registró un efecto significativo de la interacción madurez x genotipo para los caracteres de digestibilidad y rendimiento, lo que sugiere un comportamiento uniforme de las variedades utilizadas respecto al momento de corte.

4. El aprovechamiento de la planta entera de maíz realizado entre la octava y novena semana tras la floración femenina parece ser el momento más adecuado para realizar la cosecha, ya que a partir de ese momento no son de esperar incrementos significativos de producción ni de la concentración de almidón y la digestibilidad de la planta se mantiene en un nivel próximo al máximo. La existencia de interacciones significativas de genotipo x ambiente para estas variables de calidad y rendimiento podría hacer variar estas recomendaciones para condiciones que difiriesen sensiblemente de las del ensayo.
5. La cosecha de híbridos de ciclo 400 en el momento óptimo de madurez, en las condiciones de la Galicia atlántica norte puede, en determinados años, retrasarse excesivamente hasta finales de octubre, lo que puede dificultar o impedir la mecanización de los trabajos de ensilado debido al alto riesgo de precipitaciones intensas en dicha época.
6. El criterio del estado de desarrollo del grano a través de la evolución de la línea de leche es un indicador útil del estado de madurez de la planta. Para el conjunto de variedades ensayadas, el rendimiento en materia orgánica digestible no se incrementó significativamente a partir del momento en que el contenido en MS de la planta entera estaba entre el 33 y 36% y el valor de la línea de leche del grano se situaba entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ de su recorrido. Cuando se consideran las diferentes variedades por separado en cada año de cultivo, el rendimiento en materia orgánica digestible se optimizó cuando la planta tenía entre 30 y 37% de MS y la línea de leche se encontraba entre $\frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$ de su recorrido, en un intervalo de 14 días y 156 °C de unidades térmicas de crecimiento acumuladas. Sin embargo el contenido en MS de híbridos con el mismo estado de desarrollo del grano puede variar de forma importante, lo que limita su utilidad para estimar el contenido en materia seca del cultivo en el momento de la cosecha.

5. CAPÍTULO III

EVALUACION DE MÉTODOS DE LABORATORIO PARA LA PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* DE LA MATERIA ORGÁNICA DE ENSILAJES DE HIERBA Y PLANTA ENTERA DE MAÍZ

En el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) se han venido realizando sistemáticamente desde hace más de 10 años ensayos de evaluación *in vivo* encaminados a obtener métodos de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de ensilajes de hierba y maíz. Se revisan en este trabajo los resultados más importantes obtenidos al respecto, basados en las determinaciones *in vivo* realizadas así como en las técnicas de laboratorio examinadas hasta la fecha. Las ecuaciones de predicción que se presentan son destinadas a los laboratorios de análisis de forrajes de Galicia, examinándose modelos empíricos que utilizan parámetros químicos como predictores y modelos basados en determinaciones *in vitro* con líquido ruminal y solubilidad enzimática con celulasas.

5.1. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1.1. Características de las muestras

Ensilajes de hierba. La colección de ensilajes de hierba de digestibilidad conocida comprende 197 muestras evaluadas *in vivo* en el CIAM desde 1984, de las cuales aproximadamente las dos terceras partes procedían de explotaciones lecheras gallegas, siendo obtenidas las restantes en las fincas experimentales del CIAM sitas en las localidades de Mabegondo (Abegondo-A Coruña) y Pobra de Brollón (Lugo). Esta colección incluye muestras de hierba de pradera de distinta composición botánica y cultivos de raigrás italiano e inglés, en su mayor parte cosechada a lo largo del período de crecimiento de primavera-verano y refleja, en cuanto al tipo de cosechadora, presecado de la hierba y uso de aditivo, la tecnología de ensilado habitual en las explotaciones lecheras gallegas. Los ensilajes realizados en explotaciones ganaderas fueron seleccionados anualmente a partir de los resultados analíticos de las muestras obtenidas en el transcurso de la campaña anual

realizada por los Servicios Técnicos de la Cooperativa Leyma hasta 1996 y posteriormente por los de la empresa PROGANDO S. L., atendiendo además a criterios relativos al tipo de pradera y tecnología utilizada en el ensilado, así como a la precocidad del corte y número del ciclo de aprovechamiento.

Ensilajes de maíz. La colección de ensilajes de planta entera de maíz de digestibilidad *in vivo* conocida comprende 93 muestras de 30 genotipos diferentes, pertenecientes de los ciclos FAO 200 a 400 cultivados en diferentes localidades gallegas a lo largo de los años 1997 a 2002. Aproximadamente la mitad de las muestras proceden de explotaciones lecheras gallegas, siendo el resto obtenidas en distintos experimentos realizados en las fincas del CIAM sitas en las provincias de Lugo y A Coruña.

Toma de muestras para la evaluación *in vivo*. Una vez transcurridos unos 2 meses desde la ejecución del ensilado se extraían aproximadamente 700 kg de ensilaje del silo, que eran ensacados en bolsas de plástico de 25-30 kg, trasladados a la nave metabólica y congelados a -27 °C hasta la determinación de la digestibilidad *in vivo*. En el caso de ensilajes de hierba cosechados con rotoempacadora o con autocargador no-picador, el forraje era picado a 2 cm con una picadora estática de precisión antes de su congelación.

5.1.2. Determinación de la digestibilidad *in vivo*

Las evaluaciones de cada muestra de ensilaje se realizaron utilizando un mínimo de cinco carneros castrados de más de dos años de edad, de raza gallega, alojados en jaulas metabólicas dotadas con separadores de heces y orina. El diseño de dichas jaulas, que se muestra en el Anexo 3 de este capítulo, fue realizado en el CIAM por el investigador J. Castro González, y responde a los criterios de minimizar el estrés de los animales durante la realización de las evaluaciones y facilitar el trabajo de los operadores durante la alimentación y toma de muestras.

Los animales, que disponían de bloques de un corrector vitamínico-mineral a libre disposición, recibieron ensilaje como único alimento. Para los ensilajes de hierba, el nivel de alimentación fue *ad libitum*, ajustándose la oferta para permitir un 10% de rechazos, mientras que para los ensilajes de maíz, a fin de evitar la selección del forraje por los

animales, el alimento se ofreció a un nivel restringido equivalente a unos 35 g de materia seca (MS) por kg de peso vivo metabólico ($P^{0.75}$) inicial. Para este grupo de ensilajes se añadieron 2,3 g de urea por kg de materia fresca de alimento, repartidos homogéneamente en el forraje, antes de su distribución a los animales. El alimento fue ofrecido diariamente en una única comida, a primera hora de la mañana. Cada evaluación se inició con un período variable (una a tres semanas) de adaptación al tipo de ensilaje a evaluar (maíz o hierba) antes de la entrada de los animales a la nave de digestibilidad para conseguir un cambio de alimentación progresivo. Una vez en la nave, el período de adaptación al ensilaje problema y a las jaulas metabólicas fue de 10 días de duración, donde se pesó diariamente el alimento ofrecido y rechazado por los animales, seguido por 11 días continuados de pesaje y muestreo diario del alimento ofrecido y las heces producidas, así como del ensilaje rechazado, en su caso, para cada animal. El muestreo fue realizado una sola vez al día, tomándose una alícuota del 10% del alimento ofrecido y rechazado y el 20% de las heces producidas para cada animal. Las muestras tomadas diariamente se fueron acumulando, congeladas a $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el final de cada ensayo.

5.1.3. Análisis químico por vía húmeda

Determinación de materia seca y preparación de las muestras para el análisis.- La preparación de las muestras para las posteriores determinaciones por vía húmeda se realizó mediante secado en estufa de aire forzado Unitherm, a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 16 horas, determinando el contenido en materia seca por gravimetría. Las muestras secas se molieron en molino de martillos Christy & Norris con tamiz de 1 mm.

Humedad residual, cenizas y materia orgánica.- El contenido en humedad residual y cenizas (CZ) de las muestras secas y molidas se realizó mediante desecación a $102\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posterior calcinación secuencial a $460\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un analizador termogravimétrico MAC500 de Leco (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EEUU), siendo expresado el valor de Materia Orgánica (MO) como 100-CZ.

Nitrógeno y proteína bruta.- La proteína bruta (PB) se calculó a partir del nitrógeno (N) total multiplicado por 6.25. La determinación de nitrógeno total en muestras secas y molidas se realizó mediante digestión micro Kjeldahl por ebullición con ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno para la oxidación de la materia orgánica, transformando el nitrógeno orgánico en ión amonio, seguida de la determinación colorimétrica del ión

amonio, según el método descrito por Castro *et al.* (1990) adaptado a los autoanalizadores de flujo continuo TRAACS y AAIH (Bran-Luebbe, Inc., Technicon Industrial Systems Corp., Tarrytown, NY, EEUU).

Fibra Bruta.- La determinación de fibra bruta (FB) se realizó según el Método Oficial n° 7 del MAPA (1995), adaptado al digestor Fibertec System modelo 1020 de la marca Foss Tecator.

Fibra Neutro Detergente, Fibra Ácido Detergente, Celulosa y Lignina.

Las determinaciones de fibra neutro detergente (FND) se realizaron siguiendo el procedimiento propuesto por Van Soest y Robertson (1991), y las de fibra ácido detergente (FAD) y celulosa (CEL) según Goering y Van Soest (1970). En la determinación de FND de los ensilajes de maíz se añadió α -amilasa termoestable (Sigma A3306) a la solución detergente. Estos procedimientos fueron adaptados al digestor Fibertec System modelo 1020 de la marca Foss Tecator en el que se analizaron todas las muestras de ensilaje y la mayor parte de las heces y al FibreAnalyzer (ANKOM Technology Co., Fairport, NY, USA), utilizado para la determinación de FND en las heces correspondientes a 21 muestras de ensilaje de maíz. Se utilizaron muestras diferentes para la determinación de FND y FAD. La determinación de lignina (LAD) se realizó sobre el residuo insoluble en detergente ácido por el método de lignina-sulfúrico de Goering y Van Soest (1970). Los contenidos en FND y FAD se expresaron libre de cenizas y con cenizas, respectivamente.

Almidón.- El contenido en almidón (ALM) de los ensilajes de maíz se determinó por polarimetría según el método oficial n° 34 del MAPA (1995).

Contenido en energía bruta.- El contenido en energía bruta (EB) de las muestras secas y molidas se determinó en un calorímetro isoperibólico PARR-1281EF (Parr Instruments Company, Moline, IL, EEUU).

Análisis realizados sobre muestras frescas de ensilaje.- Se realizaron según los métodos de rutina del Laboratorio Agrario e Fitopatológico de Mabegondo (LAF). Sobre el extracto de 50 g de muestra fresca de ensilado, macerada a temperatura ambiente durante 2 horas en 150 ml de agua destilada, se determinó el pH con un pHmetro provisto de electrodo combinado y el N amoniacal usando un electrodo selectivo (Orion). El contenido en ácidos grasos volátiles, ácido láctico y etanol se determinó a partir de dicho extracto mediante cromatografía de gases según una modificación del método de Stern y Endres (1991),

realizada por M. Cardelle (Cardelle, comunicación personal). El contenido en N total (Nt) se realizó mediante digestión macro Kjeldahl, según el método oficial n° 3 del MAPA (1995), seguido por destilación y determinación volumétrica del ión amonio. El contenido en N soluble se determinó en el macerado con agua destilada, a 80 °C, de 50 g de muestra fresca, mediante digestión Kjeldhal según lo descrito anteriormente.

Las muestras de ensilaje ofrecido se analizaron, según los métodos descritos, para determinar su contenido en MS, CZ, FND, FAD, CEL, LAD, FB, PB, EB, ALM (en muestras de ensilaje de maíz), pH, ácidos de fermentación, etanol, Nt, N amoniacal y N soluble, mientras que las heces y el alimento rechazado (en su caso) se analizaron para MS, CZ, PB, FND y EB. En el caso de los ensilajes de maíz no se realizó el análisis del contenido en PB de las muestras de heces.

Todas las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado, repitiéndose el análisis cuando la diferencia entre resultados superaba el 5% del valor medio. Los resultados se expresaron en porcentaje sobre materia seca corregida por la humedad residual.

Corrección del contenido en materia seca por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa.- A partir del contenido en ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico), ácido láctico y etanol de las muestras de ensilaje, y asumiendo los coeficientes de volatilidad descritos por Dulphy y Demarquilly (1981) para el secado de muestras de ensilaje en estufa de gran capacidad a 80 °C, se calcularon las pérdidas de materia seca (PMS, en g por 100 g de materia seca no corregida), a partir de las cuales se obtuvo el factor de corrección FC_{MS} , calculado como $FC_{MS} = \frac{100 + PMS}{100}$. El valor de la materia seca corregida por pérdida de volátiles (MS_c , %) se calculó como $MS_c = MS \times FC_{MS}$, donde MS es el contenido en MS (%) determinado en estufa. Los valores de composición química no fueron corregidos por la pérdida de volátiles.

5.1.4. Determinación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vitro*

Las determinaciones de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica de los ensilajes se realizaron mediante los siguientes métodos:

- a) Tilley-Terry (DoTT) modificado por Alexander y McGowan (1969), utilizando como animales donantes dos vacas secas canuladas en rumen, alimentadas a nivel de mantenimiento con una dieta compuesta por heno de buena calidad y un concentrado del 18% PB a base de harina de cebada y soja. Se determinó el valor DoTT de todas las muestras de ensilajes de hierba y maíz.
- b) Solubilidad enzimática Fibra Neutro Detergente-Celulasa (DoNDC) según el método de Riveros y Argamentería (1987), utilizando la celulasa Onozuka R-10 (de *Trichoderma viride*), art. 102 321 de Merck, en todas las muestras de ensilaje de maíz y en 169 muestras de ensilaje de hierba.
- c) Solubilidad enzimática pepsina-celulasa (DoPC), según Aufrère (1999), en todos los ensilajes de maíz, y en 64 muestras de ensilaje de hierba, utilizando el mismo tipo de celulasa.

Los resultados de digestibilidad *in vitro* se corrigieron utilizando tres muestras de referencia de cada forraje introducidas como testigo en cada tanda a fin de controlar la variabilidad entre tandas sucesivas. Dicha corrección se ajustó a la expresión

$$Dx_c = \frac{Dr_m}{Dr_i} Dx_i, \text{ donde: } Dx_c \text{ es la digestibilidad } in vitro \text{ corregida para la muestra}$$

problema x , Dx_i es la digestibilidad *in vitro* para la muestra problema x en la tanda i , Dr_m es la digestibilidad *in vitro* media de las muestras de referencia y Dr_i es la digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en la tanda i . Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

5.1.5. Determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de muestras de ensilaje de maíz

A fin de evaluar la utilidad de los métodos *in situ* para la predicción de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de los ensilajes de maíz, se determinó la degradabilidad *in*

situ de la materia seca en un subconjunto de 46 muestras de ensilaje de maíz¹. Dicha evaluación se realizó sobre muestra secada en estufa de aire forzado a 40 °C durante 48h y molida a 3 mm en un molino Christy&Norris. Fueron utilizadas bolsas de nylon (ANKOM[®], tamaño de poro 50±15µm), con una cantidad media de 14.7 mg de muestra por cm² de bolsa y tiempos de incubación de 0, 4, 8, 16, 24, 48, 72 y 96 horas, durante dos tandas consecutivas, en el rumen de tres vacas frisonas secas. Estas fueron alimentadas a nivel próximo a mantenimiento con una dieta compuesta por heno de buena calidad y ensilaje de maíz y un concentrado del 25% PB a base de pulpa, harina de maíz, gluten y harina de soja, en una proporción forraje:concentrado de 2/3:1/3, siendo ofrecida la comida dos veces al día, a las 10 y 18 h. Las bolsas, suspendidas del tapón de la cánula por un hilo de nylon de 35 cm de longitud, estaban lastradas con un peso de acero inoxidable de 400 g. Una vez transcurrido el tiempo fijado de incubación, las bolsas se sumergían en agua con hielo durante 10 minutos y posteriormente lavadas en lavadora automática con agua fría durante 30 minutos, seguido de un centrifugado suave. Las bolsas correspondientes a la hora cero pasaron directamente a la lavadora. Una vez lavadas, las bolsas permanecieron congeladas a -27 °C hasta ser secadas al final de cada tanda, en estufa de aire forzado a 80 °C durante 24 horas, seguido de pesada con precisión 0.1 mg tras pasar por un desecador.

Utilizando procedimientos de regresión no lineal (PROC NLIN, SAS Institute, 2000) se realizó el ajuste de los datos de porcentaje de desaparición (p) de materia seca de las bolsas en cada hora de incubación, siguiendo el modelo $p=a+b(1-e^{-ct})$ (Ørskov y McDonald, 1979). Se obtuvieron los parámetros representativos de la fracción rápidamente degradable (a), lentamente degradable (b) y la velocidad de degradación en el rumen (c) para cada muestra, vaca y tanda. Posteriormente se calculó la degradabilidad potencial (DP) como $DP=(a+b)$, y para una tasa de paso $k=0.06\text{ h}^{-1}$, la degradabilidad teórica (DT) según la expresión $DT=a+(bc/(c+k))$. Para cada muestra fueron promediados los valores correspondientes a las tres vacas y dos tandas de evaluación.

¹ Estos resultados fueron obtenidos en el transcurso del proyecto de investigación PGIDIT 03RAG05E titulado “Desarrollo de un nuevo sistema de estimación de la degradabilidad ruminal de la proteína y de los carbohidratos de ensilajes y mezclas con concentrados para vacas de leche”, iniciado en 2003 y realizado en colaboración entre la Cooperativa COREN y el CIAM con el asesoramiento del Dpto. de Producción Animal de la ETSIA de la UPM de Madrid.

5.1.6. Cálculo de la digestibilidad aparente *in vivo* y correcciones por el nivel de pérdidas de volátiles durante el secado en estufa

A partir de los resultados de las evaluaciones *in vivo*, y una vez completado el análisis de las muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces producidas, se calculó, para cada animal utilizado en el ensayo, el coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca (CDMS), materia orgánica (CDMO) y energía (CDE) de las muestras de ensilaje de hierba y de maíz, según la expresión $CD_x = \frac{\sum Xi - \sum Xe}{\sum Xi} \times 100$, donde CD_x es el coeficiente de digestibilidad aparente (en %), del constituyente x , siendo $\sum Xi$ y $\sum Xe$, respectivamente, las cantidades ingeridas y excretadas de dicho constituyente por el animal a lo largo de los 11 días de control. La desviación estándar de la media de cada evaluación fue utilizada para calcular el error de determinación medio de los coeficientes de digestibilidad de las muestras de la colección. A fin de eliminar el efecto del nivel de alimentación (NA) de los distintos ensilajes sobre los valores de digestibilidad (Blaxter, 1969), los valores correspondientes a cada animal fueron corregidos para un nivel de alimentación de mantenimiento (NA=1) tomado como 24 g de materia orgánica digestible ingerida/ kg $P^{0.75}$ según la expresión $CD_c = \frac{CD + 10.7(NA - 1)}{1 + 0.113(NA - 1)}$, donde CD_c es el coeficiente de digestibilidad aparente corregido a mantenimiento. No se realizó ninguna corrección para los coeficientes de digestibilidad obtenidos en ensayos con $NA < 1$.

El cálculo de los coeficientes de digestibilidad aparente se realizó a partir de los resultados analíticos no corregidos por pérdidas de volátiles. Mientras que el secado de las heces en estufa no provoca pérdidas apreciables de materia seca, es necesario tener en cuenta dicho efecto para el forraje ensilado (Cochran y Gaylean, 1994; Grassland Research Institute, 1961), para lo cual, aparte de obtener el coeficiente de corrección de la MS, es preciso obtener las pérdidas correspondientes a la materia orgánica y energía bruta, respectivamente.

La relación entre el contenido verdadero en materia orgánica de una muestra y el determinado sobre la muestra seca en estufa (ambos valores referidos al contenido en MS no corregida) se calculó mediante la expresión $FC_{MO} = \frac{MO + (FC - 1) \times 100}{MO}$, donde MO se

expresa en % MS. Para la corrección de pérdidas de energía bruta, además del contenido en compuestos volátiles de las muestras de ensilaje y su volatilidad según Dulphy y Demarquilly (1981), se consideró el diferente contenido en energía de dichos compuestos, siendo tomados los valores de 29.79, 14.60, 20.76, 24.93 y 15.16 kJ g⁻¹ para etanol y ácidos acético, propiónico, butírico y láctico, respectivamente. Obtenidas las pérdidas de energía bruta (PEB) durante el secado, el factor de corrección se obtuvo según $FC_{EB} = \frac{EB + PEB}{EB}$, siendo EB el contenido en energía bruta de la materia seca en estufa.

La corrección de los valores de los coeficientes de digestibilidad se realizó según lo indicado por el AFRC (1993), mediante las expresiones siguientes:

$$DMS = 100 - \frac{100 - CDMS}{FC}, \quad DMO = 100 - \frac{100 - CDMO}{FC_{MO}} \quad \text{y} \quad DE = 100 - \frac{100 - CDE}{FC_{EB}},$$

donde DMS, DMO y DE son los valores del coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía bruta corregidos por la pérdida de volátiles durante el secado en estufa.

Para 24 muestras de ensilaje de hierba que no tenían completo el análisis fermentativo, los valores de FC_{MS} , FC_{MO} y FC_{EB} se obtuvieron por regresión, a partir de las siguientes ecuaciones, obtenidas sobre las restantes 173 muestras con la analítica completa:

$$FC_{MS} = 1.056 \text{ (s.e. 0.006}^{***}) - MS \times 0.00150 \text{ (s.e. 0.00009}^{***}) + pH \times 0.00645 \text{ (s.e. 0.002}^{***})$$

$$R^2 = 0.44; \text{ Valor medio 1.049; RSD} = 0.014; \text{ c.v.} = 1.37\%$$

$$FC_{MO} = 1.054 \text{ (s.e. 0.007}^{***}) - MS \times 0.00178 \text{ (s.e. 0.0001}^{***}) + pH \times 0.00864 \text{ (s.e. 0.002}^{***})$$

$$R^2 = 0.46; \text{ Valor medio 1.055; RSD} = 0.016; \text{ c.v.} = 1.54\%$$

$$FC_{EB} = 1.059 \text{ (s.e. 0.008}^{***}) - MS \times 0.00154 \text{ (s.e. 0.0001}^{***}) + pH \times 0.00701 \text{ (s.e. 0.002}^{**})$$

$$R^2 = 0.36; \text{ Valor medio 1.053; RSD} = 0.017; \text{ c.v.} = 1.68\%$$

5.1.7. Análisis estadístico

Se examinaron las relaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y las determinaciones de laboratorio mediante análisis correlación y de regresión lineal simple y múltiple, precedida de un proceso de regresión paso a paso, siendo seleccionados los mejores modelos uni y multivariantes en cuanto a porcentaje de varianza

explicada de la variable dependiente. Los procedimientos utilizados fueron CORR, RSQUARE, STEPWISE y GLM del paquete estadístico SAS v. 8.1 (SAS Institute, 2000). Para los ensilajes de hierba se realizó análisis de covarianza (PROC GLM de SAS) para estudiar el efecto de las variables de clase número de corte y tipo de pasto en los parámetros de las regresiones.

En la construcción de los modelos predictivos se utilizó un proceso secuencial de validación cruzada para los grupos de ensilajes de hierba y maíz, en el cual del conjunto de calibración era excluida secuencialmente una de las muestras, sobre la que se realizó la validación de la predicción de digestibilidad *in vivo* a partir del modelo de calibración generado. Repetido el proceso un número de veces igual al número total de muestras de cada grupo (n), se computó el error estándar de validación cruzada (RSD_{cv}) a partir de los errores de estimación (e_i = diferencia entre el valor observado y el predicho por el modelo) de las n muestras del

conjunto de validación como $RSD_{cv} = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-1}}$. El valor RSD_{cv} es muy cercano numéricamente al error estándar aplicable al valor predicho de una muestra individual, cuando el valor de la variable independiente es igual a la media de la población.

Fueron excluidos los modelos con un porcentaje de varianza explicada en validación cruzada inferior al 20% así como aquellos que incluían como predictores variables con un elevado grado de colinealidad, dado su efecto negativo en la estabilidad de los coeficientes de los modelos de regresión, siendo aquel estimado a través de las herramientas de diagnóstico del procedimiento REG de SAS.

A fin de determinar posibles muestras anómalas y siguiendo el procedimiento descrito por Dardenne *et al.*, (1993), con anterioridad al estudio de regresión se realizó un análisis de componentes principales (PROC FACTOR de SAS) para las principales variables analíticas, siendo calculada la distancia generalizada de cada muestra al centro del espacio definido por los 10 ejes mediante la expresión $d_i = \sqrt{\sum x_{ij}^2}$, donde d_i es la distancia generalizada de la muestra i al origen y x_{ij} es la coordenada de la muestra i en el eje j . Posteriormente se revisaron aquellas muestras con distancia $d > 4$, a fin de decidir sobre si sus características aconsejaban descartarlas de las respectivas colecciones para el presente estudio.

5.2. RESULTADOS

5.2.1. Ensilajes de hierba

5.2.1.1.- Características de las muestras de la colección

Las principales características de la colección de ensilajes de hierba en cuanto al tipo de pasto, ciclo y técnica de ensilado se muestran en la Tabla 5.2.1.

Tabla 5.2.1. Caracterización de la colección de ensilajes de hierba: Porcentaje de muestras en cada grupo

Tipo de pasto		Presecado		Tipo de cosechadora	
Raigrás italiano	25.0	No presecado	71.6	Picadora de precisión	20.3
Raigrás italiano + trébol	5.6	Presecado	28.4	Cosechadora de corte directo ²	14.6
Raigrás inglés	10.7			Autocargador	44.8
Raigrás inglés + trébol	49.0			Rotoempacadora	20.3
Mezclas ¹	9.7				

Número de corte		Uso de aditivo		Tipo de silo	
Primer corte (primavera)	75.2	Sin aditivo	65.1	Almiar sobre tierra	71.3
Segundo corte (primavera)	22.2	Fórmico ³	21.1	Paredes y solera de obra de fábrica	28.7
Corte otoño	2.6	Otros aditivos	13.8		

¹ Mezclas de diversos tipos de pasto en el mismo silo. Incluye praderas naturales

² Cosechadoras de mayales y doble corte

³ Incluye mezclas de Fórmico y Formol

La colección recoge la incorporación de ensilajes evaluados *in vivo* hasta el año 2002, con un total de 197 muestras, que procedían de un total de 104 explotaciones de las provincias de A Coruña y Lugo. Aproximadamente el 75% eran muestras de primer corte, correspondiendo el resto a ensilajes de segundo corte, salvo cinco muestras procedentes de hierba de otoño. Las fechas medias de aprovechamiento para las muestras de primer y segundo corte fueron, respectivamente, el 6 de Mayo (± 22 d) y el 8 de Junio (± 21 d). Las muestras fueron agrupadas, en cuanto a la composición botánica de la hierba de partida ensilada, en ensilajes de gramíneas, de gramíneas y trébol y de mezclas de distintos tipos de hierba, representando el 35.9, 54.1 y 10.0% del total de la colección, respectivamente. El 71.6 % de los ensilajes de la colección no fueron presecados, mientras que el 28.4% restante procedía de hierba que permaneció en el campo al menos 6 horas tras ser segada. En cuanto al tipo de maquinaria empleada en la recolección, el 44.8% de los ensilajes

habían sido cosechado con remolque autocargador, el 20.3% con picadora de precisión, el 20.3% con rotoempacadora y el resto con cosechadora de corte directo. El 65.1% de las muestras de ensilaje no habían recibido aditivo, mientras que el 21.1% había sido tratado con ácido fórmico y el 13.8% restante con otro tipo de aditivo, que incluía sales de ácido, inoculantes o melazas.

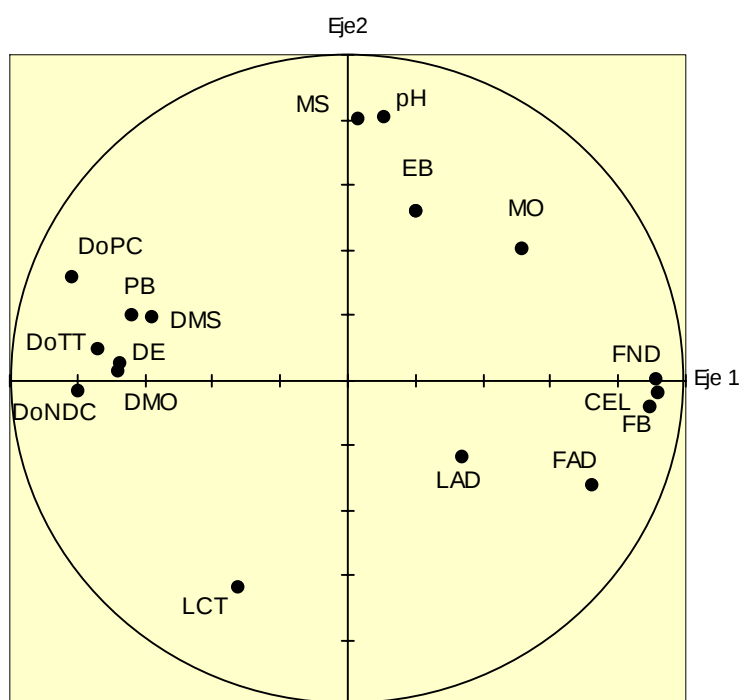
5.2.1.2.- Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales se realizó sobre las 197 muestras y 12 parámetros (MS, pH, contenido en ácido láctico, digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y concentración de MO, PB, FND, FAD, CEL, LAD, FB y contenido en EB), si bien sólo 171 muestras con las series analíticas completas fueron utilizadas en los cálculos. Los dos primeros ejes (el primero relacionado con el contenido en fibra y la digestibilidad *in vitro*, y el segundo con el contenido en MS y ácido láctico) explicaron conjuntamente el 57% de la varianza total de la muestra para los 12 parámetros citados, correspondiendo al primer eje el 37% de la varianza total. En la Figura 5.2.1 se muestra el círculo de correlaciones de los parámetros con los dos primeros ejes, siendo incluidos los valores de digestibilidad *in vivo* como variables suplementarias. Se incluye también los correspondientes valores de la digestibilidad *in vitro* con celulasas (DoNDC y DoPC), no utilizados en el análisis de componentes principales debido a que fueron determinados en 169 y 64 muestras únicamente. Como puede observarse, se advierte la asociación de los valores correspondientes al contenido en pared celular, a excepción de la concentración de LAD, estando inversamente relacionados con la digestibilidad *in vitro* y el contenido en PB. Los valores de digestibilidad *in vivo* están muy próximos a estos valores, y situados en la dirección opuesta a la línea que une los valores de fibra con los de DoTT, lo que sugiere su utilidad como predictores de la digestibilidad *in vivo*, al contrario de lo que sucede para el contenido en EB, más relacionada con el contenido en MS, pH y MO que con los anteriores parámetros. El contenido en ácido láctico, por otra parte, está inversamente relacionado con el contenido en MS y pH.

Mientras que el factor 1 consigue explicar el 60% de la varianza de DMO, la aportación del factor 2 a este respecto es despreciable. La combinación de los 12 ejes permitió explicar el 89% de la varianza total de DMO, quedando sin explicar por las variables empleadas en el análisis el 11% restante. Dardenne *et al.*, (1993) atribuye, además de la

no inclusión en el modelo de otros parámetros que pudieran ser de interés, al error cometido en las determinaciones de la digestibilidad *in vivo* como causa probable de la variabilidad no explicada.

Figura 5.2.1.- Círculo de correlaciones de los valores de digestibilidad *in vivo*, digestibilidad *in vitro* y parámetros de composición química de ensilajes de hierba con los dos primeros ejes del análisis de componentes principales



De las 171 muestras de ensilaje de hierba, el análisis de componentes principales indicó que 20 de ellas tenían una distancia generalizada (dx) mayor de 4. Dichas muestras se correspondían, en general, a ensilajes con contenidos en cenizas anormalmente bajos o elevados (<10% y >13% MS, respectivamente). Examinadas las características de dichas muestras se decidió no excluir a ninguna de ellas del estudio, ya que correspondían a cortes de hierba muy madura o a hierba cosechada precozmente por corte directo, representativas de diferentes tipos de manejo en la práctica de las explotaciones.

5.2.1.3.- Valores medios de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y composición química de las muestras

Los valores medios de los coeficientes de digestibilidad aparente determinada *in vivo* (%) para la colección de ensilajes de hierba fueron de 64.8 ± 6.7 para DMS, 67.8 ± 6.7 para DMO y 65.7 ± 6.5 para DE (Tabla 5.2.2). Dichos valores variaron ampliamente, en un

rango de 46.1 a 77.3%; 48.5 a 81.0% y 44.3 a 78.9% para la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica y energía bruta, respectivamente. El coeficiente de variación (%) fue semejante para los tres valores, oscilando entre 10.4 para DMS y 9.9 para DMO y DE, respectivamente. La diferencia de 3 unidades porcentuales entre los valores de DMS y DMO de la colección puede explicarse por el relativamente elevado contenido en cenizas de los ensilajes, particularmente en el caso de los realizados con cosechadoras de corte directo para los cuales la diferencia entre dichos valores fue de 5 unidades, con un contenido medio en cenizas del 13.5% MS. La precisión de la determinación de la DMO *in vivo* para el conjunto de las evaluaciones fue de 2.19 unidades porcentuales. Los valores medios de los coeficientes utilizados en la corrección de la digestibilidad *in vivo* por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa fueron de 1.049 ± 0.019 ; 1.055 ± 0.022 y 1.053 ± 0.022 , para FC_{MS} , FC_{MO} y FC_{EB} , respectivamente.

Tabla 5.2.2. Coeficientes de digestibilidad *in vivo* de la colección de ensilajes de hierba

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
DMS (%)	197	64.82	6.77	77.39	46.10	10.44
DMO (%)	197	67.85	6.78	81.08	48.58	9.99
DE (%)	192	65.78	6.56	78.94	44.38	9.98

DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta

n: número de muestras; s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Tabla 5.2.3 se presentan los resultados de los principales análisis de laboratorio realizados en las 197 muestras de ensilaje de hierba. En el Anexo 1 a este capítulo se presenta la serie completa de análisis para cada una de las muestras de la colección. Salvo para el contenido en MS, que se presenta corregido y no corregido por pérdidas de volátiles durante el secado, los valores de los restantes parámetros se expresan sobre materia seca en estufa. La corrección del contenido en materia orgánica (MO), energía bruta (EB) y el resto de los parámetros de composición química (X) para expresarlos sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles se realizaría como sigue:

$MOc = MO \times (FC_{MO}/FC_{MS})$; $EBc = EB \times (FC_{EB}/FC_{MS})$ y $Xc = X/FC_{MS}$, tomando como valores de FC_{MS} , FC_{MO} y FC_{EB} 1.049, 1.053 y 1.055, respectivamente.

Los contenidos medios (y el rango de variación) fueron, MS(%) 22.8 (13.2 a 76.0), MSc(%) 23.8 (14.0 a 76.4), EB (MJ kg⁻¹ MS) 18.34 (13.9 a 21.7), MO (%MS) 88.6 (68.3 a 93.5), FND (%MS) 54.4 (34.3 a 69.9), FAD (%MS) 37.0 (23.9 a 51.7), FB (%MS) 28.8 (18.6 a 41.1), CEL (%MS) 27.8 (14.0 a 39.6), LAD (%MS) 6.2 (2.0 a 14.5) y PB (%MS) 13.0 (6.0 a 24.4). El cuanto a los parámetros fermentativos, se obtuvieron los siguientes valores medios (y rango de variación): pH 4.30 (3.45 a 6.20), ácido láctico (%MS) 5.69 (0.1 a 17.2), ácido acético 2.15 (0.08 a 7.5) y N-amoniacal (% N total) 9.82 (1.39 a 29.1).

Dado que el contenido en FAD está expresado con cenizas, puede ser de interés para comparar estos resultados con los obtenidos con otros trabajos el indicar la relación entre este valor de FAD y el expresado libre de cenizas (FAD_s). A partir de los resultados obtenidos en 139 muestras, donde el contenido en FAD se determinó libre de cenizas y con cenizas, se obtuvo la siguiente relación:

$$FAD_s = 7.081 \text{ (s.e. } 0.6^{***}) + FAD \times 0.899 \text{ (s.e. } 0.01^{***}) - CZ \times 0.568 \text{ (s.e. } 0.02^{***})$$

$$(R^2=0.95, RSD=\pm 0.94, c.v.=2.85\%, p<0.0001)$$

donde FAD_s y FAD (rango 23.8 a 51.2) son los contenidos en fibra ácido detergente (%MS) libre de cenizas y con cenizas, respectivamente, y CZ (%MS, rango 6.3 a 31.3) el contenido en cenizas de la muestra.

Para las 197 muestras de la colección, el valor medio de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica determinada con inóculo ruminal (DoTT: 67.5%) fue muy semejante al correspondiente valor *in vivo* (DMO: 67.8%), mientras que los valores obtenidos por la técnica de solubilidad enzimática tendieron a subestimar el correspondiente valor de digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*. Considerando las 169 muestras en las que se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa (DoNDC), los valores de DMO, DoTT y DoNDC fueron, respectivamente, de 67.8, 67.5 y 59.5%, mientras que para las 64 muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática por el método Pepsina-Celulasa (DoPC), los valores medios fueron de 67.3, 67.8, 57.0 y 61.4 para DMO, DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente. El coeficiente de variación de DoTT, del orden del 10% fue asimismo comparable al de DMO, en tanto que el de DoNDC (13.4 y 15.3% para los grupos de 169 y 64 muestras) y DoPC (17.4%) fueron superiores. Estos resultados concuerdan con los referidos por otros autores (De Boever *et al.*, 1999 y Givens *et al.*, 1989) en cuanto a la superior variabilidad de las

determinaciones de digestibilidad por los métodos que emplean celulasas comparados con el método Tilley-Terry. En la Figura 5.2.2 se muestra gráficamente la relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vivo* e *in vitro*.

La utilización de estándares en cada tanda de digestibilidad *in vitro* permitió evaluar la magnitud de las diferencias entre duplicados y entre tandas para cada método. La media de las diferencias, en valor absoluto, entre duplicados de una misma tanda fue de 0.83 (± 0.7), 0.66 (± 0.3) y 0.71 (± 0.5) unidades (%) para los métodos de digestibilidad con líquido ruminal, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente. Para la media de los valores de digestibilidad *in vitro* de los estándares en las sucesivas tandas se obtuvieron coeficientes de variación de 3.64, 2.00 y 2.72 %, respectivamente, para DoTT, DoNDC y DoPC.

Figura 5.2.2. Relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica de ensilajes de hierba determinada *in vivo* y por técnicas *in vitro* (celulasas y líquido ruminal)

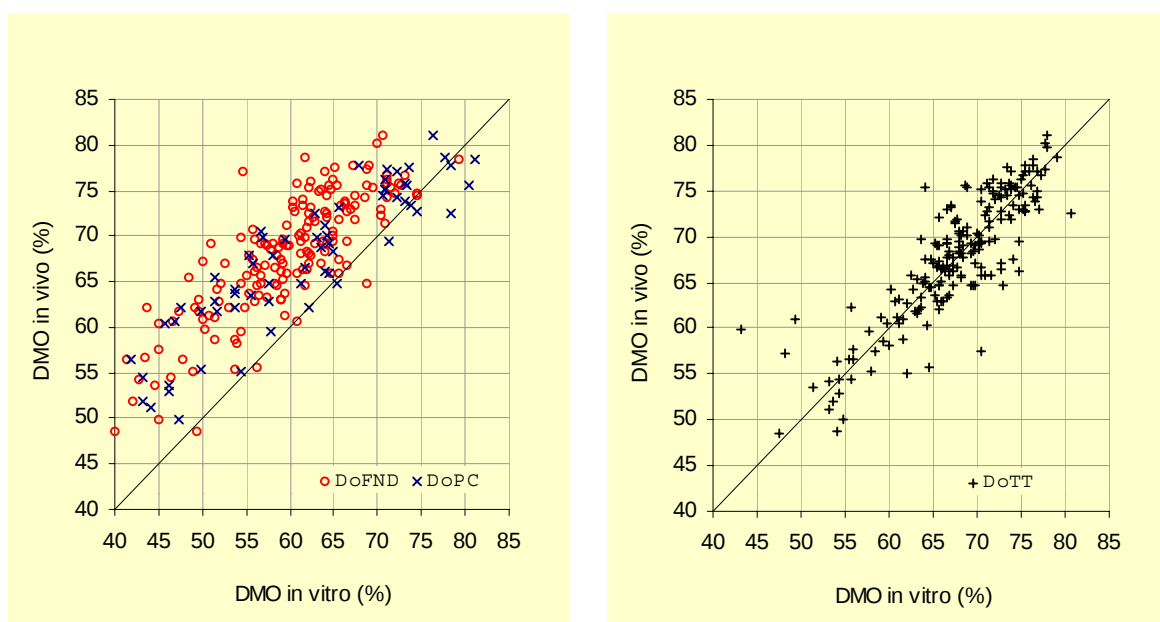


Tabla 5.2.3. Análisis de laboratorio de las muestras de ensilajes de hierba

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
<i>Digestibilidad in vitro de la materia orgánica (%)</i>						
DoTT (método Tilley-Terry)	197	67.59	6.74	80.74	43.20	9.97
DoNDC (método FND-Celulasa)	169	59.52	7.97	79.18	38.26	13.39
DoPC (método Pepsina-Celulasa)	64	61.49	10.74	81.12	41.72	17.47
<i>Contenido en Materia Seca</i>						
Materia Seca (MS, %)	197	22.82	9.11	76.00	13.29	39.93
Materia Seca corregida ¹ (MS _c , %)	197	23.83	9.12	76.48	14.08	38.26
<i>Análisis químicos²</i>						
Energía Bruta (EB, MJ/kg MS)	192	18.34	1.05	21.74	13.94	5.73
Cenizas (CZ, %MS)	197	11.56	3.34	31.65	6.43	28.90
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	197	54.44	6.78	69.94	34.34	12.45
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	197	37.08	4.86	51.78	23.93	13.10
Fibra Bruta de Weende (FB, %MS)	197	28.82	3.85	41.10	18.62	13.36
Celulosa (CEL, %MS)	197	27.83	4.49	39.61	14.00	16.14
Lignina-sulfúrico (LAD, %MS)	197	6.29	2.38	14.50	2.00	37.80
Proteína Bruta (PB, %MS)	197	13.08	3.32	24.46	6.02	25.38
pH	197	4.30	0.48	6.20	3.45	11.15
Acido Láctico (%MS)	173	5.69	3.15	17.28	0.10	55.38
Acido Acético (%MS)	173	2.15	1.21	7.50	0.08	56.44
N-NH ₃ (% N total)	173	9.82	5.04	29.16	1.39	51.35

¹ MS_c: materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

² Expresados sobre materia seca no corregida por las pérdidas de volátiles en estufa.

s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación; n: número de muestras

5.2.1.4.- Correlaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* con las determinaciones *in vitro* y parámetros químicos

En la Tabla 5.2.4a se expone la matriz de correlaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica y energía bruta y los diferentes parámetros analíticos estudiados para el conjunto de la colección de muestras. Al margen de la elevada asociación entre los valores de DMS, DMO y DE (valor del coeficiente de correlación r entre 0.92 y 0.95, $p < 0.001$), fueron observadas correlaciones significativas ($p < 0.0001$) entre DMO y los valores de digestibilidad *in vitro*, componentes de la pared celular y proteína bruta. El poder predictivo de los diversos parámetros analíticos para la estimación de DMO de los ensilajes de hierba, en función del valor absoluto del coeficiente de correlación r fue superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal DoTT (0.86) y la solubilidad enzimática DoNDC (0.83), comparados con el correspondiente a los parámetros químicos simples FND (-0.66), PB (0.67), FB (-0.57), FAD (-0.54), LAD (-0.37) y CEL (-0.36).

Tabla 5.2.4a. Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca y de la materia orgánica determinada *in vivo*, la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vitro* con inóculo ruminal y celulasas (método FND-Celulasa) y diversos parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de hierba

		DMS	DMO	DoTT	DoNCD	FND	FAD	FB	CEL	LAD	PB	EB
DE	r	0.92	0.95	0.83	0.81	-0.63	-0.55	-0.58	-0.35	-0.40	0.64	0.21
	P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0031
DMS	r		0.94	0.84	0.76	-0.55	-0.66	-0.48	-0.31	-0.42	0.63	0.24
	P		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0009
DMO	r			0.86	0.83	-0.66	-0.54	-0.57	-0.36	-0.37	0.67	0.07
	P			<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
DoTT	r				0.79	-0.69	-0.68	-0.62	-0.47	-0.42	0.58	0.05
	P				<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
DoNDC	r					-0.80	-0.58	-0.65	-0.51	-0.31	0.68	-0.11
	P					<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
FND	r						0.63	0.71	0.73	0.17	-0.66	0.25
	P						<.0001	<.0001	<.0001	0.0203	<.0001	0.0005
FAD	r							0.59	0.64	0.43	-0.52	-0.24
	P							<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.001
FB	r								0.75	0.04	-0.41	0.05
	P								<.0001	0.5831	<.0001	n.s.
CEL	r									-0.29	-0.43	0.10
	P									<.0001	<.0001	n.s.
LAD	r										-0.23	-0.15
	P										0.001	0.043
PB	r											0.06
	P											n.s.
	n	197	197	197	169	197	197	197	197	197	197	192

Tabla 5.2.4b. Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca y de la materia orgánica determinada *in vivo* con la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vitro* con inóculo ruminal y celulasas (métodos FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa) y diversos parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de hierba

		DoTT	DoNCD	DoPC	FND	FAD	FB	CEL	LAD	PB	EB
DE	r	0.89	0.86	0.88	-0.68	-0.66	-0.54	-0.45	-0.56	0.68	0.26
	P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.041
DMS	r	0.91	0.84	0.89	-0.62	-0.74	-0.48	-0.42	-0.57	0.63	0.22
	P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
DMO	r	0.91	0.89	0.89	-0.71	-0.66	-0.54	-0.47	-0.50	0.68	0.11
	P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.
	n	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64

DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta; DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con inóculo ruminal (método Tilley-Terry); DoNCD: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método FND-Celulasa); DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (método Pepsina-Celulasa); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg⁻¹ MS)

r: coeficiente de correlación

p: significación

n: número de muestras

Se destaca que, de entre los componentes de la pared celular, el contenido en FND fue el que mostró una mayor asociación con DMO, de magnitud comparable a la observada para el contenido en PB.

Para las 169 muestras de las que se disponía del dato de fecha de cosecha de la hierba, fue observada una asociación negativa entre el valor de esta variable (en días desde el 1 de abril de cada año) y DMO, más elevada para las muestras de primer corte, con valores del coeficiente de correlación r de -0.64 ($p < 0.0001$), -0.47 ($p = 0.010$) y -0.56 ($p < 0.0001$) para los ensilajes de primer y segundo aprovechamiento y el total de las muestras, respectivamente.

Cuando consideramos únicamente el subconjunto de 169 muestras con valores de DoNDC conocido, el orden de los anteriores parámetros en cuanto a poder predictivo se mantiene según lo anteriormente expuesto. Lo mismo sucede cuando se examina la matriz de correlaciones restringida a las 64 muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa (Tabla 5.2.4b), obteniéndose una elevada asociación entre los valores de DMO y la digestibilidad *in vitro* obtenida por cualquiera de tres métodos, que sin embargo fue ligeramente superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (valores de valores de r de 0.91, 0.89 y 0.89 para DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente, $p < 0.0001$).

Por otra parte, el contenido en EB mostró una correlación prácticamente nula con los valores de DMO y baja (aunque significativa) con DE y DMS. La concentración de cenizas en la materia seca de las muestras fue el parámetro que mostró una mayor correlación con EB ($r = -0.56$, $p < 0.0001$), mientras que cuando el contenido en energía bruta se expresa sobre materia orgánica (EBo) se advirtió una significativa correlación positiva de dicho valor con el contenido en PB y pH y negativa con el contenido en MS. Aunque a tenor de los resultados expuestos el valor de EB parece ser de poca utilidad para la estimación de DMO de ensilajes de hierba, el cálculo de la concentración en energía metabolizable o energía neta de un ensilaje requiere el conocimiento de este parámetro. Dado que en la muestra estaban representados ensilajes realizados por corte directo, los cuales con relativa frecuencia pueden presentar contaminación por tierra, se

obtuvieron ecuaciones de regresión para los valores de EB y EBo, cuya relación con los mejores predictores se describe como sigue:

$$EB = 20.42 \text{ (s.e. } 0.22^{***}) - CZ \times 0.180 \text{ (s.e. } 0.01^{***})$$

$$p < 0.0001, R^2 = 0.32, RSD = \pm 0.86, \text{ c.v.} = 4.75, n = 192$$

$$EBo = 17.18 \text{ (s.e. } 0.67^{***}) + PB \times 0.094 \text{ (s.e. } 0.01^{***}) - MS \times 0.039 \text{ (s.e. } 0.08^{***}) +$$

$$+ pH \times 0.749 \text{ (s.e. } 0.179^{***})$$

$$p < 0.0001, R^2 = 0.26, RSD = \pm 0.83, \text{ c.v.} = 3.99, n = 192,$$

donde EB está expresado en MJ kg⁻¹ MS (valor medio 18.34), EBo se expresa en MJ kg⁻¹ MO (valor medio 20.76), MS en % y los contenidos en CZ y PB en %MS.

5.2.1.5.- Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía

Aunque el objetivo del presente trabajo era evaluar la capacidad predictiva de las determinaciones *in vitro* y parámetros químicos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba, es de interés obtener ecuaciones de paso entre los valores de DMO, DMS y DE, cuyos resultados se muestran en la Tabla 5.2.5.

Tabla 5.2.5. Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de hierba.

Ecuación de predicción	Media	n	Calibración		Validación cruzada	
			R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
DMS (%) = 0.955 DMO s.e.: ±0.002 ^{***}	64.82	197	(1)	2.32	0.88 ^{***}	2.34
DMS (%) = 3.42 + 1.000 DMO - 0.564 CZ s.e.: ±1.0 ^{**} ±0.01 ^{***} ±0.03 ^{***}	64.82	197	0.96 ^{***}	1.44	0.95 ^{***}	1.43
DE (%) = 3.15 + 0.921 DMO s.e.: ±1.4 [*] ±0.02 ^{**}	65.78	192	0.91 ^{***}	1.96	0.90 ^{***}	1.97
DE (%) = - 88.15 + 1.996 DMO + 5.067 EB - 0.0598 DMOxEB s.e.: ±21.4 ^{***} ±0.3 ^{***} ±1.1 ^{***} ±0.01 ^{***}	65.78	192	0.94 ^{***}	1.65	0.93 ^{***}	1.69

p: significación del modelo (*** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: no significativo p>0.05)

(1) recta forzada a pasar por el origen de coordenadas

s.e.: error estándar del parámetro estimado

La digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* explicó el 88% de la varianza de DMS, mientras que la inclusión del contenido en cenizas en el modelo permitió alcanzar el 96% de la varianza explicada, con un error mínimo de predicción (RSD) de 1.44 y 1.43 unidades (%) en calibración y validación cruzada, respectivamente, para este último. Por su parte, la DMO explicó el 91% de variabilidad de la digestibilidad *in vivo* de la energía, porcentaje que se incrementó hasta el 94% cuando se incluía el contenido en energía bruta de las muestras en el modelo. El valor de RSD de calibración y validación cruzada fue, en este último caso, de 1.65 y 1.69 unidades (%), respectivamente.

5.2.1.6.- Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*

La Tabla 5.2.6 muestra los estadísticos de regresión para los diferentes modelos que incluyen digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores, ordenados dentro de cada grupo en orden creciente del porcentaje de varianza explicada por el modelo en la validación cruzada (R^2_{cv}), incluyéndose la varianza explicada en calibración (R^2_c) y los errores mínimos de predicción en ambos procesos (RSD_{cv} y RSD_c , respectivamente).

Los dos mejores modelos de una sola variable incluían a DoTT y DoFND, por este orden, como predictores. Únicamente la inclusión del contenido en PB y FAD como variables independientes adicionales en el primer modelo, o PB en el segundo, contribuía significativamente a incrementar la varianza explicada de DMO. Considerando el conjunto de las 197 muestras de ensilaje de hierba, la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal permitió explicar el 73% de la varianza de DMO cuando se incluía como único predictor, mientras que llegaba a explicar el 79% en modelos multivariantes que incluían DoTT, PB y FAD, con valores de RSD_{cv} de ± 3.5 y ± 3.2 unidades (%), respectivamente. El menor poder predictivo de la solubilidad enzimática por el método FND-Celulasa comparada con la incubación con líquido ruminal es puesto de manifiesto por el hecho de que el porcentaje de varianza explicada por el modelo con DoNDC como única variable en validación cruzada es del 68%, ascendiendo al 70% cuando se incluía PB en el

modelo, con errores mínimos de predicción (RSD_{cv}) de ± 4.0 y ± 3.9 unidades, respectivamente.

Tabla 5.2.6. Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba

Ecuación de predicción	DMO in vivo %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
a) Modelos que incluyen digestibilidad in vitro como predictor						
Conjunto de muestras con DoTT, DoNDC y DoPC conocidas						
DMO= 21.67 + 0.798 DoNDC s.e. ±3.0*** ±0.05***	67.25	64	0.79***	3.60	0.77***	3.70
DMO= 27.08 + 0.654 DoPC s.e. ±2.5*** ±0.04***	67.25	64	0.80***	3.50	0.79***	3.57
DMO= 0.997 DoTT s.e. ±0.05***	67.25	64	(1)	3.24	0.82***	3.28
Conjunto de muestras con DoTT ó DoNDC conocidas						
DMO= 25.34 + 0.713 DoNDC s.e. ±2.1*** ±0.03***	67.83	169	0.69***	3.78	0.68***	3.81
DMO= 26.73 + 0.608 DoNDC + 0.371 PB s.e. ±2.1*** ±0.04*** ±0.11***	67.83	169	0.71***	3.67	0.70***	3.71
DMO= 9.39 + 0.864 DoTT s.e. ±2.5*** ±0.03***	67.85	197	0.73***	3.47	0.72***	3.55
DMO= 12.63 + 0.716 DoTT + 0.521 PB s.e. ±2.3*** ±0.04*** ±0.08***	67.85	197	0.78***	3.18	0.77***	3.24
DMO= 7.30 + 0.685 DoTT + 0.576 PB + 0.00270 DoTTxFAD s.e. ±2.9*** ±0.04*** ±0.08*** ±0.0009**	67.85	197	0.79***	3.10	0.78***	3.22
b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores						
DMO= 95.99 – 0.758 FAD s.e. ±3.1*** ±0.08***	67.85	197	0.29***	5.70	0.28***	5.74
DMO= 96.83 – 1.006 FB s.e. ±3.0*** ±0.10***	67.85	197	0.32***	5.60	0.30***	5.65
DMO= 104.0 – 0.664 FND s.e. ±2.9*** ±0.05***	67.85	197	0.44***	5.08	0.43***	5.12
DMO= 50.02 + 1.363 PB s.e. ±1.4*** ±0.10***	67.85	197	0.44***	5.06	0.43***	5.10
DMO= 80.23 – 0.748 FAD + 0.0322 FADxPB s.e. ±3.0*** ±0.06*** ±0.003***	67.85	197	0.52***	4.71	0.50***	4.75
DMO= 111.84 – 1.026 FND – 1.724 PB + 0.0494 FNDxPB s.e. ±9.3*** ±0.16*** ±0.63*** ±0.01**	67.85	197	0.57***	4.46	0.55***	4.50
DMO=83.63 – 0.392 FND + 0.731 PB – 0.628 LAD s.e. ±4.76** ±0.06*** ±0.12*** ±0.13***	67.85	197	0.58***	4.42	0.56***	4.47
DMO= 109.05 – 1.909 FB – 1.750 PB + 0.0981 FBxPB s.e. ±9.2*** ±0.30*** ±0.66*** ±0.022***	67.85	197	0.59***	4.38	0.57***	4.45
DMO= 113.19 – 0.960 FND –1.566 PB – 0.578 LAD + 0.0445 FNDxPB s.e. ±8.9*** ±0.15*** ±0.60*** ±0.13*** ±0.01***	67.85	197	0.63***	4.27	0.59***	4.32

Significación del modelo: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; n.s.: no significativo ($p > 0.05$)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R^2 : coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

La comparación de la capacidad predictiva de los dos métodos de solubilidad enzimática con el Tilley-Terry, realizado en un grupo de 64 muestras, mostró nuevamente la superioridad de este último, siendo obtenidos valores de R^2_{cv} de 0.82, 0.79 y 0.77, y de RSD_{cv} de ± 3.2 , ± 3.5 y ± 3.7 unidades (%) para DoTT, DoPC y DoNDC, respectivamente. Para el modelo que relacionaba DMO con DoTT en este reducido grupo de muestras, el intercepto no fue significativamente diferente de cero, mientras que el coeficiente de regresión de la variable independiente no fue significativamente diferente de la unidad, mientras que para el conjunto de la colección dicho modelo incluía un intercepto significativamente diferente de cero (9.3 ± 2.5) y un coeficiente de regresión para DoTT (0.864 ± 0.03) significativamente diferente de la unidad. Esto puede explicarse por el hecho de que la selección del grupo de muestras en las que se determinó la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa se realizó procurando incluir muestras que representasen todo el rango de digestibilidad *in vivo* de la colección, aproximadamente en la misma proporción, lo que mejoró los estadísticos de los modelos de regresión respecto a los obtenidos para el total de muestras.

Todos los modelos que contienen únicamente parámetros químicos como predictores presentaron menores porcentajes de varianza explicada y errores mínimos de predicción más elevados que cualquiera de los modelos que incluían valores de digestibilidad *in vitro* (DoTT o DoNDC) como predictor, poniendo de manifiesto la superioridad de los métodos biológicos frente a los basados en parámetros químicos como predictores de DMO de ensilajes de hierba. El mejor modelo multivariable de este tipo, que incluía FND, PB y LAD permitió explicar el 59% de la varianza de DMO en validación cruzada, con un error de predicción de ± 4.3 unidades. Los valores de RSD_{cv} de los modelos de una sola variable de este grupo fueron de ± 5.1 para PB y FND, de ± 5.6 para FB y ± 5.7 para FAD.

En la Tabla 5.2.7 se reflejan los resultados del análisis de covarianza realizado para estudiar el efecto de determinadas variables de clase en los mejores modelos predictivos de cada grupo. La realización del presecado, el tipo de cosechadora y el uso de aditivo no afectaron ($p > 0.05$) a ninguno de los parámetros de los modelos seleccionados. Tampoco se observó efecto de la especie gramínea (raigrás italiano comparado con raigrás inglés) cuando el análisis de covarianza se realizó sobre las muestras de estas dos especies. Cuando se agruparon las muestras en los tipos Gramíneas, Gramíneas + Leguminosas y

Mezclas, fue observado un efecto significativo ($p < 0.05$) del número de corte y del tipo de pasto sobre el intercepto pero no sobre la pendiente ($p > 0.05$) de regresiones basadas en digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores. Dependiendo del modelo, la estimación de digestibilidad *in vivo* de los primeros cortes es superior en 1.1 a 1.8 puntos a la de los segundos cortes a igualdad de valores de las variables independientes. De la misma forma, la estimación de DMO para los ensilajes de hierba de gramíneas y trébol superó en 1.1 puntos a la de los ensilajes de gramíneas, y en 1.9 a 2.3 puntos a la de los ensilajes realizados con mezclas de distintos tipos de pasto (incluidas praderas naturales). La inclusión en los modelos de estas variables de clase permitió incrementar ligeramente la predicción de las estimaciones.

Tabla 5.2.7. Ecuaciones que incluyen variables de clase número de corte y tipo de pasto para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba

Ecuación de predicción	Δ_1 (nº Corte) ¹		Δ_2 (Tipo pasto) ¹			Calibración		Validación	
	1º	2ª	Gramíneas	Gram + trébol	Mezclas ¹	R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
DMO= (6.75 + Δ_1 + Δ_2) + 0.685 DoTT + 0.620 PB + 0.00171 DoTTx FAD	1.12	0	1.04	2.27	0	0.80***	3.05	0.77***	3.21
DMO= (12.29 + Δ_1) + 0.691 DoTT + 0.598 PB	1.54	0	-	-	-	0.78***	3.16	0.76***	3.32
DMO= (25.95 + Δ_1) + 0.582 DoNDC + 0.444 PB	1.89	0	-	-	-	0.72***	3.58	0.69***	3.67
DMO= (79.99 + Δ_1 + Δ_2) - 0.415 FND + 0.820 PB - 0.486 LAD	2.07	0	1.99	2.95	0	0.62***	4.31	0.60***	4.43
DMO= (77.02 + Δ_1) - 0.418 FND + 0.889 PB	2.84	0	-	-	-	0.58***	4.37	0.59***	4.54
DMO= (104.37 + Δ_1) - 0.698 FND	2.24	0	-	-	-	0.48***	4.88	0.46***	5.15

Significación del modelo: *** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05

¹ Intercepto diferente (p<0.05)

² Mezclas de distintos tipos de pasto en el mismo silo. Incluyen praderas naturales

s.e.: error estándar del parámetro estimado

R²: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

5.2.2. Ensilajes de maíz

5.2.2.1.- Características de las muestras de la colección

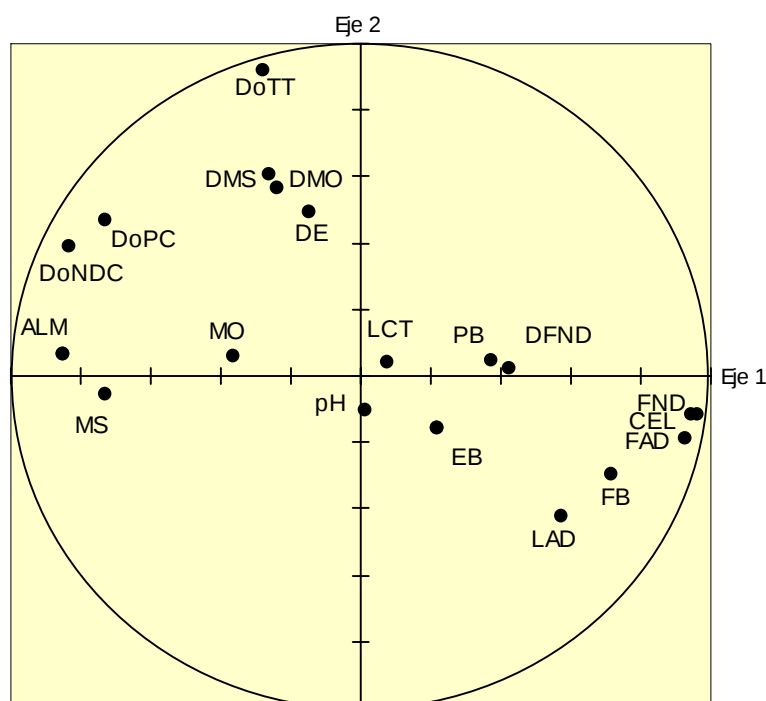
De las 93 muestras de ensilaje de planta entera de maíz evaluadas *in vivo* en el CIAM a lo largo de los años 1997 a 2003, 46 de ellas procedían de diferentes explotaciones ganaderas y el resto de diferentes experimentos realizados en el CIAM. La fecha media de siembra del cultivo fue el 17 de Mayo (± 11.9 días) con un período medio de crecimiento de 130 (± 18.3) días, recolectándose los ensilajes de explotaciones ganaderas entre el 15 de septiembre y el 15 de octubre, mientras que los producidos experimentalmente lo fueron entre la segunda semana de agosto y mediados de octubre. Si bien en la colección están incluidas muestras de ensilaje de plantas de maíz cosechadas en estado inmaduro, la mayor parte de aquellas corresponden a plantas que completaron su ciclo normal de cultivo. Todas las muestras fueron cosechadas con máquina picadora de precisión, siendo ensiladas en su mayor parte en silos de obra de fábrica de 150-300 m³ de capacidad. Como se comentó anteriormente, en la colección están representados 30 genotipos diferentes, pertenecientes a los ciclos FAO 200, 300 y 400, a los que corresponden el 46.7, 41.9 y 11.4% de las muestras, respectivamente.

5.2.2.2.- Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales, para las 93 muestras de la colección, se realizó sobre 15 posibles predictores de DMO, incluyendo los valores de digestibilidad *in vitro* (DoTT, DoNDC, DoPC), y los contenidos en MS, MO, PB, FND, FAD, CEL, LAD, FB, Almidón, ácido láctico y EB, así como el valor del pH, generándose en consecuencia 15 factores o ejes como combinación lineal de dichas variables. Los parámetros con más peso (correlación) en el primer eje, que explicó el 57.8% de la variabilidad total, fueron FND, CEL, FAD y FB y, con signo opuesto, MS y Almidón, mostrando que dicho eje está relacionado fundamentalmente con la madurez de la planta. El segundo eje, que contribuyó a explicar un 11.8% de la varianza total, tenía al valor DoTT como el parámetro con mayor peso. DoFND y DoPC, por su parte, mostraron una superior correlación con el primer eje. El tercer factor, donde el contenido en proteína bruta era el parámetro de mayor peso, aportó un 8.2 de varianza adicional.

En la Figura 5.2.3 se muestra el círculo de correlaciones de los parámetros con los dos primeros ejes, donde se han añadido los valores correspondientes a los coeficientes de digestibilidad *in vivo* como variables suplementarias.

Figura 5.2.3. Círculo de correlaciones de los valores de digestibilidad *in vivo*, digestibilidad *in vitro* y parámetros de composición química de ensilajes de planta entera de maíz con los dos primeros ejes del análisis de componentes principales



La disposición de las variables relacionadas con el contenido en pared celular, por un lado, y los contenidos en materia seca y almidón, por otro, señalan la relación negativa existente entre el avance de la madurez y el contenido en fibra de la planta de maíz. Como puede observarse, los valores de digestibilidad *in vivo* DMS, DMO y DE forman un grupo poco relacionado con el primer eje, sugiriendo una mayor asociación con DoTT que con los valores de solubilidad enzimática. La ubicación del valor de la digestibilidad *in vivo* de la pared celular (DFND), por otra parte, parece evidenciar una débil asociación con los restantes valores de digestibilidad *in vivo* y con el contenido en pared celular, mostrando una mayor relación (positiva) con el contenido en PB y negativa con el contenido en MS y almidón. De entre los valores situados en el cuadrante opuesto a donde se sitúa la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica, únicamente el contenido en LAD está próximo al otro extremo de la línea que une DMO con el origen de coordenadas, si bien el

contenido en lignina parece tener una asociación negativa más elevada con los valores de solubilidad enzimática de la materia orgánica DoNDC y DoPC.

Mientras que el primer eje sólo explicó el 4.5% de la varianza de DMO, la contribución del segundo, a este respecto, fue del 34.5%. La baja aportación del primer eje pone de manifiesto el escaso efecto de la madurez en la variabilidad de la DMO del ensilaje de la planta entera de maíz. Considerando conjuntamente los 15 factores generados, únicamente se llegó a explicar el 69.6% de dicha variabilidad.

De las 94 muestras, 17 de ellas mostraron una distancia generalizada mayor que 4. Examinadas las características de dichas muestras se comprobó que la mayor parte de las mismas eran ensilajes procedentes de plantas que habían sido cosechadas en un estadio precoz, con bajos contenidos de almidón y materia. Sin embargo, se decidió mantener a todas las muestras para los posteriores análisis, salvo a dos de ellas, procedentes de silos experimentales que habían sufrido el deterioro de la cubierta.

5.2.2.3.- Valores medios de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* y análisis químico de las muestras

Para las 91 muestras restantes, como se muestra en la Tabla 5.2.8, los valores medios del coeficiente de digestibilidad *in vivo* (%) fue de 67.0 ± 3.5 para DMS, 68.6 ± 3.2 para DMO, 66.5 ± 3.2 para DE y 50.7 ± 8.10 para DFND. Dichos valores variaron en un rango de 56.4 a 75.6%; 59.1 a 76.8%; 55.8 a 73.9% y 32.7 a 67.6% para DMS, DMO, DE y DFND, respectivamente. El coeficiente de variación para los valores de digestibilidad de los tres primeros parámetros osciló entre 4.7 y 5.3%, siendo notablemente más elevado para la digestibilidad de la pared celular, que alcanzó el 15.9%. La precisión de la determinación de la DMO *in vivo* para el conjunto de las evaluaciones fue de 2,14 unidades porcentuales, un valor semejante al obtenido para la colección de ensilajes de hierba tal y como se refiere en el apartado correspondiente de este trabajo. Los valores medios de los coeficientes utilizados en la corrección de la digestibilidad *in vivo* por las pérdidas de volátiles durante el secado en estufa fueron de 1.024 ± 0.010 ; 1.025 ± 0.011 y 1.031 ± 0.018 , para FC_{MS} , FC_{MO} y FC_{EB} , respectivamente.

Tabla 5.2.8. Coeficientes de digestibilidad *in vivo* de la colección de ensilajes de planta entera de maíz

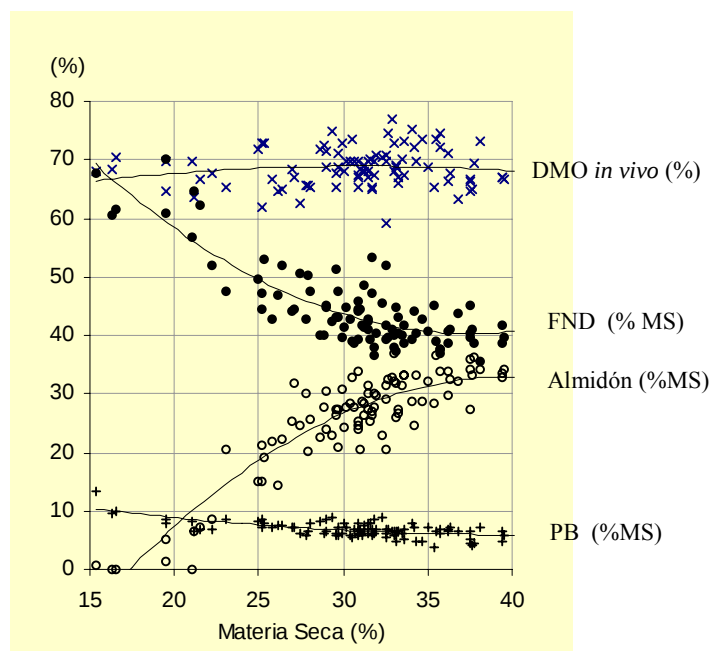
Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
DMS (%)	91	67.02	3.59	75.63	56.46	5.36
DMO (%)	91	68.69	3.29	76.85	59.14	4.79
DE (%)	86	66.54	3.21	73.92	55.86	4.82
DFND (%)	91	50.74	8.10	67.61	32.79	15.96

DMS: digestibilidad *in vivo* de la materia seca; DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica; DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta; DFND: digestibilidad *in vivo* de la pared celular
s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Tabla 5.2.9 se muestran los valores medios, desviación estándar, rango y coeficiente de variación de los diferentes análisis de laboratorio efectuados para el total de la colección de muestras. En el Anexo 2 a este capítulo se presenta la serie completa de análisis disponibles para cada una de las muestras de esta colección. Salvo para el contenido de materia seca, ningún valor está corregido por la pérdida de volátiles en estufa. La corrección del contenido en materia orgánica (MO), energía bruta (EB) y el resto de los parámetros de composición química (X) para expresarlos sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles se realizaría como sigue: $MOc = MO \times (FC_{MO}/FC_{MS})$; $EBc = EB \times (FC_{EB}/FC_{MS})$ y $Xc = X/FC_{MS}$, tomando como valores de FC_{MS} , FC_{MO} y FC_{EB} 1.024, 1.025 y 1.031, respectivamente.

El contenido en materia seca (corregido por pérdida de volátiles durante el secado en estufa) varió entre 16.3 y 45.0% reflejando el diferente estado de madurez de la planta en el momento de la cosecha. Considerando el nivel de MS como un indicador de la madurez de la planta, el aumento de la proporción de grano respecto del total de materia seca de la planta con el avance de la madurez causó un claro incremento ($r = 0.82$, $p < 0.0001$) en el contenido de almidón y un descenso especialmente marcado para FND, FAD, CEL y FB ($r = -0.73$, -0.70 , -0.73 y -0.65 respectivamente, $p < 0.0001$), seguido de PB ($r = -0.58$, $p < 0.0001$), LAD ($r = -0.45$, $p < 0.0001$), CZ ($r = -0.28$, $p = 0.007$) y EB ($r = -0.46$, $p < 0.0001$). La relación entre los contenidos de materia seca, DMO, FND y PB de las muestras de la colección de ensilajes de planta entera de maíz puede ser observado en la Figura 5.2.4.

Figura 5.2.4. Relación entre los contenidos de materia seca, proteína bruta, almidón, pared celular y digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de la colección de muestras de ensilaje de planta entera de maíz.



Los contenidos medios (y el rango de variación) para los diferentes parámetros analíticos fueron: EB (MJ kg^{-1} MS) 18.64 (17.4 a 20.2), MO (%MS) 96.0 (91.4 a 97.0), FND (%MS) 44.1 (35.6 a 64.7), FAD (%MS) 25.3 (19.6 a 36.6), FB (%MS) 22.9 (16.2 a 33.0), CEL (%MS) 22.8 (17.9 a 33.7), LAD (%MS) 2.2 (1.0 a 3.5), PB (%MS) 6.7 (3.8 a 9.9) y Almidón (%MS) 26.2 (0.0 a 37.5). Los valores medios de pH y ácido láctico (%MS) fueron 3.79 y 4.32, con rangos de variación 3.4 a 4.7 y 1.4 a 9.16, respectivamente.

Los valores medios obtenidos para la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vitro* fueron de 74.81, 65.99 y 65.22 para las técnicas de incubación con líquido ruminal (DoTT), FND-Celulasa (DoNDC) y Pepsina-Celulasa (DoPC), respectivamente. A diferencia de lo observado para los ensilajes de hierba, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica determinada con inóculo ruminal tendió a sobreestimar el correspondiente valor *in vivo*, siendo el valor medio de DoTT aproximadamente 6.1 unidades (%) más elevado que el correspondiente valor de DMO. Sin embargo los resultados obtenidos por las dos técnicas de digestibilidad enzimática, al igual que sucedía en el caso de los ensilajes de hierba, subestimaban la digestibilidad de la materia orgánica

in vivo, siendo los valores medios de DoNDC y DoPC, respectivamente, 2.7 y 3.4 puntos inferiores al valor medio de DMO. El coeficiente de variación de los valores DoTT (4.4%) fue inferior a la de los métodos enzimáticos (6.8 y 7.6% para DoNDC y DoPC, respectivamente), lo que concuerda con lo referido anteriormente para ensilajes de hierba.

Tabla 5.2.9. Análisis de laboratorio de las muestras de ensilaje de planta entera de maíz

Determinación	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
<i>Digestibilidad in vitro de la materia orgánica (%)</i>						
DoTT (método Tilley-Terry)	91	74.81	3.32	82.30	66.54	4.44
DoNDC (método FND-Celulasa)	91	65.99	4.55	74.52	55.37	6.89
DoPC (método Pepsina-Celulasa)	91	65.22	5.00	75.20	55.03	7.67
<i>Contenido en Materia Seca</i>						
Materia Seca (MS, %)	91	30.38	5.06	44.35	15.40	16.65
Materia Seca corregida ¹ (MS _c , %)	91	31.07	5.06	45.07	16.30	16.28
<i>Análisis químicos²</i>						
Energía Bruta (EB, MJ/kg MS)	89	18.64	0.47	20.28	17.49	2.53
Cenizas (CZ, %MS)	91	3.92	0.85	8.54	2.91	21.57
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	91	44.14	6.09	64.73	35.69	13.81
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	91	25.32	4.02	36.69	19.67	15.87
Fibra Bruta de Weende (FB, %MS)	91	22.93	3.71	33.05	16.22	16.18
Celulosa (CEL, %MS)	91	22.80	3.60	33.72	17.91	15.80
Lignina-sulfúrico (LAD, %MS)	91	2.29	0.52	3.53	1.02	22.82
Almidón (ALM, %MS)	91	26.21	8.32	37.50	0.00	31.73
Proteína Bruta (PB, %MS)	91	6.71	1.17	9.99	3.89	17.50
pH	91	3.79	0.20	4.70	3.40	5.18
Ácido Láctico (%MS)	91	4.32	1.67	9.16	1.41	38.64

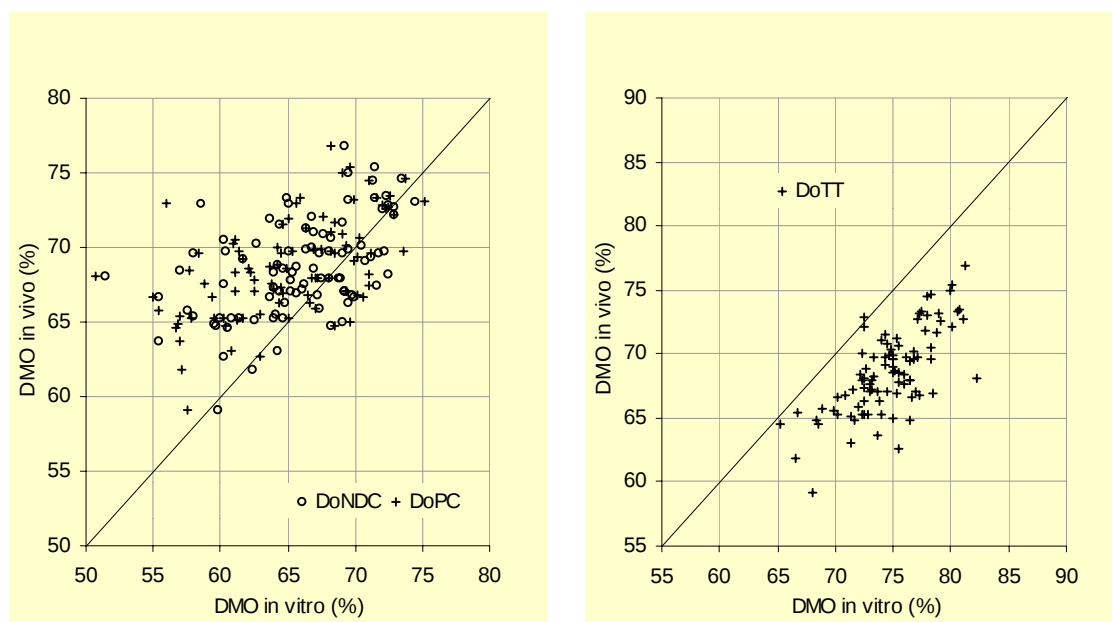
¹ MS_c: materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

² Expresados sobre materia seca no corregida por las pérdidas de volátiles en estufa.

s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

En la Figura 5.2.5 se muestra gráficamente la relación entre los valores de digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vivo* e *in vitro*.

Figura 5.2.5. Relación entre los valores de la digestibilidad de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz determinada *in vivo* y por técnicas *in vitro* (celulasas y líquido ruminal)



DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Tilley-Terry, con líquido ruminal

A partir de los valores observados para las muestras de referencia incluidas en las determinaciones de digestibilidad *in vitro* de las muestras de los ensilajes de maíz se comparó la variabilidad de la digestibilidad entre duplicados dentro de la misma tanda y la existente entre sucesivas tandas. La media de las diferencias, en valor absoluto, entre duplicados de una misma tanda fue de 0.93 (± 0.6), 0.52 (± 0.3) y 0.55 (± 0.4) unidades (%) para los métodos de digestibilidad con líquido ruminal, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente. Para la media de los valores de digestibilidad *in vitro* de las muestras de referencia en las sucesivas tandas se obtuvieron coeficientes de variación de 1.53, 0.62 y 1.38% para DoTT, DoNDC y DoPC, respectivamente. Comparados estos resultados con los valores obtenidos para la colección de ensilajes de hierba, los resultados muestran que las técnicas de solubilidad enzimática fueron más repetibles y reproducibles (atendiendo a la magnitud de la diferencia entre duplicados dentro de cada tanda y a la variabilidad entre tandas) que la que utiliza inóculo ruminal en ambos tipos de muestras, y que la técnica FND-Celulasa fue ligeramente superior, a este respecto, al método Pepsina-Celulasa.

5.2.2.4.- Correlaciones entre los valores de digestibilidad *in vivo* con las determinaciones *in vitro* y parámetros químicos

En la Tabla 5.2.10 se expone la matriz de correlaciones entre la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica, de la energía bruta y de la pared celular y los diferentes parámetros analíticos estudiados para las 91 muestras de la colección. Se observó una alta asociación entre los valores de DMS, DMO y DE, con valores del coeficiente de correlación r de 0.98 entre DMO y DMS, 0.91 entre DMO y DE y 0.89 entre DMS y DE ($p < 0.0001$), mientras que la digestibilidad *in vivo* de la pared celular mostró una débil, aunque significativa, asociación con DMO y DE ($r = 0.28$ y 0.46 , respectivamente), pero no con DMS ($r = 0.19$, $p > 0.05$).

Fueron observadas correlaciones significativas ($p < 0.05$) entre DMO y los valores de digestibilidad *in vitro*, componentes de la pared celular y energía bruta, no siendo significativas para los contenidos en materia seca, almidón y proteína bruta. En general, la magnitud de dicha asociación fue claramente inferior para los ensilajes de maíz en comparación con la observada para la colección de ensilajes de hierba.

La capacidad de los diferentes parámetros estudiados para la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*, medida en función del valor absoluto del coeficiente de correlación, fue superior para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal DoTT ($r = 0.71$, $p < 0.0001$) comparada con la exhibida por el resto de los posibles predictores, seguida por la digestibilidad *in vitro* por el método Pepsina-Celulasa y el contenido en lignina, que mostraron un coeficiente de correlación de igual magnitud en valor absoluto (0.57 , $p < 0.0001$), pero de signo negativo para LAD. Comparada con estos parámetros, la técnica FND-Celulasa mostró, a este respecto, un poder predictivo ligeramente inferior ($r = -0.52$, $p < 0.0001$).

Tabla 5.2.10. Matriz de correlaciones entre la digestibilidad aparente de la energía bruta, de la materia seca, de la materia orgánica y de la pared celular determinada *in vivo*, la digestibilidad de la materia orgánica determinada *in vitro* con inóculo ruminal y celulasas (métodos FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa) y diversos parámetros analíticos de la colección de muestras de ensilajes de maíz

		DMO	DE	DFND	DoTT	DoNDC	DoPC	MS	FND	FAD	LAD	CEL	FB	ALM	PB	EB
DMS	r	0.98	0.89	0.19	0.73	0.56	0.61	0.05	-0.37	-0.42	-0.60	-0.35	-0.46	0.21	0.15	-0.24
	p	<.0001	<.0001	n.s.	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.	0.000	<.0001	<.0001	0.001	<.0001	n.s.	n.s.	0.024
DMO	r		0.91	0.28	0.71	0.52	0.57	0.03	-0.34	-0.39	-0.57	-0.33	-0.45	0.17	0.18	-0.24
	p		<.0001	0.007	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.	0.001	0.000	<.0001	0.002	<.0001	n.s.	n.s.	0.025
DE	r			0.46	0.56	0.30	0.36	-0.09	-0.16	-0.17	-0.40	-0.12	-0.26	0.03	0.36	0.02
	p			<.0001	<.0001	0.004	0.001	n.s.	n.s.	n.s.	0.0001	n.s.	0.016	n.s.	0.0006	n.s.
DFND	r				-0.04	-0.43	-0.45	-0.59	0.48	0.42	0.28	0.42	0.39	-0.53	0.62	0.34
	p				n.s.	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.006	<.0001	0.000	<.0001	<.0001	0.001
DoTT	r					0.64	0.71	0.11	-0.35	-0.45	-0.63	-0.37	-0.51	0.22	-0.01	-0.32
	p					<.0001	<.0001	n.s.	0.001	<.0001	<.0001	0.0001	<.0001	0.039	n.s.	0.003
DoNDC	r						0.95	0.58	-0.89	-0.91	-0.79	-0.87	-0.75	0.72	-0.29	-0.42
	p						<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.005	<.0001
DoPC	r							0.55	-0.78	-0.85	-0.86	-0.79	-0.79	0.64	-0.34	-0.45
	p							<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.001	<.0001
MS	r								-0.73	-0.70	-0.45	-0.73	-0.65	0.82	-0.58	-0.46
	p								<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
FND	r									0.95	0.62	0.95	0.71	-0.87	0.38	0.38
	p									<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	0.0002
FAD	r										0.71	0.99	0.79	-0.83	0.39	0.39
	p										<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0001	0.0002
LAD	r											0.63	0.62	-0.49	0.27	0.47
	p											<.0001	<.0001	<.0001	0.0096	<.0001
CEL	r												0.78	-0.85	0.41	0.39
	p												<.0001	<.0001	<.0001	0.0002
FB	r													-0.76	0.43	0.29
	p													<.0001	<.0001	0.006
ALM	r														-0.58	-0.34
	p														<.0001	0.001
PB	r															0.48
	p															<.0001
	n	91	86	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	89

DMS, DMO, DE y DFND : digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica, de la energía y de la pared celular, respectivamente; DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente); MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg⁻¹ MS); r: coeficiente de correlación; p: significación (n.s.: no significativa, p>0.05); n: número de muestras

Es interesante destacar que los valores de digestibilidad *in vitro* determinados por las dos técnicas de solubilidad enzimática mostraron una asociación muy superior con los componentes de la pared celular que con DMO, observándose un coeficiente de correlación r para la asociación de DoNDC con FND, FAD y LAD de -0.89 , -0.91 y -0.79 , respectivamente, mientras que los correspondientes a DoPC fueron de -0.78 , -0.85 y -0.86 con FND, FAD y LAD, respectivamente ($p < 0.0001$). A este respecto, la correlación entre DoTT y estos parámetros fue sensiblemente inferior, con valores del coeficiente de correlación r de -0.35 , -0.45 y -0.63 para FND, FAD y LAD, respectivamente.

En la Tabla 5.2.11 se muestran los resultados de la determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca de un conjunto de 46 muestras de la colección de ensilajes de planta entera de maíz, así como la correlación de los parámetros que describen la cinética de degradación en el rumen, el valor de la degradabilidad potencial y teórica (calculada para una tasa de paso de 0.06 h^{-1}) y la desaparición de materia seca de las bolsas de nylon a diferentes tiempos de incubación.

Tabla 5.2.11. Valores medios de los coeficientes de la degradabilidad *in situ* de la materia seca, constantes de degradación y porcentaje de desaparición de la materia seca a diferentes horas para un subconjunto de muestras de ensilajes de planta entera de maíz y su correlación con los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO) de dichas muestras

	Constantes de degradación ¹			Coeficientes de Degradabilidad ²		Porcentaje de desaparición de materia seca de las bolsas de nylon a diferentes tiempos de incubación							
	a	b	c	DP	DT	0 h	4 h	8 h	16 h	24h	48 h	72 h	96 h
Media	49.34	37.44	0.038	86.77	63.81	49.20	54.70	59.14	66.09	71.76	80.36	83.79	85.51
s.d.	3.84	3.23	0.008	2.54	3.43	4.05	3.65	3.95	4.11	3.76	3.10	2.55	1.80
Correlación con DMO													
r	0.47	-0.14	0.24	0.52	0.60	0.43	0.55	0.52	0.52	0.58	0.64	0.69	0.56
p	0.0011	n.s.	n.s.	0.0002	<.0001	0.003	<.0001	0.0002	0.0002	<.0001	<.0001	<.0001	0.0013
n	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	32

¹⁾ Constantes de degradabilidad: a=fracción inmediatamente degradable; b=fracción lentamente degradable; c=constante fraccional de la degradación de b en el rumen (h^{-1}), obtenidas mediante ajuste de la ecuación $p=a+b(1-e^{-ct})$, de Ørskov y McDonald, (1979)

²⁾ DP: degradabilidad potencial: (a+b)

DT: degradabilidad teórica, calculada para una tasa de paso $k=0.06 \text{ h}^{-1}$ según $DT=a + (bc/(c+k))$

s.d.: desviación estándar

r: coeficiente de correlación

p: significación (n.s.: no significativa, $p > 0.05$)

Como puede observarse, los resultados muestran la existencia de una asociación positiva y significativa de DMO con la fracción rápidamente degradable de la materia seca, la degradabilidad potencial y teórica y el porcentaje de materia seca desaparecido de las bolsas en todos los tiempos de incubación. La mayor correlación con DMO se observó para la tasa de desaparición a las 72 y 48 h, seguida de la degradabilidad teórica de la materia seca, con valores de r de 0.69, 0.64 y 0.60, respectivamente ($p < 0.0001$). Para este conjunto de muestras, los coeficientes de correlación entre DMO *in vivo* y los valores de DoTT, DoNDC y DoPC fueron, respectivamente, de 0.72 ($p < 0.0001$), 0.45 ($p = 0.0016$) y 0.45 ($p = 0.0016$), sugiriendo que la técnica *in situ* mostró un potencial predictivo intermedio entre el de la digestibilidad *in vitro* con inóculo ruminal y el de los métodos de solubilidad enzimática.

La mayor parte de la información obtenida de la bibliografía acerca de la predicción de digestibilidad *in vivo* de planta entera de maíz por métodos de laboratorio se refiere a plantas que han completado su ciclo normal de cultivo. Andrieu (1976) señala la existencia de correlaciones significativas entre la DMO y fibra únicamente cuando se consideran plantas con más del 28% MS o después de las 7 semanas de la floración femenina. Al dividir la muestra de ensilajes de planta entera estudiada en función del contenido en MS (corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa) en dos grupos, utilizando el mismo criterio, se confirmó la ausencia de correlaciones significativas entre DMO y componentes de la pared celular, así como con los métodos enzimáticos DoNDC y DoPC para las 18 muestras de ensilajes de menos del 28% MS mientras que se observó una asociación significativa con DoTT, PB y EB ($r = 0.66$, 0.58 y -0.47 , respectivamente, $p < 0.05$), como se puede observar en la Tabla 5.2.12.

Las correlaciones obtenidas en el grupo de 73 muestras con más del 28% MS_c entre DMO y la digestibilidad *in vitro* determinada por métodos enzimáticos y componentes de la pared celular fueron ligeramente más elevadas comparadas con las obtenidas para la totalidad de la muestra, no siendo significativa la asociación entre DMO y los contenidos en proteína y energía bruta.

Tabla 5.2.12. Matriz de correlaciones entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO) y parámetros analíticos de la colección de ensilajes de planta entera de maíz en función del contenido en materia seca de las muestras

Colección de muestras		DoTT	DoNDC	DoPC	MS	FND	FAD	FB	CEL	LAD	ALM	PB	EB
MS _c ¹ ≤ 28% (n=18)	r	0.66	0.20	0.43	-0.24	0.14	0.17	0.02	0.22	-0.42	-0.31	0.58	-0.47
	p	0.003	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.0118	0.047
MS _c ¹ > 28% (n=73)	r	0.70	0.59	0.62	-0.14	-0.52	-0.56	-0.58	-0.51	-0.60	0.27	0.22	-0.09
	p	<.0001	<.0001	<.0001	n.s.	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0214	n.s.	n.s.

¹ MS_c: materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa durante el secado (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulosa y Pepsina-Celulosa, respectivamente); MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg⁻¹ MS);

r: coeficiente de correlación

p: significación (n.s.: no significativa, p>0.05)

n: número de muestras

5.2.2.5.- Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, de la materia orgánica y de la energía

Para el conjunto de la 91 muestras de la colección, y tal como se indica en la Tabla 5.2.13, la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* alcanzó a explicar el 97% de la varianza de DMS, con un error mínimo de predicción en validación cruzada (RSD_{cv}) de ±0.7 unidades (%). A diferencia de lo observado para ensilajes de hierba, la inclusión del contenido en cenizas de la muestra en el modelo de predicción no fue significativa, lo que se explica por la escasa variación de dicho contenido en la planta de maíz.

Tabla 5.2.13. Relación entre los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca (DMS) materia orgánica (DMO) y energía bruta (DE) de ensilajes de planta entera de maíz

Ecuación de predicción	Media	n	Calibración		Validación cruzada	
			R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
DMS (%) = - 6.53 + 1.070 DMO s.e.: ±1.5*** ±0.02***	67.02	91	0.97***	0.70	0.96***	0.69
DE (%) = 6.32 + 0.875 DMO s.e.: ±2.9* ±0.04***	66.54	86	0.83***	1.32	0.82***	1.36
DE (%) = - 38.70 + 0.957 DMO + 2.111 EB s.e.: ±5.3*** ±0.03*** ±0.2***	66.54	86	0.92***	0.94	0.90***	0.98

p: significación del modelo (*** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: no significativo p>0.05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

Para las 86 muestras de las que se disponía del dato de digestibilidad *in vivo* de la energía, la DMO explicó el 83% de la variabilidad de aquella, porcentaje que se incrementó hasta el 92% cuando se incluía el contenido en energía bruta de las muestras en el modelo, obteniéndose valores de RSD_{cv} de 1.36 y 0.98, respectivamente.

5.2.2.6.- Relación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y el contenido en pared celular indigestible

Tal y como se comentó anteriormente, existe una escasa correlación entre los valores de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y de la pared celular de la planta entera de maíz, tanto para el conjunto de las muestras ($r=0.28$) como para el grupo con más del 27% de MS_c ($r=0.38$). Cuando se considera el contenido en pared celular indigestible (FNDI, en %MS) de las muestras, calculado como $FNDI = FND \times (100 - DFND)/100$, donde FND se expresa en %MS y la digestibilidad de la pared celular DFND en %, el coeficiente de correlación entre DMO y FNDI es sensiblemente más elevado ($r = -0.77$, $p < 0.0001$) que el observado entre DMO y DFND.

La magnitud de dicha asociación se incrementa de forma considerable cuando se excluyen las 21 muestras en las que el contenido en FND de las heces producidas durante la evaluación de la digestibilidad *in vivo* se determinó con la técnica de bolsas filtrantes en el Fibre Analyzer de ANKOM. Para las 71 muestras restantes, el coeficiente de correlación entre DMO y FNDI es de $r = -0.97$ ($p < 0.0001$), indicando que FNDI es un potente predictor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de las muestras de ensilaje.

Sin embargo, como se muestra en la Tabla 5.2.14, elaborada a partir de las 71 muestras en las que el contenido en FND del alimento ofrecido y de las heces se determinó por el mismo método, la concentración de FNDI no es predicha satisfactoriamente a partir de los valores de digestibilidad *in vitro* ni de la composición química de la muestra. La correlación entre el valor de fibra neutro detergente no solubilizada durante el ataque con celulasa en el método FND-Celulasa (FNDIo) y FNDI fue escasa aunque significativa ($r = -0.50$, $p < 0.0001$), e inferior a la encontrada para los valores DoTT ($r = -0.64$). La asociación entre FNDI y los parámetros obtenidos en la determinación de la

degradabilidad *in situ* de la materia seca fue asimismo reducida, como muestra el bajo valor de r (-0.39) para la desaparición de materia seca de las bolsas a las 72 h de incubación, que fue el parámetro que mostró la mayor correlación, en valor absoluto, con FNDI. Por otra parte, como era de esperar, ninguno de los posibles predictores de DMO mostró un grado de asociación con FNDI superior al exhibido con la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica.

Tabla 5.2.14. Coeficiente de correlación entre el contenido en pared celular indigestible (FNDI) y los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica, energía bruta y pared celular, digestibilidad de la materia orgánica *in vitro*, desaparición de materia seca de las bolsas incubadas *in situ* 72 h y composición química de ensilajes de planta entera de maíz

	Coeficientes de digestibilidad <i>in vivo</i>				Métodos <i>in vitro</i> e <i>in situ</i>				
	DMS	DMO	DE	DFND	DoTT	DoNDC	FNDI _o	DoPC	D72
r	-0.93	-0.97	-0.90	-0.56	-0.64	-0.45	0.50	-0.49	-0.39
p	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.006

Composición química										
	MS	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	FB	ALM	PB	EB
r	0.08	-0.19	0.30	0.36	0.56	0.31	0.39	-0.11	-0.32	0.10
p	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0.012	0.0021	<.0001	0.008	0.0009	<i>n.s.</i>	0.0077	<i>n.s.</i>

DMS, DMO, DE y DFND: digestibilidad *in vivo* de la materia seca, materia orgánica, energía bruta y pared celular, respectivamente.

DoTT, Do NDC y DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (métodos Tilley-Terry, FND-Celulasa y Pepsina-Celulasa, respectivamente). D72: porcentaje de desaparición de la materia seca de las bolsas incubadas *in situ* durante 72 h

MS: contenido en materia seca (%); FND: Fibra neutro detergente (%MS); FAD: fibra ácido detergente (%MS); FB: fibra bruta (%MS); CEL: celulosa (%MS); LAD: lignina-sulfúrico (%MS); ALM: Almidón (%MS); PB: proteína bruta (%MS); EB: energía bruta (MJ kg⁻¹ MS);

r : coeficiente de correlación

p : significación (*n.s.*: no significativa, $p > 0.05$)

5.2.2.7.- Modelos de regresión para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz

En las Tablas 5.2.15a y 5.2.15b se muestran los estadísticos de regresión obtenidos para el total de muestras de la colección y para el conjunto de 73 muestras con un contenido en MS_c superior al 28% a partir de los diferentes modelos que incluyen digestibilidad *in vitro* y parámetros químicos como predictores. Las correspondientes ecuaciones de regresión se ordenan dentro de cada grupo en orden creciente de varianza explicada por el modelo en el proceso de validación cruzada (R^2_{cv}), incluyéndose la varianza explicada en calibración

(R^2_c) y los errores mínimos de predicción en ambos procesos (RSD_{cv} y RSD_c , respectivamente).

Para el total de muestras de la colección, la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal permitió explicar el 49% de la varianza de DMO cuando se incluía como único predictor, obteniéndose un error mínimo de predicción en validación cruzada de ± 2.39 unidades (%). La inclusión de otras variables en el modelo, como el contenido en proteína bruta y cenizas permitió mejorar ligeramente la calidad de la estimación de DMO, explicándose el 56% de su variabilidad con un RSD_{cv} de ± 2.33 .

Las ecuaciones de regresión con DoPC y DoNDC mostraron coeficientes de determinación en calibración (R^2_c) de 0.27 y 0.23 y errores mínimos de predicción en validación cruzada de ± 2.77 y ± 2.87 , respectivamente. La inclusión de PB como segundo predictor permitió mejorar la precisión de las estimaciones de DMO comparada con la mostrada por los modelos basados en la solubilidad enzimática como única variable, obteniéndose valores de R^2_c y RSD_{cv} de 0.48 y ± 2.45 para el modelo con DoPC y PB, por una parte, y de 0.39 y ± 2.64 para el que incluía DoNDC y PB como variables independientes.

Todos los modelos que contenían únicamente parámetros químicos como predictores presentaron menores porcentajes de varianza explicada y errores mínimos de predicción en el procedimiento de validación cruzada más elevados que cualquiera de los modelos que incluían valores de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT) como predictor. Sin embargo los modelos de una sola variable basados en la solubilidad enzimática no mejoraron la capacidad predictiva del contenido en LAD ($R^2_c=0.32$, $RSD_{cv}=\pm 2.77$). La ecuación de regresión con LAD y PB como variables independientes ($R^2_c=0.44$, $RSD_{cv}=\pm 2.54$) mostró una precisión intermedia entre la obtenida por el modelo que incluía el contenido en PB junto con DoPC y el que utilizaba PB y DoNDC como predictores, los cuales fueron superados, a este respecto, por el modelo con LAD, PB y FB ($R^2_c=0.51$, $RSD_{cv}=\pm 2.43$).

Tabla 5.2.15a. Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz elaboradas a partir del total de la colección de muestras

Ecuación de predicción	DMO in vivo %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
a) Modelos que incluyen digestibilidad in vitro como predictor						
DMO= 43.73 + 0.378 DoNDC s.e. ±4.3*** ±0.06***	68.69	91	0.27***	2.82	0.23***	2.87
DMO= 44.23 + 0.374 DoPC s.e. ±3.7*** ±0.05***	68.69	91	0.32***	2.72	0.29***	2.77
DMO= 31.78 + 0.455 DoNDC + 1.017 PB s.e. ±4.8*** ±0.06*** ±0.24***	68.69	91	0.39***	2.59	0.35***	2.64
DMO= 30.09 + 0.469 DoPC + 1.182 PB s.e. ±4.2*** ±0.05*** ±0.24***	68.69	91	0.48***	2.39	0.44***	2.45
DMO= 16.37 + 0.699 DoTT s.e. ±5.5** ±0.07***	68.69	91	0.49***	2.34	0.47***	2.39
DMO= 12.77 + 0.701 DoTT + 0.516 PB s.e. ±5.5* ±0.07*** ±0.20*	68.69	91	0.53***	2.27	0.49***	2.33
DMO= 17.70 + 0.660 DoTT + 0.644 PB – 0.706 CZ s.e. ±5.8** ±0.07*** ±0.20** ±0.29*	68.69	91	0.56***	2.21	0.50***	2.33
b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores						
DMO= 72.54 – 0.439 FAD + 1.083 PB s.e. ±2.1*** ±0.08*** ±0.27***	68.69	91	0.27***	2.83	0.23***	2.89
DMO= 76.96 – 3.608 LAD s.e. ±1.2*** ±0.51***	68.69	91	0.32***	2.71	0.29***	2.77
DMO= 73.20 – 0.569 FB + 1.270 PB s.e. ±1.9*** ±0.08*** ±0.26***	68.69	91	0.36***	2.65	0.32***	2.70
DMO= 71.61 – 4.217 LAD + 0.972 PB s.e. ±1.6*** ±0.51*** ±0.23***	68.69	91	0.44***	2.47	0.40***	2.54
DMO= 74.06 – 3.052 LAD + 1.276 PB – 0.303 FB s.e. ±1.7*** ±0.60*** ±0.23*** ±0.09***	68.69	91	0.51***	2.34	0.45***	2.43

Significación del modelo: *** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: no significativo (p>0.05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R²: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

Considerando únicamente las muestras con un contenido en MS_c mayor del 28%, la precisión de las estimaciones de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica mejoró ligeramente respecto a la obtenida por los diferentes modelos para el conjunto de la colección, si bien se mantuvieron las tendencias anteriormente descritas en cuanto a la superioridad de las estimaciones basadas en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal en términos de varianza explicada y error mínimo de predicción.

Tabla 5.2.15b. Ecuaciones seleccionadas para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de planta entera de maíz cosechadas en condiciones normales de madurez ($MS^I > 28\%$)

Ecuación de predicción	DMO in vivo %	n	Calibración		Validación cruzada	
			R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
a) Modelos que incluyen digestibilidad in vitro como predictor						
DMO= 35.20 + 0.501 DoNDC s.e. ±5.4*** ±0.08***	68.97	73	0.35***	2.62	0.31***	2.67
DMO= 38.02 + 0.464 DoPC s.e. ±4.7*** ±0.07***	68.97	73	0.37***	2.56	0.34***	2.61
DMO= 29.35 + 0.513 DoNDC + 0.779 PB s.e. ±5.6*** ±0.07*** ±0.27**	68.97	73	0.41***	2.50	0.36***	2.57
DMO= 28.87 + 0.504 DoPC + 1.004 PB s.e. ±4.9*** ±0.06*** ±0.26***	68.97	73	0.48***	2.35	0.44***	2.42
DMO= 16.10 + 0.703 DoTT s.e. ±6.3* ±0.08***	68.97	73	0.49***	2.31	0.46***	2.38
DMO= 0.850 DoTT + 0.778 PB s.e. ±0.02*** ±0.24**	68.97	73	(1)	2.25	0.52***	2.30
DMO= 32.51 + 0.483 DoTT + 0.860 PB – 2.513 LAD s.e. ±7.9*** ±0.09*** ±0.23*** ±0.66***	68.97	73	0.62***	2.03	0.57***	2.12
b) Modelos que sólo incluyen parámetros químicos como predictores						
DMO= 88.25 – 0.457 FND s.e. ±3.7*** ±0.08***	68.97	73	0.26***	2.78	0.22***	2.84
DMO= 84.76 – 0.658 FAD s.e. ±2.5*** ±0.11***	68.97	73	0.30***	2.70	0.27***	2.75
DMO= 84.01 – 0.692 FB s.e. ±2.5*** ±0.11***	68.97	73	0.33***	2.65	0.30***	2.70
DMO= 78.05 – 4.215 LAD s.e. ±1.4*** ±0.66***	68.97	73	0.36***	2.59	0.32***	2.65
DMO= 80.05 – 0.689 FAD + 0.845 PB s.e. ±3.1*** ±0.11*** ±0.28***	68.97	73	0.38***	2.57	0.33***	2.63
DMO= 79.15 – 0.729 FB + 0.874 PB s.e. ±2.8*** ±0.10*** ±0.28***	68.97	73	0.41***	2.50	0.37***	2.56
DMO= 72.30 – 4.634 LAD + 1.035 PB s.e. ±2.0*** ±0.61*** ±0.26***	68.97	73	0.47***	2.37	0.42***	2.45
DMO= 78.50 – 3.257 LAD + 1.044 PB – 0.425 FB s.e. ±2.4*** ±0.67*** ±0.24*** ±0.11***	68.97	73	0.56***	2.18	0.48***	2.32

^I MS_c: materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa durante el secado (según Dulphy y Demarquilly, 1981)

Significación del modelo: *** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: no significativo (p>0.05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R²: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

Los modelos basados en DoTT mostraron valores de RSD_{cv} que oscilaron entre ± 2.38 y ± 2.12 para el de una sola variable y el que incluía, además de DoTT, los contenidos en PB y LAD como predictores. Para los basados en la solubilidad enzimática el error mínimo de predicción en validación cruzada osciló entre ± 2.61 y ± 2.42 para el método

Pepsina Celulasa y entre ± 2.67 y ± 2.57 para FND-Celulasa, en regresiones de una sola variable y cuando se incluía PB como segundo predictor, respectivamente.

Los valores de RSD_{cv} para los modelos basados en parámetros químicos exclusivamente oscilaron entre ± 2.84 y ± 2.32 , respectivamente, para el que tenía FND como única variable y el que incluía los contenidos de LAD, FB y PB como predictores.

La baja precisión de los métodos enzimáticos para la estimación de DMO de planta entera de maíz es puesta de manifiesto por Aufrère *et al.*, (1992) quienes indican que la digestibilidad enzimática está más correlacionada con el contenido en pared celular que con la DMO, lo cual es corroborado por los resultados encontrados en nuestro trabajo.

Para las 46 muestras de ensilaje de planta entera de maíz en las que se determinó la degradabilidad *in situ* de la materia seca se realizó la comparación de la capacidad predictiva de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los mejores modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y en el porcentaje de desaparición de MS de las bolsas de nylon incubadas en el rumen durante 72 h (D72).

Como se muestra en la Tabla 5.2.15c, el modelo de una sola variable basado en DoTT explicó el 50% de la varianza de DMO en validación cruzada, porcentaje que se redujo al 45% para el basado en la desaparición de la materia seca a las 72 h, si bien el error mínimo de predicción RSD_{cv} obtenido por dichos modelos fue semejante (± 2.23 y ± 2.26 , respectivamente). La precisión de la estimación de DMO obtenida, en este conjunto de muestras, por el modelo que incluía DoTT y PB como predictores ($R^2_{cv} = 0.55$ y $RSD_{cv} = \pm 2.09$), fue superada por una ecuación de regresión que tenía como variables independientes los contenidos en FAD y MS junto a D72 ($R^2_{cv} = 0.62$ y $RSD_{cv} = \pm 1.90$).

Estos resultados sugieren la utilidad de la técnica *in situ* para la estimación de DMO, si bien el escaso número de muestras utilizado no permite juzgar acerca de su superioridad respecto a la técnica de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal para este propósito.

Tabla 5.2.15c. Comparación de modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y en el porcentaje de la desaparición de materia seca de muestras incubadas *in situ* durante 72 h para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica del ensilaje de planta entera de maíz

Ecuación de predicción	DMO	n	Calibración		Validación cruzada	
	<i>in vivo</i> %		R ² _c	RSD _c	R ² _{cv}	RSD _{cv}
DMO= 0.817 D72 s.e. ±0.003***	68.51	46	(1)	2.21	0.45***	2.26
DMO= 0.914 DoTT s.e. ±0.004***	68.51	46	(1)	2.18	0.50***	2.23
DMO= 0.856 DoTT + 0.669 PB s.e. ±0.02*** ±0.23**	68.51	46	(1)	2.02	0.55***	2.09
DMO= -39.27 + 1.273 D72 + 0.487 FAD - 0.323 MS s.e. ±16.8* ±0.16*** ±0.18* ±0.06***	68.51	46	0.68***	1.77	0.62***	1.90

(1) recta forzada a pasar por el origen de coordenadas

p: significación del modelo (*** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: no significativo p>0.05)

s.e.: error estándar del parámetro estimado

n: número de muestras

R²: coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

5.3. DISCUSIÓN

5.3.1.- Composición química y digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de las colecciones de ensilajes de hierba y maíz

Como indica Van Soest (1983), la fiabilidad de los modelos de estimación del valor nutritivo de los forrajes para su utilización práctica depende, fundamentalmente, de la existencia de suficiente variabilidad en la colección de base, que debe reflejar el balance de especies y las condiciones de medio características de los forrajes objeto de la predicción. En este sentido, la diferente procedencia de las muestras de los ensilajes de hierba y maíz y su obtención de forma más o menos regular a lo largo de diferentes años (más de 15 en el caso de los ensilajes de hierba y 7 en el caso de los ensilajes de maíz), así como las características de aquellas en cuanto a la diversidad de especies o genotipos y de la tecnología de producción y manejo incorpora a la colección una amplia variabilidad que sin duda contribuye a la robustez de los modelos predictivos.

a) Ensilajes de hierba

Tomando como referencia los datos relativos a la caracterización de los ensilajes de hierba producidos en explotaciones lecheras gallegas obtenidos en la parte primera de este estudio, y comparándolos con los de la colección de ensilajes de digestibilidad *in vivo* conocida puede observarse que los principales factores de variación relativos al tipo de hierba ensilada, realización de presecado, uso de aditivos y tipo de cosechadora están recogidos, en proporciones más o menos comparables, en la colección citada. La realización de las evaluaciones *in vivo* a partir de 1992 se fue efectuando en conexión con el desarrollo del citado estudio, a partir de los resultados del cual se procedía a seleccionar los ensilajes de las explotaciones a evaluar. Como se puede observar, los valores de la colección de muestras de ensilaje de hierba de digestibilidad *in vivo* conocida utilizados en el presente trabajo son comparables, en cuanto al rango de variación de los contenidos en MS (13.2 a 76.0%), PB (6.0 a 24.4% MS) y FAD (23.9 a 51.7% MS) al obtenido en el estudio anteriormente citado, que fue de 12.0 a 60.0% para el contenido en materia seca, de 6.9 a 23.0% MS para el de proteína bruta y de 24.5 a 55.8 para el de fibra ácido detergente (%MS) para los cerca de 2600 ensilajes analizados, si

bien en este caso el contenido medio en cenizas fue más bajo y su rango de variación más reducido que para la colección de muestra evaluadas *in vivo* (10.5, rango 7.0 a 15.0 y 11.5, rango 6.4 a 31.6) debido a la presencia en este grupo de algunas muestras cosechadas por corte directo, obtenidas en situación experimental, y que mostraban un cierto grado de contaminación por tierra. En otro conjunto de 850 muestras de ensilaje de hierba analizadas en el Laboratorio Agrario de Mabegondo en el año 2002, enviadas por ganaderos gallegos, el valor medio (y rango de variación) del contenido en MS fue de 22.3 (12.8 a 66.3)%, y la concentración de CZ, PB y FAD (%MS) fue, respectivamente, de 10.6 (4.4 a 22.2), 13.0 (6.3 a 23.9) y 35.0 (25.3 a 48.8).

Las numerosas diferencias en cuanto al tipo de especies pratenses utilizadas, condiciones ambientales y de manejo, así como de técnicas analíticas utilizadas, en algunos casos, dificulta la comparación de los valores medios de la colección de ensilajes de hierba de digestibilidad *in vivo* conocida con los obtenidos por otros autores en diferentes situaciones. Comparado con el valor medio de DMO que figura en las tablas del MAFF (1987) para ensilajes de raigrás inglés (72.7 ± 6.2 , rango 53.0 a 83.6, $n=102$ muestras), nuestra colección presenta un valor inferior (67.8 ± 6.7 , rango 48.5 a 81.0). Si bien el contenido medio en FND (expresado sobre MS corregida por pérdida de volátiles en estufa, MS_c) fue muy parecido, la concentración media de FAD y de LAD fue superior en la colección del CIAM, comparada con los valores medios del MAFF (FND: 51.4 y 52.5; FAD: 31.8 y 31.9; LAD: 6.1 y 5.6 en % MS_c). La superior lignificación de la pared celular en las muestra del CIAM comparada con la del MAFF (11.7 y 10.6%, respectivamente), podría explicar, al menos parcialmente, el menor valor medio de DMO en nuestro caso.

El contenido medio en EB ($MJ\ kg^{-1}$ MS corregida en estufa) de las muestras de ensilaje del CIAM fue inferior al indicado en las tablas del MAFF (medias de 18.4 ± 0.97 y 19.0 ± 1.4 , respectivamente). Sin embargo, dado el mayor contenido medio en cenizas en el primer caso (10.9 frente a 8.7 % MS_c), cuando se expresa el valor de EB sobre materia orgánica los contenidos fueron semejantes (20.7 y $20.8\ MJ\ kg^{-1}$ MO) y coincidentes con el valor medio indicado en las Tablas de alimentación del INRA (Andrieu *et al.*, 1989) para ensilajes de hierba ($20.8\ MJ\ kg^{-1}$ MO).

b) Ensilajes de maíz

Para la colección de ensilajes de maíz, los valores medios obtenidos variaron en un rango más estrecho, en general, que lo observado para los ensilajes de hierba, reflejando no sólo la menor diversidad genética de las variedades de maíz cultivadas para forraje comparadas con las especies y variedades pratenses, sino la mayor uniformidad en cuanto al manejo del cultivo en cuanto a estado de madurez y técnica de ensilado y a la característica evolución de las diferentes fracciones de la planta de maíz y la digestibilidad con el avance hacia la madurez. Resultados de más de 1500 análisis de ensilajes de maíz producidos en explotaciones ganaderas gallegas realizados en el Laboratorio Agrario de Mabegondo en los últimos años (M. Cardelle, comunicación personal) muestran valores medios del contenido en MS (%) de 31.2 ± 3.7 y una concentración (expresada en %MS) de CZ, FND, FAD, FB, PB y Almidón de 3.6 ± 0.7 , 44.5 ± 4.3 , 24.8 ± 3.3 , 20.9 ± 2.8 , 7.7 ± 0.7 y 25.3 ± 5.7 . Los valores medios de los 91 ensilajes de la colección utilizados en el presente trabajo son muy semejantes a los descritos, si bien la variación es algo más elevada en consonancia con la diversidad de épocas de recolección que recoge la colección, y que abarca desde fechas cercanas a la floración femenina hasta el estado de madurez fisiológica de la planta (MS: 30.3 ± 5.06 , CZ: 3.9 ± 0.8 , FND: 44.1 ± 6.0 , FAD: 25.3 ± 4.0 , FB: 22.9 ± 3.7 , PB: 6.7 ± 1.1 y Almidón: 26.2 ± 8.3). En las Tablas de alimentación del INRA (Andrieu *et al.*, 1989) se indican, para el ensilaje de maíz cosechado entre el estado lechoso-pastoso y el vítreo valores de MS que oscilan entre el 25 y 35% y concentraciones medias (en %MS) de CZ: 4.7 a 6.3, PB: 8.2 a 8.6, FAD: 21.2 a 24.8, FB: 18.7 a 22.2, mientras que para la digestibilidad de la materia orgánica se adopta un único valor del 71% y el contenido en EB (MJ kg^{-1} MS) varía de 18.4 a 18.7. El rango de variación encontrado en las muestras de la colección del CIAM es más amplio, reflejando la mayor amplitud de fechas de cosecha, con valores extremos de 16.3 y 45.0% para MS_c y, expresados sobre materia seca corregida por pérdida de volátiles, concentraciones medias (en % MS_c) de CZ: 2.8 a 8.4, PB: 3.8 a 12.4 y FAD: 19.1 a 42.1, mientras que el contenido en EB (MJ kg^{-1} MS_c) osciló entre 17.5 y 20.6, cuyo valor medio 18.7 es muy semejante al de las tablas francesas.

El valor medio de DMO en nuestra colección (68.6%), resulta ser inferior al referido por otros autores europeos, como Givens *et al.*, (1995), quienes, para 106 ensilajes de maíz procedentes de diferentes localidades europeas indican un valor medio de digestibilidad *in*

vivo de 71.2%, y un rango de 55.7 a 80.0%. En un trabajo realizado en Francia, Andrieu (1976), para 122 ensilajes de maíz procedentes de 15 variedades cultivadas en distintas localidades obtiene un valor de DMO medio de 70.1%. con rango 59.5-76%, el cual es muy semejante al observado en nuestro trabajo (59.1 a 76.8%). De Boever *et al.*, (1999) y Andrieu *et al.*, (1999) para colecciones belgas (n=50) y francesas (n=150) indican valores medios de digestibilidad *in vivo* de planta entera de maíz (ensilada y fresca, respectivamente), de 74.7 y 72.1%, respectivamente. Se destaca la similitud de los valores medios de dichas colecciones y la del CIAM en cuanto al contenido de FND (44.0, 46.7 y 44.1 %MS) y LAD (2.3, 2.6 y 2.3), colecciones belga, francesa y CIAM, respectivamente. Sin descartar los posibles efectos de los genotipos utilizados en los respectivos estudios, esta circunstancia podría poner de manifiesto la influencia de factores ambientales que modificasen la relación entre componentes de la pared celular y DMO. Este hecho es corroborado por Aufrère *et al.*, (1992) quienes llaman la atención sobre la escasa relación existente, para el caso de planta entera de maíz, entre el contenido en lignina de la pared celular y la digestibilidad de la misma, a diferencia de lo que ocurre para otros forrajes. En nuestro trabajo fue obtenida una baja correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la pared celular (DFND) y el contenido en lignina ($r=0.28$), lo que coincide con lo indicado por dichos autores.

5.3.2.- Relación entre DMO y parámetros químicos

En concordancia con lo observado por numerosos autores (Minson, 1982, Weiss, 1994, entre otros) se observa, tanto para la colección de ensilajes de hierba como para la de planta entera de maíz, que las fracciones de la materia seca con mayor grado de correlación son los constituyentes de la pared celular, estando asociados negativamente con DMO.

a) Ensilajes de hierba

Para las muestras de ensilaje de hierba, el valor del coeficiente de correlación r osciló entre -0.66 para FND y -0.36 para CEL, siendo observada una asociación positiva entre DMO y el contenido en proteína bruta, ligeramente más elevada que para el contenido en FND ($r=0.67$). En teoría, según indican Kitessa *et al.*, (1999) la capacidad predictiva debería aumentar cuando la fracción de la pared celular que se utiliza como variable

independiente en la regresión se refiere al constituyente más indigestible, esto es, el contenido en LAD debería ser un mejor estimador de DMO que el contenido en FAD, y éste a su vez mejor que el contenido en FND. Sin embargo, nuestros resultados para los ensilajes de hierba contradicen esta observación, toda vez que la correlación de DMO y el contenido en LAD fue más débil ($r = -0.37$) que para cualquier otro constituyente de la pared celular, salvo el contenido en celulosa. La información proporcionada por diversos autores a este respecto es variable. Givens *et al.*, (1989), para una colección de 124 ensilajes de gramíneas de digestibilidad *in vivo* conocida obtenido en el Reino Unido, indica que la mejor correlación de DMO con parámetros químicos se obtenía para el contenido en FND ($r = -0.67$), siendo ésta muy semejante a la obtenida en nuestro trabajo, seguida del de FAD, LAD y CEL ($r = -0.56, -0.47$ y -0.56), respectivamente. En contraste, De Boever *et al.*, (1996) encuentran que la correlación más elevada entre un parámetro químico y DMO de 64 ensilajes de hierba era obtenida con la concentración de LAD, que explicaba el 53% de la varianza de la digestibilidad, sugiriendo que los resultados de Givens (1989) podrían atribuirse a una baja repetibilidad de la determinación de LAD. Por su parte Barber *et al.*, (1984), para una colección de 80 ensilajes de gramíneas, encuentra correlaciones similares entre la digestibilidad *in vivo* y los contenidos en FAD y FND ($r = -0.69$ y -0.67), mientras que otros autores, entre ellos Nousiainen *et al.*, (2003), para 53 ensilajes de primer y segundo corte de dos especies gramíneas cultivadas en la misma localidad, encuentran una asociación más elevada entre el contenido en LAD y DMO que para cualquier parámetro de composición química, a excepción del contenido en proteína bruta ($r = -0.65, -0.60, -0.60, -0.54$ y 0.69 para LAD, FAD, FND, CEL y PB, respectivamente), indicando que, debido al efecto de factores ambientales, la digestibilidad puede variar sin que se observe un cambio consistente en las fracciones usadas como predictores, por lo que el orden de las diferentes fracciones analíticas, en cuanto a su contribución a la varianza explicada de DMO puede cambiar en diferentes ambientes, incluso para el mismo grupo de forrajes. Es interesante destacar que, en nuestro estudio, cuando se incluía el efecto año como covariable en un modelo de predicción basado en FND como única variable, no se observaron efectos significativos sobre ninguno de los coeficientes de regresión, lo que evidencia la constancia de la relación entre FND y DMO en los distintos años. Cuando se realizaba este análisis sobre el modelo que contenía FND y el grado de lignificación de la

pared celular (LAD/FND) se obtenía un efecto año significativo sobre el intercepto y sobre la pendiente de LAD/FND pero no sobre la pendiente de FND.

b) Ensilajes de maíz

La predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de maíz a partir de la composición química de la planta, y más concretamente de su contenido en fibra, se ve dificultada por la escasa correlación existente entre ambas, lo que conduce al establecimiento de ecuaciones cuyo poder predictivo es, en general, mediocre e inferior al obtenido para las mismas fracciones en la predicción de DMO de ensilajes de hierba. En el trabajo de Andrieu (1976), se señala la ausencia de correlaciones significativas entre la DMO de las plantas de maíz normalmente desarrolladas y los valores de fibra bruta, materia seca, porcentaje de mazorca y número de días tras la floración femenina. Sin embargo, cuando se consideran sólo aquellas plantas cosechadas a partir de los 40 días de la floración, existen correlaciones significativas con el contenido en fibra bruta ($r = -0.45$) y el porcentaje de mazorca. Este trabajo fue la base de las primeras ecuaciones del INRA (1981), válidas únicamente para ensilajes recolectados con más del 28% MS o después de los 50 días tras la floración femenina. Estas ecuaciones serían posteriormente revisadas (INRA, 1987) para tener en cuenta la pérdida de energía bruta por componentes volátiles durante el secado de la muestra. En nuestro trabajo comprobamos la ausencia de correlaciones significativas entre DMO y los componentes de la pared celular para las muestras cuyo contenido en MS corregida por pérdida de volátiles en estufa era $\leq 28\%$, para las cuales únicamente el contenido en PB y EB se evidenciaron significativas ($r = 0.58$ y -0.47 , respectivamente), mientras que para las muestras con un contenido en materia seca superior se observaba una asociación significativa entre DMO y los contenidos en FND, FAD, FB, CEL y LAD ($r = -0.52$, -0.56 , -0.58 , -0.51 y -0.60 , respectivamente), no siendo significativa para los contenidos de almidón y materia seca, lo que indica la relativa independencia de la digestibilidad de la materia orgánica de la planta entera de maíz con el avance de la madurez, aspecto que ha sido señalado por otros autores (Russell *et al.*, 1992, McAllan y Phipps, 1977, Demarquilly, 1994).

Deinum *et al.*, (1984) obtienen, en Holanda, correlaciones significativas entre DMO y fibra bruta ($r = -0.88$, $RSD = 3.0$) si bien a partir de un reducido número de muestras. Cuando compara ecuaciones holandesas con las utilizadas en Bélgica, Aerts *et al.*, (1977)

observa acusadas diferencias en los resultados, especialmente para aquellas muestras con un contenido en fibra bruta superior al 20%, a pesar de que las ecuaciones habían sido obtenidas sobre poblaciones con rangos semejantes de digestibilidad y FB, concluyendo que la divergencia observada podía deberse a factores de localidad, fecha de cosecha y clima, aparte del método de análisis de la fibra bruta.

Otros trabajos más recientes hacen asimismo hincapié en el mismo aspecto. Aufrère *et al.* (1992), obtienen correlaciones significativas entre DMO y diversos componentes de la pared celular, oscilando los valores del coeficiente de correlación r entre -0.65 e -0.50 para lignina y fibra bruta, respectivamente, muy semejantes a los obtenidos en nuestro trabajo. Givens *et al.* (1995), utilizando 4 colecciones de ensilajes de maíz (dos del Reino Unido, una de Bélgica y otra de Holanda, obtiene correlaciones de -0.68, -0.66 y -0.65 para los predictores FAD, FND y FB, con valores de RSD que oscilaban entre ± 3.1 y ± 3.3 .

5.3.3.- Relación entre DMO y determinaciones *in vitro*

Es general la opinión sobre la mejora que supone la utilización de métodos *in vitro* para la estimación de DMO en forrajes, tanto los basados en la utilización de líquido ruminal como los métodos de solubilidad enzimática, dado que, mientras que la asociación estadística entre los parámetros químicos y la digestibilidad no representa los fenómenos biológicos que ocurren en la digestión, estas técnicas están diseñadas para simular los procesos implicados en la digestión de los alimentos en el tracto digestivo del rumiante (Kitessa *et al.*, 1999).

a) Ensilajes de hierba

Para la colección de ensilajes de hierba, la varianza de DMO explicada por los diferentes métodos *in vitro* estudiados fue claramente superior a la obtenida a partir de parámetros químicos, siendo obtenida una alta correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de las muestras y los correspondientes valores de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal (DoTT, $r = 0.86$), ligeramente superior a la observada para la solubilidad enzimática de la materia orgánica por el método FND-Celulasa (DoNDC, $r = 0.83$). La técnica Pepsina-Celulasa (DoPC) también permitió obtener una buena correlación entre

los valores *in vitro* y DMO ($r = 0.88$), si bien esta determinación sólo fue realizada en un grupo de 64 muestras, seleccionadas en función de su rango de digestibilidad *in vivo*, para las cuales el porcentaje de varianza explicada por DoPC fue semejante al obtenido para DoNDC y ambos ligeramente inferiores a DoTT.

La superioridad predictiva de la técnica *in vitro* con líquido ruminal para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de ensilajes de hierba, comparada con la obtenida por los métodos de solubilidad enzimática ha sido señalada por diversos autores. Barber *et al.*, (1984) indica un coeficiente de correlación entre DMO y los valores DoTT, DoNDC y DoPC de 0.87, 0.78 y 0.82, mientras Givens *et al.*, (1989) pone de manifiesto la alta capacidad predictiva del método Tilley-Terry ($r = 0.86$) comparada con la de los métodos FND-Celulasa ($r = 0.76$) y Pepsina-Celulasa ($r = 0.82$), quienes indican la superioridad de los métodos biológicos, a este respecto, comparados con los métodos empíricos basados en parámetros químicos. Estos autores señalan, además, la aditividad de los valores de digestibilidad *in vitro* obtenidos por diferentes métodos, indicando que la combinación de los valores de DoTT y DoNDC ó DoTT y DoPC permitían incrementar el porcentaje de varianza explicada respecto al valor obtenido por el método Tilley-Terry como única variable independiente en la estimación de DMO. A este respecto, si bien en nuestro estudio se ha comprobado que la selección de variables en el procedimiento de regresión paso a paso llegaba a incluir las determinaciones de digestibilidad enzimática (valores DoNDC ó DoPC), en el modelo que previamente tenía a DoTT como variable independiente, su inclusión no mejoraba substancialmente el porcentaje de varianza explicado respecto a otros parámetros de más fácil determinación, como PB o FAD, por lo que no fueron seleccionados en los mejores modelos, al margen de la dudosa aplicabilidad práctica de modelos basados en dos determinaciones *in vitro*.

Givens *et al.*, (1993), en un estudio con 33 ensilajes de gramíneas realizados en rotopacas indica que la relación entre DMO y la digestibilidad enzimática por el método FND-Celulasa es diferente de la observada para los ensilajes almacenados en silos convencionales, basándose en el mayor porcentaje de varianza explicada de la digestibilidad *in vivo* proporcionada por dicha técnica (84%) que superó a la observada para la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal o el método Pepsina-Celulasa (74 y 75%, respectivamente). En nuestro estudio, el análisis de covarianza realizado incluyendo

la variable de clase tipo de silo (rotopacas vs. otros silos) no afectó significativamente a ningún modelo de predicción, por lo que no podemos corroborar que sea necesario obtener diferentes ecuaciones para distintos tipos de silo, a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo.

b) *Ensilajes de maíz*

La revisión de diferentes trabajos encaminados a la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de maíz o de planta de maíz en estado fresco por métodos de laboratorio muestran que, en general, la precisión de los métodos *in vitro*, al igual que la de las ecuaciones basadas en parámetros químicos, es inferior a la observada en ensilajes de hierba (Givens *et al.*, 1995, De Boever *et al.*, 1997, 1999).

En nuestro estudio las correlaciones entre los valores de digestibilidad de la materia orgánica *in vitro* e *in vivo* de los ensilajes de maíz fueron consistentemente más bajas comparadas con las observadas para la colección de ensilajes de hierba, tanto para las 91 muestras del total de la colección como para las 73 muestras que procedían de plantas que habían alcanzado un estado normal de madurez, obteniéndose valores de r de 0.71, 0.52 y 0.57 para DoTT, DoNDC y DoPC en el primer caso y de 0.70, 0.59 y 0.62 en el segundo. Se destaca que el contenido en LAD consiguió explicar, para ambos grupos, un porcentaje de varianza de DMO prácticamente igual al conseguido por los métodos de solubilidad enzimática.

Aufrère *et al.* (1992), comparando el método Pepsina-Celulasa y el Tilley-Terry frente a los basados en parámetros químicos en una colección de 118 muestras de planta entera de maíz en estado fresco de digestibilidad *in vivo* conocida, no observan una mejora en el poder predictivo de DMO cuando se utilizan los métodos *in vitro*, obteniendo valores del coeficiente de correlación r de 0.62, 0.66 y -0.65 para DoTT, DoPC y LAD, respectivamente, concluyendo que, a diferencia de ocurre con ensilajes de gramíneas pratenses y leguminosas, la digestibilidad de la planta de maíz no es mucho mejor predicha por métodos biológicos que por métodos químicos. A una similar conclusión llegan Dardenne *et al.*, (1993) en un trabajo donde se utilizó una amplia colección de 199 muestras de planta de maíz, indicando que los coeficientes de correlación de DMO con DoNDC y LAD fueron de 0.65 y 0.64, respectivamente. En opinión de Aufrère *et al.*,

(1992), posibles causas de la dificultad de la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la planta de maíz por métodos de laboratorio serían la baja correlación entre digestibilidad y el contenido en la pared celular para la planta de maíz, la escasa variabilidad en digestibilidad entre las muestras utilizadas, y el hecho de la naturaleza heterogénea de la planta entera de maíz, compuesta, a diferencia de otros forrajes, de una mezcla de granos y órganos vegetativos, lo que dificulta notablemente la obtención de muestras representativas.

La observación en nuestro trabajo de que los valores de digestibilidad enzimática mostraron una correlación muy superior con los componentes de la pared celular que con DMO, a diferencia de lo ocurrido con DoTT parece sugerir que los métodos de solubilidad enzimática tienen mayor utilidad como predictores de DMO en forrajes en los que la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica está más relacionada con el contenido en pared celular del forraje, como es el caso de los ensilajes de hierba, que para los ensilajes de maíz.

Andrieu *et al.*, (1995), en un trabajo realizado sobre una colección de 254 muestras de planta de maíz de digestibilidad *in vivo* conocida, llama la atención sobre la importancia de obtener relaciones robustas, donde se encuentren adecuadamente representadas las diferentes fuentes de variación, en particular los efectos del año, localidad y genotipo, proponiendo una ecuación basada en la digestibilidad enzimática (DoPC) y proteína bruta, que explicaba el 44% de la varianza de DMO. El modelo obtenido en nuestro trabajo con DoPC y PB explica un porcentaje de varianza semejante, si bien el error de predicción es más elevado que el obtenido por dichos autores (± 2.4 y ± 1.9 unidades, respectivamente), debiendo indicarse que, mientras que el rango de valores de DMO en el citado estudio fue del 66.0 al 77.0%, para nuestra colección fue sensiblemente más amplio (59.1 a 76.8%).

Aerts, (1997), para una colección de 45 ensilajes de hierba y 11 ensilajes de maíz, indica que la desaparición de materia seca de bolsas incubadas en rumen durante 48 h, seguido de reincubación en solución de pepsina-clorhídrico durante un tiempo similar mostró una capacidad predictiva de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica superior a la del método Tilley-Terry, consiguiendo explicar el 79% de la varianza de DMO frente al 73%

alcanzado por este último método. Barber *et al.*, (1990), en un estudio con 170 ensilajes de hierba, encuentra que la desaparición de materia seca de bolsas incubadas *in situ* durante 48 h, seguida del lavado de las mismas con detergente en agua caliente permite explicar el 68% de la varianza de DMO, mientras que el método Tilley-Terry permitía incrementar dicho porcentaje hasta el 74%. En nuestro estudio, el porcentaje de desaparición de materia seca de las bolsas de nylon incubadas *in situ* durante 72 h (D72), para el conjunto de 46 muestras de ensilaje de maíz en las que se determinó dicho valor, permitió explicar entre el 62 y el 45% de la varianza de DMO, con un error de predicción en validación cruzada de entre ± 1.9 y ± 2.2 para un modelo multivariable que incluía el contenido en FAD y MS de las muestras, además del valor de D72 y para el modelo de una sola variable, respectivamente. Estos valores son muy próximos a los obtenidos para DoTT en este grupo de muestras, si bien el porcentaje de varianza explicada por el modelo de varias variables que incluía el valor *in situ* fue superior al observado para el que incluía DoTT y PB como predictores ($R^2_{cv}=0.55$). Ferret *et al.*, (1997), para 11 ensilajes de maíz con un rango de digestibilidad entre 62.2 y 75.7% observan que la fracción insoluble pero potencialmente digestible (parámetro *b* de la ecuación de Orskov y McDonald, 1979) era mejor predictor que la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal, explicando, en el procedimiento de calibración, el 74% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de los ensilajes, con un error de ± 2.2 , semejante al obtenido en nuestro estudio para el modelo de una sola variable.

5.3.4.- Comparación de la capacidad predictiva de los modelos basados en análisis químicos y digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y celulasas, obtenidos en el presente trabajo, con otros métodos de laboratorio que utilizaron las mismas colecciones de muestras

Los mejores modelos empíricos obtenidos en nuestro estudio, basados en análisis químicos, consiguieron predecir la digestibilidad *in vivo* de los ensilajes de hierba con un error de predicción de entre ± 4.3 y 4.7 unidades para ecuaciones de regresión multivariables, explicando entre el 59 y el 50% de la varianza de DMO, en validación cruzada. Los modelos basados en la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal mostraron una precisión de entre ± 3.2 y 3.5 unidades, explicando entre el 78 y 72% de la varianza de DMO, mientras que las estimaciones basadas en la digestibilidad enzimática por el

método FND-Celulasa fueron menos precisas que estas últimas, explicando entre el 70 y 68% de la varianza, con errores de predicción de entre ± 3.7 y ± 3.8 unidades. Para el conjunto de 64 muestras de valores DoPC conocidos, los errores de predicción fueron de ± 3.2 , ± 3.5 y ± 3.7 para los modelos univariantes basados en DoTT, DoPC y DoNDC, respectivamente.

Para los ensilajes de maíz con más del 28% de materia seca corregida por pérdida de volátiles en estufa, las mejores ecuaciones de predicción, basadas en parámetros químicos consiguieron predecir el valor de la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* con una precisión que osciló entre ± 2.3 a ± 2.6 unidades, explicando entre el 48 y el 33% de la varianza de DMO, en validación cruzada. Los modelos basados en DoTT explicaron entre el 57 y el 46% de dicha varianza, con errores de predicción entre ± 2.1 y ± 2.3 unidades. El poder predictivo de los modelos basados en la digestibilidad enzimática no fue mejor que el de los modelos de varias variables basados en análisis químicos, consiguiendo explicar entre el 44 y el 34% de la varianza de DMO los modelos basados en DoPC y entre el 36 y 31% los basados en DoNDC. Los errores de estimación de DMO, en validación cruzada, oscilaron entre ± 2.4 y ± 2.6 unidades para el primer método y entre 2.5 y 2.6 para el segundo.

Utilizando muestras de ensilaje de hierba y ensilaje de maíz pertenecientes a la colección del CIAM, seleccionadas en función de su rango de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica, García Rodríguez *et al.*, (2003a, 2003b, 2003c) evaluaron la capacidad predictiva de la técnica de producción de gas *in vitro* para la estimación de DMO de dichos forrajes. Como puede observarse en la Tabla 5.3.1, se obtuvieron errores mínimos de predicción en validación cruzada de ± 3.0 a ± 4.2 para los ensilajes de hierba y de ± 2.0 a ± 2.4 para ensilajes de maíz. La precisión de la estimación para los mejores modelos basados en la producción de gas es ligeramente superior a la obtenida cuando se utiliza la digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal como predictor (RSD_{cv} de ± 3.2 y ± 2.1 en los mejores modelos para ensilajes de hierba y maíz, respectivamente), si bien debe ser tenido en cuenta el mayor número de muestras utilizado para la construcción y validación de las ecuaciones en este último caso.

Tabla 5.3.1. Estadísticos de regresión obtenidos en la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y de planta entera de maíz, a partir de los resultados de producción de gas, coeficientes de ajuste a la ecuación exponencial $p=A+B(1-e^{-ct})$, las producciones acumuladas a distintos tiempos, y de distintos parámetros analíticos de los ensilados

Variables independientes utilizadas en los modelos de predicción	n	Calibración		Validación Cruzada	
		R^2_c	RSD _c	R^2_{cv}	RSD _{cv}
a) Ensilajes de hierba					
A, B y c	72	0,70***	4.14	0,67***	4.27
G12, G15, G19, G36 y G72	72	0,79***	3.52	0,74***	3.75
B, c, PB y FND	72	0,80***	3.43	0,77***	3.56
B, c, PB y pH	72	0,82***	3.23	0,78***	3.45
G2, G15, G19, G96, MS y PB	72	0,81***	3.35	0,79***	3.18
G2, G15, G19, G96, MS, pH y PB	72	0,86***	2.85	0,83***	3.07
b) Ensilajes de maíz					
A, B, c y PB	64	0,46***	2.36	0,38***	2.46
G6, G8, G48 y G96	64	0,47***	2.32	0,39***	2.44
B, c, pH, MS y PB	64	0,56***	2.13	0,49***	2.22
G6, G8, G48, G96, PB y FND	64	0,63***	1.98	0,54***	2.11
G30, G48, G72, PB, LAD y pH	64	0,68***	1.89	0,57***	2.06

Significación del modelo (***) $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; n.s.: no significativo $p > 0.05$)

n: número de muestras

R^2 : coeficiente de determinación

RSD: desviación estándar residual

G2, G12, G15, G19, G24, G36, G72, G96: producción acumulada de gas (ml g^{-1} MO) a las 2, 12, 15, 19, 24, 36, 72 y 96 horas tras la inoculación.

A, B, c: parámetros resultantes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979)

PB: proteína bruta, FND: fibra neutro detergente, LAD: lignina ácido detergente, MS: materia seca no corregida

Fuente: García Rodríguez et al., (2003a, 2003c) y Oregui, L. M. (comunicación personal)

La utilidad del método NIRS para la estimación de la DMO de ensilajes de hierba y maíz es puesta de manifiesto por los resultados que se muestran en la Tabla 5.3.2, obtenidos por Castro, P. (resultados no publicados), sobre las mismas colecciones utilizadas en el presente trabajo. Las operaciones de obtención, registro y tratamiento de espectros de las muestras de las colecciones respectivas fueron realizadas por el personal de la sección de análisis instrumental del CIAM, utilizando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD, USA), sobre muestras secas y molidas, según ha sido descrito por Castro et al., 2002a, Castro et al., 2002b y Castro et al., 2003.

Para el caso de los ensilajes de hierba, las 197 muestras se dividieron en un subconjunto de 146 muestras para calibración y otro de 49 muestras para validación. Como se puede observar, el porcentaje de varianza explicada de DMO es superior y los errores mínimos de predicción inferiores tanto en el conjunto de calibración (146 muestras) como de

validación (49 muestras), ($R^2_c=0.87$, $R^2_v=0.79$, $SEC=\pm 2.53$, $SEP=\pm 2.33$) comparados con los obtenidos para el mejor modelo multivariable basado en técnicas *in vitro* y parámetros químicos, con DoTT, PB y FAD como predictores ($R^2_c=0.79$, $R^2_{cv}=0.78$, $RSD_c=\pm 3.10$, $RSD_{cv}=\pm 3.22$). Debe ser tomada en cuenta la indicación de Offer (1993), quien sugiere que para ensilajes de hierba el error de predicción de DMO no debería superar las 3 unidades (%), lo que sólo cumpliría la técnica NIRS, de todos los métodos estudiados.

Para las 97 muestras de la colección de ensilajes de maíz, el porcentaje de varianza explicada de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica en calibración y validación cruzada (0.64 y 0.57, respectivamente) mediante la técnica NIRS fue superior a la de cualquier modelo basado en determinaciones *in vitro* o parámetros químicos como predictores, obteniéndose asimismo errores de predicción inferiores en la estimación de DMO, tanto para los modelos desarrollados sobre la totalidad de la colección como para los generados a partir de las 73 muestras de ensilajes cosechados en un estado normal de madurez.

Estos resultados ponen de manifiesto la mayor capacidad predictiva del método NIRS para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba y maíz, comparado con los métodos biológicos y los métodos empíricos basados en parámetros químicos.

Tabla 5.3.2. Precisión de las estimaciones NIRS de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz

	Conjunto de calibración							Conjunto de validación				
	n	Media	s.d.	R^2	SEC	1-VR	SECV	n	Media	s.d.	R^2	SEP
Ensilajes de hierba												
DMO	148	67.82	7.29	0.87	2.53	0.84	2.98	49	68.31	6.13	0.79	2.33
DoTT	148	67.65	7.05	0.83	2.89	0.76	3.48	49	67.72	5.80	0.71	3.25
DoNDC	120	59.02	8.64	0.82	3.63	0.76	4.21	49	61.12	7.65	0.70	3.43
DoPC	64	61.49	10.74	0.90	3.26	0.88	3.65					
Ensilajes de maíz												
DMO	91	68.69	3.29	0.64	1.97	0.57	2.07					
DoTT	91	74.81	3.32	0.74	2.01	0.64	2.11					
DoNDC	91	65.99	4.55	0.85	1.93	0.82	2.12					
DoPC	91	65.22	5.00	0.88	1.77	0.84	1.99					

SEC: error estándar de calibración; SECV: error estándar de validación cruzada; SEP: error estándar de validación

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con líquido ruminal

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa

Fuente: Castro, P., resultados no publicados

Una forma más adecuada de realizar la comparación entre los diferentes métodos en cuanto a su capacidad de predecir adecuadamente DMO de ensilajes de hierba y maíz es utilizar el estadístico RER, que relaciona el error de predicción con el rango de la digestibilidad *in vivo* del conjunto de predicción. Este método permite tener en cuenta las diferencias en el conjunto de muestras utilizado para la construcción de los modelos de predicción. En la Tabla 5.3.3 se indica el valor de RER (computado como la relación entre la diferencia entre los valores máximo y mínimo de la variable dependiente en el conjunto de validación o validación cruzada y el error de predicción) obtenido en el presente trabajo para los modelos basados en técnicas *in vitro*, ecuaciones empíricas e incubación *in situ*, así como los obtenidos para la técnica de producción de gas *in vitro* por García Rodríguez *et al.*, (2003a, 2003b) y para la técnica NIRS por Castro, P. (resultados no publicados). Según Williams y Sobering, (1996), un método de estimación tendrá una mayor exactitud relativa cuanto mayor sea el valor del estadístico RER, sugiriendo un valor ≥ 10 como indicativo de una adecuada calidad de la estimación para las calibraciones NIRS.

Siguiendo este criterio, puede afirmarse que, en general, la exactitud alcanzada por los métodos de estimación del valor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica es mayor en ensilajes de hierba que en los de maíz, y que de los resultados obtenidos no parece deducirse la existencia de una interacción entre el método empleado y el tipo de forraje, con la salvedad de los métodos basados en la solubilidad enzimática. La técnica NIRS presenta la mayor exactitud tanto en ensilajes de hierba como en ensilajes de maíz, seguida de los métodos de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y producción de gas *in vitro*. En los ensilajes de hierba, las técnicas de solubilidad enzimática muestran mayor exactitud que los métodos empíricos, pareciendo advertirse un mejor comportamiento del método Pepsina-Celulasa. En ensilajes de planta entera de maíz, la incubación *in situ* mejora la exactitud de los métodos de solubilidad enzimática y los métodos empíricos, que alcanzan resultados comparables. De entre las dos técnicas de solubilidad enzimática, el método Pepsina-Celulasa parece exhibir una mayor capacidad predictiva. Solamente los métodos NIRS, Tilley-Terry y producción de gas *in vitro* alcanzan el valor 10 de RER, para la colección de ensilajes de hierba.

Tabla 5.3.3. Comparación de la capacidad predictiva de diferentes métodos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz, evaluados a partir de la colección de muestras del CIAM

Método	Ensilajes de hierba			Ensilajes de planta entera de maíz		
	n	Rango ¹ DMO	RER ²	n	Rango ¹ DMO	RER ²
a) Métodos <i>in vitro</i>						
DoTT	197	32.50	9.15 a 10.10	91	17.25	7.24 a 8.13
DoNDC	169	32.50	8.53 a 8.76	91	17.25	6.46 a 6.71
DoPC	64	32.50	9.10	91	17.25	6.60 a 7.33
c) Métodos empíricos	197	32.50	5.66 a 7.52	91	17.25	6.07 a 7.33
d) Incubación <i>in situ</i>			-	46	15.04	6.65 a 7.91
e) NIRS	148	32.50	10.90	91	17.25	8.57
	49	26.35	11.30			
f) Producción de gas <i>in vitro</i>	72	32.50	7.7 a 10.8	64	16.10	6.7 a 8.0

¹ Diferencia entre los valores máximo y mínimo de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica del conjunto de muestras de calibración o validación cruzada

² RER: relación entre el rango y el error de predicción (en validación o validación cruzada)

DMO: digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica con líquido ruminal

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método FND-Celulasa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica por el método Pepsina-Celulasa

5.3.5.- Comparación de la precisión de los métodos obtenidos a partir de las colecciones del CIAM con los resultados de otros autores extranjeros

La capacidad predictiva de los métodos indirectos para la estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz ha sido estudiada por diversos autores. Sin embargo en relativamente pocos trabajos se compara la capacidad predictiva de diversos métodos en el mismo laboratorio para distintos tipos de forraje, lo que dificulta la comparación global entre las diferentes técnicas. Se destaca que, para ensilajes de hierba, el mayor volumen de información encontrado se refiere a los trabajos realizados en el Reino Unido (Givens *et al.*, 1989; Adamson y Givens, 1989; Givens *et al.*, 1990; Barber *et al.*, 1990; Givens *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1995; Givens y Deaville 2001) centrados en la estimación del contenido en energía metabolizable del ensilaje, mientras que para la planta de maíz, en razón a la similitud entre los valores de digestibilidad entre el maíz fresco y ensilado sobresalen los trabajos realizados en Francia sobre el forraje fresco (Andrieu, 1984; Aufrère *et al.*, 1992; Andrieu *et al.*, 1993;

Dardenne *et al.*, 1993; Andrieu, 1995; Andrieu *et al.*, 1999) y en Bélgica y Holanda sobre el ensilado (Deinum *et al.*, 1984; De Boever *et al.*, 1988; De Boever *et al.*, 1997; De Boever *et al.*, 1999).

A fin de permitir comparar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio y los referidos por los otros autores españoles que evaluaron la capacidad predictiva de los métodos de producción de gas *in vitro* y la técnica NIRS utilizando las muestras de la colección del CIAM, se han elaborado las Tablas 5.3.4 y 5.3.5 donde se reflejan, para los ensilajes de hierba y de maíz, así como para planta entera de maíz, los valores del estadístico RER correspondiente a los modelos de una sola variable, calculado como el ratio entre el rango de valores de digestibilidad *in vivo* del conjunto de calibración y el error estándar de calibración. La razón de no utilizar los valores de validación o validación cruzada como sería de desear es que en muchos trabajos no se indican los estadísticos de validación, o bien no se ha realizado ésta. En los casos en que se dispone de esa información, el valor de RER se calcula con los datos de validación, indicándose en la Tabla respectiva.

Para ensilajes de hierba, los criterios químicos explicaron alrededor del 50% de la varianza de la digestibilidad *in vivo*, con valores de RER , para los estudios que incluyeron 40 o más muestras, de entre 4.6 y 7.8. Los métodos biológicos alcanzan a explicar el 70-75% de la varianza de DMO, obteniéndose un valor RER de entre 7.0 y 15.7 para DoTT, de entre 9.2 y 11.5 para DoNDC y de entre 7.5 a 15.8 para DoPC. La incubación *in situ*, en dos ensayos, obtuvo valores RER que oscilaron entre 7.8 y 9.4. En los trabajos de Nousiainen *et al.*, (2003a y 2003b) pueden observarse valores más elevados debido a la composición de la muestra, con un reducido número de ensilajes de dos especies gramíneas, cosechados en la misma localidad y con un amplio rango de valores de digestibilidad. La técnica NIRS permite explicar alrededor del 80% de la varianza en la mayor parte de los ensayos, siendo de resaltar que, en todos aquellos en los que se comparó con otras técnicas de estimación, obtuvo menores errores de predicción que los restantes métodos evaluados, lo cual concuerda con nuestros resultados. Los valores del estadístico RER para la técnica NIRS oscilaron entre 9.6 y 11.7 para este grupo de forrajes.

Para el caso de la planta entera de maíz, haciendo abstracción de si las muestras evaluadas eran ensilajes o material en estado fresco, se observó que los criterios químicos conseguían explicar alrededor del 40% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* en las ecuaciones más robustas, oscilando entre el 25 y el 53% para el conjunto de los ensayos, con valores de RER que oscilaron entre 4.7 y 7.7. Los métodos biológicos explicaron alrededor del 44% de la variabilidad de DMO, alcanzando el 66% en algún ensayo. El valor de RER para DoTT osciló entre 5.2 y 8.6; para DoNDC fue de 8.9 en el único ensayo revisado que contenía este método y para DoPC entre 5.5 y 8.9. El porcentaje de la varianza explicada de DMO por la técnica NIRS fue del 75 y 65%, con valores RER de 8.6 y 10.4 para dos ensayos donde se utilizó un amplio conjunto de muestras (150 y 199, respectivamente). En tercer ensayo, realizado por De Boever *et al.* (1997) con 50 muestras, el porcentaje de varianza explicado por NIRS fue sensiblemente más bajo (37%), con un valor RER de 5.7, inferior al obtenido para los métodos biológicos. Con esta salvedad, al igual que ocurría en el caso de los ensilajes de hierba, la técnica NIRS mostró una mayor precisión que los restantes métodos evaluados, lo que concuerda con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Tabla 5.3.4. Comparación de la precisión relativa de diversos métodos de estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO, % ó MOD, %MS) de ensilaje de hierba, en términos de la relación entre el rango de valores de la variable dependiente y el error mínimo de predicción en calibración o validación cruzada obtenidos por diferentes autores europeos

Valor medio de digestibilidad <i>in vivo</i>	Composición química ⁽¹⁾	Incubación <i>in vitro</i> con líquido ruminal	Solubilidad enzimática ⁽¹⁾	Incubación <i>in situ</i>	NIRS	Referencia
DMO (%) = 63.5 n=45 (hierba) y n=11 (maíz)	6.5 (FB) 6.2 (FND) 6.2 (FAD) 5.3 (CEL) 7.8 (LIG)	7.0	-	7.8 (48h)	-	Aerts et. al (1977)
MOD (g kg ⁻¹ MS) = 58.8 ± 7.1 n=50	4.7 (FB) 4.6 (FND)	15.7	8.6 (PC)	-	-	De Boever et al., (1988)
DMO (%) = 75.0 ± 4.8 n=64	6.6 (LIG)	7.7	8.1 (PC)	-	9.6 ⁽²⁾	De Boever et al., (1996)
DMO (%) = 74.9 ± 5.0 n=50	6.1 (LIG)	7.1	7.9 (PC)	-	-	De Boever et al., (1999)
DMO (%) = 73.4 ± 5.6 n=50	-	9.9	15.8 (PC)	-	-	Steg et al., (1990)
MOD (g kg ⁻¹ MS) = 67.2 ± 6.0 n=124	5.8 (FB) 6.5 (FND) 5.9 (FAD) 5.5 (LIG) 7.3 (FADM)	8.9	7.5 (PC) 9.2 (NDC)	-	-	Givens et al., (1989)
MOD (g kg ⁻¹ MS) = 64.0 ± 6.3 n=37	5.2 (FB) 6.6 (FND) 5.6 (FAD) 5.4 (CEL) 8.3 (FADM)	9.0	11.6 (PC) 11.5 (NDC)	-	-	Givens et al., (1993)
DMO (%) = 71.0 ± 6.0 n=170	7.7 (LIG) 6.6 (FADM)	10.6	8.0 (PC)	9.4 (48h)	11.7 ⁽²⁾	Barber et al., (1990)
DMO (%) = 73.4 ± 6.6 n=25 ⁽³⁾	5.9 (PB) 7.5 (FND) 8.6 (FAD) 7.5 (LIG) 7.2 (CEL)	-	21.0 (PC)	-	-	Nousiainen et al., (2003)a
DMO (%) = 73.4 ± 6.6 n=28 ⁽⁴⁾	6.6 (PB) 8.6 (FND) 7.4 (FAD) 6.8 (CEL) 10.0 (LIG)	-	10.0 (PC)	18.0 ⁽⁵⁾	-	Nousiainen et al., (2003)b
DMO = 67.8 ± 7.1 n=136	-	-	-	-	11.5 ⁽²⁾	Gordon et al., (1998)

⁽¹⁾ El componente entre paréntesis indica la variable independiente. LIG: lignina; PC: pepsina-celulasa; NDC: fibra neutro detergente-celulosa

⁽²⁾ validación cruzada ⁽³⁾ sólo primeros cortes ⁽⁴⁾ sólo segundos cortes ⁽⁵⁾ determinación de la concentración de FND indigestible *in situ*

Tabla 5.3.5. Comparación de la precisión relativa de diversos métodos de estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO, % ó MOD, %MS) de la planta entera de maíz fresca y ensilada, en términos de la relación entre el rango de valores de la variable dependiente y el error mínimo de predicción en calibración o validación cruzada obtenidos por diferentes autores europeos

Valor medio de digestibilidad <i>in vivo</i>	Composición química ⁽¹⁾	Incubación <i>in vitro</i> con líquido ruminal	Solubilidad enzimática ⁽¹⁾	Incubación <i>in situ</i>	NIRS	Referencia
Forraje fresco						
DMO (%)= 72.3±2.6 n=118	5.2 (FB) 4.7 (FND) 5.0 (FAD) 5.4 (LIG)	5.2	5.5 (PC)	-	-	Aufrère <i>et al.</i> , (1992)
DMO (%)= 71.9±2.8 n=199	6.4 (FB) 6.7 (LIG)	-	6.6 (PC)	-	8.6 ⁽²⁾	Dardenne <i>et al.</i> , (1993)
DMO (%)=72.1±3.3 n=150	5.8 (ALM) 7.2 (FB) 6.8 (FND) 7.7 (FAD) 7.4 (LIG)	-	8.9 (PC)	-	10.4 ⁽³⁾	Andrieu <i>et al.</i> , (1999)
Forraje ensilado						
MOD (% MS)= 69.6±3.4 n=50	5.5 (FB) 5.0 (FND)	8.6	7.3 (PC)	-	-	De Boever <i>et al.</i> , (1988)
MOD (%MS)= 67.7±3.9 n=106	7.3 (FB) 7.0 (FND) 7.1 (FAD) 7.3 (FADM)	-	8.9 (NDC)	-		Givens <i>et al.</i> , (1995)
DMO (%)= 74.7±2.6 n=50	6.7 (FB)	7.6	7.6 (PC)	-	5.7	De Boever <i>et al.</i> , (1997)

⁽¹⁾ El componente entre paréntesis indica la variable independiente. LIG: lignina; PC: pepsina-celulasa; NDC: fibra neutro detergente-celulasa

⁽²⁾ validación ⁽³⁾ validación cruzada

5.4. CONCLUSIONES

1. Para los ensilajes de hierba, los métodos empíricos basados en análisis químicos consiguieron explicar como máximo el 60% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (DMO), con errores de predicción entre 4.3 y 5.7 unidades. Los métodos *in vitro* (inoculación con líquido ruminal y solubilidad enzimática) fueron estimadores de DMO más precisos que los anteriores, permitiendo explicar entre el 68 y el 70% de la varianza de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica con errores de predicción entre 3.2 y 3.8 unidades. La inoculación *in vitro* con líquido ruminal fue un estimador más preciso, pero menos repetible, que los métodos de solubilidad enzimática. Entre ellos, la técnica Pepsina-Celulasa mostró mayor capacidad predictiva que la FND-Celulasa, si bien las diferencias fueron de escasa magnitud.
2. Para ensilajes de planta entera de maíz, la correlación entre la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica y los posibles predictores (parámetros químicos y métodos *in vitro*) fue de menor magnitud que la observada para los ensilajes de hierba. Dicha asociación se incrementó cuando se consideran únicamente las muestras de plantas que alcanzaron un estado normal de madurez, con un contenido en materia seca superior al 28%.
3. El mejor predictor de DMO de ensilajes de maíz fue el contenido en pared celular indigestible. Sin embargo, la digestibilidad de la pared celular muestra una baja correlación con la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*, los parámetros de composición química de la planta y los métodos *in vitro* evaluados.
4. Los métodos empíricos basados en análisis químicos consiguieron explicar como máximo el 48% de la varianza de DMO, con errores de predicción entre 2.3 y 2.8 unidades. El método *in vitro* con inóculo ruminal fue más preciso que los métodos empíricos y los basados en la solubilidad enzimática, permitiendo explicar entre el 57 y el 46% de la varianza de DMO, con errores de predicción entre 2.1 y 2.3 unidades. La capacidad predictiva de los métodos enzimáticos fue semejante a la de los mejores modelos de regresión multivariantes con parámetros químicos

como predictores, explicando entre el 44 y el 31% de la varianza, con errores de predicción entre 2.4 y 2.6 unidades. La técnica de incubación *in situ* permitió obtener resultados comparables a los del método *in vitro* con líquido ruminal, para la estimación de DMO.

5. La comparación de los resultados obtenidos en este estudio con los de otros autores españoles que, sobre la misma colección de muestras de digestibilidad conocida, evaluaron la capacidad de las técnicas de producción de gas *in vitro* y NIRS para predecir adecuadamente el valor de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los ensilajes de hierba y maíz mostraron que la técnica NIRS proporciona la mayor exactitud relativa tanto en ensilajes de hierba como en ensilajes de maíz, superior a la de cualquier otro método, seguida por los métodos de digestibilidad *in vitro* con líquido ruminal y de producción de gas *in vitro*.
6. Las indudables ventajas operativas y de precisión de las estimaciones proporcionadas por la técnica NIRS aconsejan su utilización en las rutinas de predicción. Sin embargo, el elevado coste y lentitud de las determinaciones *in vivo* limitan la variabilidad contenida en la colecciones de muestras de digestibilidad conocida y, por tanto, la extensión de su aplicación en la práctica. Las ecuaciones obtenidas en este trabajo, que relacionan los valores de DMO con los diferentes métodos de estimación *in vitro*, pueden ser de utilidad para superar esta limitación, sugiriéndose la calibración de NIRS para la estimación de la digestibilidad *in vitro*, como forma de incrementar la robustez de dichas estimaciones, y aplicar las ecuaciones de paso para obtener el correspondiente valor *in vivo*.

6.- BIBLIOGRAFÍA

AERTS, J. V.; COTTYN, B. G.; DE BRABANDER, D. L.; BOUCQUÉ, CH. V.; BUYASSE, F. X., 1978. Digestibility and feeding value of maize. *Proceedings of the European Maize Meeting*. Louvain-la-Neuve, 106-128.

AERTS, J.V.; De BRABANDER, D.L.; COTTYN, B.G.; BUYASSE, F.X., 1977. Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology*, **2**, 337-349.

ADAS, 1984. Ensiling grass. *Leaflet 482*. 8 pp. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Publications). Northumberland (Reino Unido)

ADAMSON, A.H.; GIVENS, D.I., 1989. Silage sampling and analysis to reflect the potential of the silage. *British Grassland Society. Occasional Symposium No. 23*, pp. 20-30

AFRC, 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. 159 pp. CAB Int., Wallingford, Reino Unido.

ALEXANDER, R.H.; MCGOWAN, M., 1969. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. *Journal of the British Grassland Society*, **21**, 140-147.

ALLEN, M.S.; OBA, M.; CHOI, B.R., 1997. Nutritionist's perspective on corn hybrids for silage. En: *Silage: Field to feedbunk*, 25-36. North American Conference, Hershey, Pennsylvania. NRAES-99, Northeast Region Agriculture Engineering Service, Ithaca, Nueva York, EEUU.

ALWASH, A. H.; THOMAS, P. C., 1971. Effect of the size of hay particles on digestion in the sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **22**, 611-615.

ADESOGAN, A. T., 2002. What are feeds worth?. A critical evaluation of selected nutritive value methods. *Proceedings of the 13th Florida Ruminant Nutrition Symposium*, Florida (EEUU), pp 33-47.

ALBRECHT, K.A.; MUCK, R.E., 1991. Proteolysis in ensiled forage legumes that vary in tannin concentration. *Crop Science*, **31**, 464-469.

ALDERMAN, G., 1979. Application of practical rationing systems. En: *Standardization of analytical methodology for feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979*. Ed: W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM. IDRC-134e, 29-35.

ANDERSON, L. H.; VANZANT, E. S., 2000. Effects of Supplemental Fat on Reproductive Performance in Beef and Dairy Cattle. *2000 Kentucky Ruminant Nutrition*, 1-6.

ANDRIEU, J., 1976. Factors influencing the composition and nutritive value of ensiled whole crop maize. *Animal Feed Science and Technology*, **1**, 381-392.

ANDRIEU, J., 1976. Factors influencing the composition and nutritive value of ensiled whole crop maize. *Animal Feed Science and Technology*, **1**, 381-392.

ANDRIEU, J.; 1985. Composition et valeur alimentaire du maïs plante entière. *Colloque maïs ensilage*, Rennes, Francia, 25 pp.

ANDRIEU, J.; BARRIÈRE, Y.; DEMARQUILLY, C., 1999 . Digestibilité et valeur énergétique des ensilages de maïs: le point sur les méthodes de prévision au laboratoire. *INRA Productions Animales*, **12** 391-396.

ANDRIEU, J. P.; DEMARQUILLY, C.; 1974. Valeur alimentaire du maïs fourrage. II. Influence du stade de végétation, de la variété du peuplement, de l'enrichissement en épis et de l'addition d'urée sur la digestibilité et l'ingestibilité de l'ensilage de maïs. *Annales de Zootechnie*, **23** 1-25.

ANDRIEU, J.; DEMARQUILLY, C., 1987. Valeur nutritive des fourrages: tables et prévision. *Bulletin Technique C. R. Z. V. Theix, I. N. R. A.*, **70**, 61-73.

ANDRIEU, J.; DEMARQUILLY, C.; DARDENNE, P.; BARRIÈRE, Y.; LILA, M.; MAUPETIT, P.; RIVIÈRE, F.; FEMENIAS, N., 1993. Composition and nutritive value of whole maize plants fed fresh to sheep. I. Factors of variation. *Annales de Zootechnie*, **42**, 221-249

ANDRIEU, J. P.; DEMARQUILLY, C.; ROUEL, J., 1990. Conservation et valeur alimentaire des ensilages directs de prairies naturelles. comparaison de trois types de conservateur. *INRA Production Animal*, **5**, 205-212.

ANDRIEU, J.; DEMARQUILLY, C.; SAUVANT, D., 1998. Tables of feed used in France. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 213-303. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext, París, Francia.

ANDRIGHETTO, I.; GRUBER, L.; COZZI, G.; URAY, G.; GUIDETTI, G.; BUCHGRABER, K., 1992. Prediction of digestible organic matter in dry matter in vivo from the chemical composition, in vitro and in situ measurements on native mountain forages. *Animal Feed Science and Technology*. **39**, 323-333.

ARMSTRONG, D. G., 1964. Evaluation of artificially dried grass as a source of energy for sheep. *Journal of Agricultural Science*, **62**, 399-416.

AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Annales de Zootechnie*, **31**, 111-129.

AUFRÈRE, J., 1999 . Estimation of organic matter digestibility of forages and feeds by pepsin-cellulase method. En: *Evaluation of the nutritive value of Mediterranean Roughages*, 67-71. (Ed) J.L. TISSERAND. Options Méditerranéennes, serie B, n° 18. CIHEAM/EC/DG-VI. Zaragoza (España).

- AUFRÈRE, J.; GRAVIOU, D.; DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.; EMILE, J.; GIOVANNI, R.; MAUPETIT, P., 1992. Estimation of organic matter digestibility of whole maize plants by laboratory methods. *Animal Feed Science and Technology*, **36** 187-204.
- BAL, M.A.; COORS, J.G.; SHAVER, R.D., 1997. Impact of the maturity of corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *Journal of the Dairy Science* **80**, 2497-2503.
- BARBER, G. D.; GIVENS, D. I.; KRIDIS, M. S.; OFFER, N. W.; MURRAY, I., 1990. Prediction of the organic matter digestibility of grass silage. *Animal Science Feed and Tecnology*, **28**, 115-128
- BARBER, W. P. B.; ADAMSON, A. H.; ALTMAN, J. F. B., 1984. New methods of feed evaluation. En: *Recent Advances in Animal Nutrition-1984*. Ed: W. HARESIGN; D. J. A. COLE, 161-176. Butterworths, Londres (Reino Unido).
- BARBEYTO F., 1999. As explotaciones leiteiras na década dos noventa: pasado, presente... futuro?. *Revista. Xóvenes Agricultores*, 75-82. Julio 1999.
- BARRIÈRE, Y.; ARGILLIER, O.; MICHALET-DOREAU, B.; HEBERT, Y.; GINGO, E.; GIAUFFRET, C.; EMILE, J. C., 1997. Relevant traits, genetic variation and breeding strategies in early silage maize. *Agronomie*, **17**, 395-411.
- BARRIÈRE, Y.; TRAINEAU, R.; EMILE, J. C., 1992. Variation and covariation of silage maize digestibility estimated from digestion trials with sheep. *Euphytica*, **59**, 61-72.
- BASERY, M.; CAMPLING, R.C., 1988. Prediction of temperate forage intake and digestibility using in vitro techniques. *MARDI Research Journal*, **16**, 33-42.
- BEAUCHEMIN, K. A.; FARR, B. I.; RODE, L. M.; SCAALJE, G. B., 1994. Effects of alfalfa silage chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **77**, 1326-1339
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M., 1997. Minimum versus optimum concentrations of fiber in dairy cows diets based on barley silage and concentrates of barley or corn. *Journal of Dairy Science*, **80**, 1629-1639.
- BEEVER, D. E.; MOULD, F. L., 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. En: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Ed: D. I. GIVENS; E. OWEN, R. F. E. AXFORD; H. M. OMED, 15-42. CAB International, Wallingford (Reino Unido).
- BERTHIAUME, R., LAFRENIÈRE, C.; PETIT, H.; LAPIERRE, H., ROBITAILLE, L., 1998. Stratégies permettant de maximiser la valeur alimentaire des fourrages. Symposium sur les bovins laitiers. Conseil des Productions animaux du Quebec. Quebec, Canadá, pp 39-46

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H., 1977. Prediction and improved estimation in linears models. John Wiley & Sons and Akademik Verlag, Berlín (Alemania). *Citado en Traxler et al., 1998.*

BLAXTER, K. L., 1967. The Energy Metabolism of Ruminants. Hutchinson Sci. and Technical. Londres (Reino Unido), 329pp.

BLAXTER, K.L., 1969. The efficiency of Energy Transformations in Ruminants. En: Energy Metabolism of Farms Animals, Proc. of the 4th Symposium, 1967. Ed.: K.L. BLAXTER, J. KIELANOWSKI; G. A. THORBEEK, 21-28. Oriel Press Ltd., New Castle upon Tyne, England (Reino Unido).

BLAXTER, K. L.; GRAHAM, N. M.; WAINMAN, F. W., 1956. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. *British Journal of Nutrition*, **10**, 69-91.

BOLSEN, K. K. 1995. Silage: basic principles. En: Forages. Volume II: The science of grassland agriculture, 163-176. Ed: R. F. BARNES; D. A. MILLER; C. J. NELSON.. Iowa State University Press, Ames Iowa, EEUU.

BRADY, C.J., 1961. The leaf proteases of *Trifolium repens*. *Biochemistry Journal*, **78**, 631-640.

BRAITHWAITE, G. D., 1987. Carbohydrate to N ratio and silage quality. 8th Silage Conference. AFRC Institute for Grassland and Animal Production, p. 89. Hurley, Reino Unido.

BRAVO, M. V.; OREGUI, L. M., 1988. Estudio de la calidad fermentativa y nutritiva de los silos de la comunidad autónoma vasca en relación a su contenido en materia seca. *Actas de la XXVIII Reunión Científica de la SEEP*, pp 377-384.

BRICHETTE-MIEG, I.; MORENO-GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ, A., 2001. Variability of european maize landraces for forage digestibility using NIRS. *Maydica*, **46**, 245-252.

BUCKMASTER, D. R., 2000. Particle size in dairy rations. En: *Recent Advances in Animal Nutrition* 2000, 109-128. Ed: P. C. GARNSWORTHY; J. WISEMAN. Nottingham University Press. Nottingham, Reino Unido.

BUNTING, L. D.; HOWARD, M. D.; MUNTIFERING, R. B.; DAWSON, K. A.; BOLING, J. A., 1987. Effect of feeding frequency on on forage fiber and nitrogen utilization in sheep. *Journal of Animal Science*, **64**, 1170-1177.

CALCEDO, V. El futuro de la OCM de la leche y los productos lácteos y del régimen de cuotas y sus consecuencias para España. *Seminario de la Asociación Española de Economía Agraria* (AEEA-IDEGA). Facultad de Veterinaria de Lugo (USC), 13-14 de Marzo 2003

CAMMELL S. B., 1977. Techniques for the measurement of voluntary feed consumption and the output of faeces and urine by sheep. En: *Equipment and techniques used for research into the intake and digestion of forages by sheep and calves. Section 1*. Grassland Research Institute, Technical Report nº 24, 20 pp.

CAMPO, L.; MORENO-GONZÁLEZ, J., 2003. Evaluación del rendimiento, digestibilidad y otros caracteres de maíz forrajero en diferentes fechas de recolección. En: *Pastos, Desarrollo y Conservación*. Ed: A. B. Robles, E. Ramos, M. C. Morales, E. de Simón, J.L. González y J. Boza. Junta de Andalucía. Granada (España), 277-283.

CAMPO, L., 1999. Efecto de la competencia de plantas en el rendimiento, caracteres agronómicos y estimación de los parámetros genéticos en *Zea Mays*, L. Tesis doctoral. Universidad de Santiago. Lugo (España).

CARPINTERO, C.M., HENDERSON, A.R., McDONALD, P. The effect of some pre-treatments on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass and Forage Science*, **34**, 311-315.

CARTER, P.R.; COORS, J.G.; UNDERSANDER, D.J.; ALBRECHT, K.A.; SHAVER, R.D., 1992. Corn hybrids for silage: an update. En: *Proceedings of the Annual Corn and Sorghum Research Conference*, 141-164. Ed: D. WILKINSON. American Seeds Trade Association. Chicago (EEUU).

CASTLE, M.E.; RETTER, W. C.; WATSON, J.N. 1979. Silage and milk production: comparisons between grass silage of three different chop lengths. *Grass and Forage Science*, **34**, 293-301.

CASTRO, J.; FLORES, G.; ARRAEZ, A., 1977. Efecto del presecado en la calidad del ensilaje para las condiciones gallegas. Aplicación al caso de las rotopacas encintadas. *Memoria CIAM 1997*. 123-131

CASTRO, J.; FLORES, G; ARRÁEZ, A., 1998. Cadenas de trabajo para ensilado de hierba. *Cooperación Galega. Revista de la Asociación Galega de Cooperativas Agrarias*, **39**, 1-15.

CASTRO, P.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; FLORES, G., 1996. Analysis of mixed sward silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress*. Winnipeg (Canadá). ID nº 1043.

CASTRO, P.; FLORES, G; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 1995. Análisis de ensilados de pradera mixta mediante NIRS: determinación de proteína bruta y fibra ácido detergente. *Actas de la XXXVI Reunión Científica de la SEEP*, 229-232.

CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CARDELLE, M., 2001. Predicción del valor nutritivo de ensilajes de maíz mediante NIRS. *Actas de la XLI Reunión Científica de la SEEP*. Alicante, 2002 pp.407-411

- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J., 2002a. Nutritive quality of herbage silages by NIRS: dried or undried samples?. 19th General Meeting of the European Grassland Federation. La Rochelle, Francia, 27-30 Mayo 2002, 190-191.
- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J.; DÍAZ-VILLAMIL, L. 2003. Nutritive quality of maize silages by NIRS. 11th *International Conference on Near-Infrared Spectroscopy*, Córdoba, España, 6-11 Abril 2003.P.5.93.
- CASTRO, P.; FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; DÍAZ-VILLAMIL, L., 2002b. Estrategias de calibración NIRS para determinar parámetros nutritivos en ensilajes de hierba. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*. Lleida, 2002 pp.475-478
- CASTRO, P.; GONZÁLEZ-QUINTELA, A.; PRADA-RODRÍGUEZ, D., 1990. Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en muestras de pradera. *Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP*. San Sebastián, 1990 pp.200-207
- CHAMBERLAIN, D. G.; (1987). The silage fermentation in relation to the utilisation of nutrients in the rumen. *Process Biochemistry*, **22**, 60-63.
- CHAMBERLAIN, A. T.; WILKINSON, J. M., 1996. *Feeding the dairy cow*. Chalcombe Publications. 241 pp. Marlow, Bucks, Reino Unido.
- CHANDLER, J.A.; JEWELL, W.J.; GOSSETT; J.M. ; VAN SOEST, P.J. ; ROBERTSON, J.B.,1980. Predicting methane fermentation biodegradability. *Biotechnology and Bioengineering Symposium* No. 10, 93-107.
- CHARMLEY, E.; THOMAS, C., 1987. Wilting of herbage prior to ensiling: effects on conservation losses, silage fermentation and growth of beef cattle. *Animal Production*, **45**, 191-203.
- CHASTAIN, J. P.; HOLMES, B. J.; LINN, J. G., 1998. Planning bunker silos for high quality forage. En: *Fourth International Dairy Housing Conference*, 320-327. Ed: J. P. CHASTAIN. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, Michigan, (EEUU)
- CHERNEY, D. J. R.; CHERNEY, J. H.; LUCEY, R. F., 1993. In vitro digestion kinetics and quality of perennial grasses as influenced by forage maturity. *Journal of Dairy Science* **76**, 790-797
- CHERNEY, J. H.; CHERNEY, D. J. R. (1993). Annual and perennial grass production for silage. Silage production for seed to animal. NRAES-67. Northeast Regional Agriculture Engineering Service, Ithaca, Nueva York, EEUU, pp 9-17.
- CIPOLLONI, M. A.; SCHNEIDER, B. H.; LUCAS, H. L.; PAVLECH, H. M., 1951. Significance of the differences in digestibility of feeds by cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, **10**, 337-343.

CLANCY, M- J.; WILSON, R. K., 1966. Development and application of a new chemical method for predicting the digestibility and intake of herbage samples. *Proceedings of the Xth International Grassland Congress*, Helsinki, pp 445-453.

CLARKE, S.P.; STONE, R.P., 1995. How to handle seepage from farm silos. *Factsheet from the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs*. Ontario (Canadá).

COCHRAN, R. C.; GALYEAN, M. L., 1994. Measurement of in vivo forage digestion by ruminants. En: *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. Ed: G. C. FAHEY Jr. Based on the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization held at the University of Nebraska, Lincoln, on 13-15 April 1994. American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin (EEUU), 613-643.

CONRAD, H. R.; PRATT, A. D.; HIBBS, J. W.; DAVIS, R. R., 1962. Relationships between forage growth stage, digestibility, nutrient intake and milk production in dairy cows. Ohio Agriculture Experimental Station. Research Bulletin 914. Wooster, Ohio, EEUU.

COORS, J. G.; ALBRETCH, K. A.; BURES, E. J., 1997. Ear-fill effects on yield and quality of silage corn. *Crop Science*, **37**, 243-247.

COURTIN, M. G.; SPOELSTRA, S. F., 1990. A simulation model of the microbiological and chemical changes accompanying the initial stage of aerobic deterioration of silage. *Grass and Forage Science*, **45**, 153-165.

COX, W. J.; CHERNEY, D. R.; HANCHAR, J. J., 1998. Row spacing, hybrid, and plant density effects on corn silage yield and quality. *Journal of Production Agriculture*. **11**, 128-134.

COX, W.; CHERNEY, J.; CHERNEY, D.J.; PARDEE, W., 1994. Forage quality and harvest index of corn hybrids under different growing conditions. *Agronomy Journal*, **86**, 277-282.

CPADR (Consellería de Política Agroalimentaria e Desenvolvemento Rural), 2000. Anuario de Estatística Agraria 2000. Xunta de Galicia, 238 pp. Santiago de Compostela (España).

CRASTA, O. R.; COX, W. J.; CHERNEY, J. H., 1997. Factors affecting maize forage quality development in the northeastern USA. *Agronomy Journal*, **89**, 251-256.

CRAWSHAW, R., (1977). An approach to the evaluation of silage additives. *ADAS Quarterly Review*, **24**, 1-15.

CRAWSHAW, R.; HUGHES, J. G., 1978. A national survey of the effectiveness of additives in preventing a clostridial fermentation. *Animal Production*, **26**, 364-373

- CROPPER, M.; FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; DÍAZ-NUÑEZ, M.; CABRERO, M., 1991. Efecto del aditivo del ensilado y de la suplementación con concentrado en la ingestión y productividad de corderos. *Memoria CIAM 1991*, 230-233.
- CUSHNAHAN, A.; GORDON, F. J.; FERRIS, C. P.W.; CHESTNUTT, D. M. B.; MAYNE, C. S., 1994. The use of sheep as a model to predict the relative intakes of silages by dairy cattle. *Animal Production*, **59**, 415-420.
- CUSICANQUI, J.A.; LAUER, J. G., 1999. Plant density and hybrid influence on corn forage yield and quality. *Agronomy Journal*, **91**, 911-915.
- DACCORD, R.; ARRIGO, Y.; VOGEL, R., 1996. Valeur nutritive de l'ensilage de maïs. *Revue Suisse d'Agriculture*, **28**, 17-21.
- DARBY, H.M.; LAUER, J.G., 2002. Harvest date and hybrid influence on corn forage yield, quality and preservation. *Agronomy Journal*, **94**, 559-566.
- DARDENNE, P.; ANDRIEU, J.; BARRIERE, Y.; BISTON, R.; DEMARQUILLY, C.; FEMENIAS, N.; LILA, M.; MAUPETIT, P.; RIVIERE, F.; RONSIN, T., 1993. Composition and nutritive value of whole maize plants fed fresh to sheep. II. Prediction of the in vivo organic matter digestibility. *Annales de Zootechnie*, **42**, 251-270.
- DAVIES, W.E.; GRIFFITH, G.; ELLINGTON, A., 1966. The assessment of herbage legume varieties. II. In vitro digestibility, water soluble carbohydrates, crude protein and mineral content of primary growth of clover and lucerne. *Journal of Agriculture Science (Cambridge)*, **66**, 351-357.
- DAYNARD, T. B.; HUNTER, R. B., 1975. Relationships among whole-plant moisture, grain moisture, dry matter yield and quality of whole-plant corn silage. *Canadian Journal of Plant Science*, **55**, 77-84.
- DEAVILLE, E. R.; FLYNN, P. C., 2000. Near Infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. En: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Ed: D. I. GIVENS; E. OWEN; R. F. E. AXFORD; H. M. OHMED, 247-260. CAB International, Wallingford (Reino Unido).
- De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; ANDRIES, J. I.; BUYSSE, F. X.; VANACKER, J. M., 1988. The use of a cellulase technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of forages. *Animal Feed Science and Technology*, **19**, 247-260.
- De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; De BRABANDER, D.L.; VANACKER, J.M.; BOUCQUE, C.V., 1996. Prediction of the feeding value of grass silages by chemical parameters, in vitro digestibility and near-infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, **60**, 103-115.
- De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; De BRABANDER, D.L.; VANACKER, J.M.; BOUCQUE, C.V., 1997. Prediction of the feeding value of maize silages by chemical

parameters, in vitro digestibility and NIRS. *Animal Feed Science and Technology*, **66**, 211-222.

De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; De BRABANDER, D.L.; VANACKER, J.M.; BOUCQUE, C.V., 1999. Equations to predict digestibility and energy value of grass silages, maize silages, grass hays, compound feeds and raw materials for cattle. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B, Livestock Feeds and Feeding*, **69**, 835-850.

DEINUM, B., 1966. Chemical composition and nutritive value of herbage in relation to climate. En: *The impact of climate on grass production and quality*. Proceedings of the 10th General Meeting of the EGF, 338-350. Ed: H.RILEY; A. SKJELBAG. Norwegian State Research Station, Oslo, Noruega.

DEINUM, B., 1988. Genetic and environmental variation in quality of forage maize in Europe. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **36**, 400-403. DERIEUX, M., 1988. Breeding maize for earliness. Importance, development, prospects. en: *Maize breeding and maize production*. Euromaize'88, 35-46. Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrado (Rep. Serbia).

DEINUM, B.; BAKKER, J. J., 1981. Genetic differences in digestibility of forage maize hybrids. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **29**, 93-98.

DEINUM, B.; STEG, A.; HOF, G., 1984. Measurement and prediction of digestibility of forage maize in the Netherlands. *Animal Feed Science and Technology*, **10**, 301-313.

DEINUM, B.; STRUIK, P. C., 1986. Improving the nutritive value of forage maize. En: *Breeding of silage maize*. 77-90. Ed: O. DOLSTRA; P. MIEDEMA. 13th Congress of the Maize and Sorghum Section, EUCARPIA, Wageningen, Holanda. 9-12 Sept. 1985. PUDOC, Wageningen, Holanda.

DEINUM, VAN ES E VAN SOEST (en Van Soest, P. J., 1985. Definition of fibre in animal feeds. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, 55-70. Eds: W. Haresign y D. J. A. Cole. Butterworths, Reino Unido

DEMARQUILLY, C., 1973. Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: modifications par rapport au forage vert initial. *Annales de Zootechnie*, **22**, 1-35.

DEMARQUILLY, C., 1986. L'ensilage et l'évolution récente des conservateurs. *Bulletin Technique C.R. Z. V.Theix, INRA*, **63**, 5-12.

DEMARQUILLY, C., 1994. Facteurs de variation de la valeur nutritive du maïs ensilage. *INRA Productions Animales*, **7** (3), 177-189.

DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J., 1992. Composition chimique, digestibilité et ingestibilité des fourrages européens exploités en vert. *INRA Productions Animales*, **5** (3), 213-221.

DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J; MICHALET-DOREAU, B.; SAUVANT, D., 1989. Measurement of the nutritive value of feeds. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*.193-211. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext, París, Francia.

DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.; WEISS, P, 1981. L'ingestibilité des fourrages verts et des foin et sa prévision. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 155-167. Ed. INRA publications. París (Francia).

DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J. P.; ANDRIEU, J. P., 1998. Valeurs nutritive et alimentaire des fourrages selon les techniques de conservation: foin, ensilage, enrubannage. *Fourrages*, **155**, 349-369.

DEMARQUILLY, C.; JARRIGE, R, 1981. Panorama des méthodes de prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des Ruminants*. 155-167. Ed. INRA publications, París, Francia

DENNIS, S. M., 1992. Influence of strain composition of silage inoculants on silage quality. *Proceedings of the California Animal Nutrition Conference. Technical Symposium*. Fresno, California, EEUU.

DONALD, A. S.; FENLON, D. R.; SEDDON, B., 1995. The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. *Journal of Applied Bacteriology*, **79**, 141-148.

DONALDSON, E.; EDWARDS, R.A., 1976. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **27**, 536-544. Citado en McDonald et al., (1991).

DOREAU, M.; GRIMAUD, P.; MICHALET-DOREAU, B., 2000. La sous-alimentation chez les ruminants: ses effets sur la digestion. *INRA Productions Animales*, **13**, 247-255.

DOWMAN, M. G.; COLLINS, F. C., 1982. The use of enzymes to predict the digestibility of animal feeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**, 689-696.

DRIEHUIS, F.; OUDE EFERINK, S.J.W.H., 2000. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A Review. *The Veterinary Quarterly*, **22 (4)**, 212-216

DRIEHUIS, F.; OUDE EFERINK, S. J. W. H.; SPOELSTRA, S. F., 1999. Anaerobic lactic acid degradation in maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology*, **87**, 583-594.

DRIEUEHIS, F.; Van WIKSELAAR, P. G., 1996. Effects of addition of formic, acetic or propionic acids to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability. En: (eds) JONES, D.; JONES, R.; DEWHURST, R.; MERRY, R; HAIGH, P. *Proceedings of the 11th International Silage Conference*, Aberystwyth: IGER, 256-257.

DULPHY, J. P., 1980. *Proceedings of the British Grassland Society, Occasional Symposium n° 11*. Brighton (Reino Unido), 107-121.

DULPHY, J.; DEMARQUILLY, C., 1981. Problèmes particuliers aux ensilages. En: *Prèvision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 81-104. Ed. INRA publications. París (Francia).

DULPHY, J. P.; DEMARQUILLY, C.; RÉMOND, B., 1989. Quantités d'herbe ingérées par les vaches laitières, les génissees et les moutons: effet de quelques facteurs de variation et comparaison entre ces types d'animaux. *Annales de Zootechnie* **38**, 107-109.

DULPHY, J. P.; FAVERDON, P; JARRIGE, R., 1989b. Feed intake: the Fill Unit systems. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*. 61-72. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext, París, Francia.

DULPHY, J.; MICHALET-DOREAU, B., 1981. Prévision de l'ingestibilité des ensilages d'herbe. En: *Prèvision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, 169-188. INRA Publications. Versailles (Francia).

DULPHY, J. P.; MICHALET-DOREAU, B., 1983. Comportement alimentaire et mérycique d'ovins et de bovins recevant des fourrages verts. *Annales de Zootechnie*, **32**, 465-474.

DULPHY, J. P.; MICHALET-DOREAU, B.; DEMARQUILLY, C., 1984. Etude comparée des quantités ingerés et du comportement alimentaire et mérycique d'ovins et de bovins recevant des ensilages d'herbe réalisés selon différentes techniques s *Annales de Zootechnie*, **33**, 291-320.

ERDMAN, R., 1993. Silage fermentation characteristics affecting feed intake. *Proceedings of the National Silage Production Conference*, 210-219 Syracuse. New York (EEUU).

ENFIC (European Network of Feed Information Centres), 1997. In vivo digestibility for the organic components in ruminant diets. En: *Identification and harmonization of baseline data to be included in the database. Annex V of final report of the EU AIR concerted action "Animal Feed and Nutrition"*. Publicación electrónica accesible en: home.planet.nl/~enfic/documents/Finalrepcaafndec2001corr1.doc

FENLON, D. R.; WILSON, J.; WEDDELL, J. R., 1989. The relationship between spoilage and *Listeria monocytogenes* contamination in bagged and wrapped big bale silages. *Grass and Forage Science*, **44**, 97-100.

FERNÁNDEZ-LEICEAGA, X.; LÓPEZ-IGLESIAS, E., 2000. *Estrutura Económica de Galiza*. Ediciones Laiovento, 596 pp. Santiago de Compostela, Galicia (España).

FINLEY, J.W.; PALLAVICINI, C.; KOHLER, G.O. Partial isolation and characterisation of *Medicago sativa* leaf proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **31**, 156-161.

FLACHOWSKY, G.; SCHNEIDER, M., 1992. Influence of various straw-to-concentrate ratios on *in sacco* dry matter degradability, feed intake and apparent digestibility in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, **38**, 199-217.

FLIPOT, P.; MASON, W.; LALANDE, G., 1984. Chemical composition and animal performance of grass forage of varying maturity stored as hay or silage. *Animal Feed Science and Technology*, **11**, 35-44.

FLORES, G., 1985. Valor nutritivo del ensilado de hierba de pradera en Galicia. *Memoria del Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM)* Xunta de Galicia. 136-139.

FLORES, G., 2000. La contaminación por efluentes de ensilaje en las explotaciones gallegas. *Ciclo de conferencias sobre xestión y control de residuos gandeiros*. Escola Politécnica Superior, 25 Abril 2000. Lugo (España)

FLORES, G.; AMOR, J.; RESCH, C.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 2000a. Valor nutritivo del ensilaje de hierba en las explotaciones ganaderas de Galicia. *Pastos XXX* (2), 149-191

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 1991. Evaluación de Equipos de Ensilado de hierba. Efecto del tipo de cosechadora (Doble Corte, Mayales Simple, Autocargador Picador, Rotoempacadora) sobre los costes de producción y la calidad fermentativa de los ensilados. *Memoria CIAM*. 1991, 210-222

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A., 1996. Efecto de la estrategia de corte y de la utilización de un aditivo biológico sobre el valor nutritivo del ensilaje de pradera de raigrás inglés. *Actas XXXVI Reunión Científica SEEP*, 239-243.

FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A. CASTRO, J., 1997. Aportación a la mejora de la calidad del ensilado de hierba de Galicia. *Seminario sobre Uso de Aditivos para Ensilado, Valor Nutritivo, Estabilidad Aeróbica y Control Medioambiental*. Villaviciosa (Asturias), 3-4 Diciembre 1997. CIATA, Consejería de Agricultura del Principado de Asturias, 121 pp.

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; AMIL, G.; BREA, T., 1998. Evaluación de un aditivo biológico para ensilado de hierba: Efecto sobre la fermentación y digestibilidad del ensilado. *Actas XXXVIII Reunión Científica SEEP*, 295-298.

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; AMIL, G.; BREA, T.; GONZÁLEZ-WARLETA, M., 1999. Effect of a biological additive on silage fermentation, digestibility, ruminal degradability, intake and performance of lactating

dairy cattle in Galicia (NW Spain). *XIIth. International Silage Conference. Silage Production in relation to animal performance, animal health, meat and milk quality.* Uppsala-Suecia pp 181-182.

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; AMIL, G.; BREA, T.; GONZÁLEZ-WARLETA, M., G., 2000b. Memoria final de resultados del Proyecto INIA SC97 072, titulado "*Uso de aditivos biológicos en el ensilado de hierba para la producción de leche: Efecto sobre la calidad de fermentación, valor nutritivo y productividad animal*", realizado en el CIAM entre 1997 y 2000, coordinado por G. Flores. (resultados no publicados).

FLORES, G.; CASTRO, J.; GONZALEZ-ARRAEZ, A., CASTRO, P.; CARDELLE, M.; AMIL, G., 2000c. *Informe final del Proyecto PGIDT005302PR "Valor nutritivo del ensilaje de maíz en Galicia. Estudio de los factores de variación"*. Xunta de Galicia. 42 pp.

FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J.; CARDELLE, M.; BREA, T.; CASTRO, M.P.; AMIL, G., 2000d. Evaluación de aditivos comerciales para ensilado de hierba. *III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*. Bragança-A Coruña-Lugo, 7-13 mayo 2000, pp 621-626.

FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A.; CASTRO, J., 1993. Evaluación de equipos de ensilaje de hierba. *Memoria CIAM 1993*, 126-128.

FLORES, G.; GONZÁLEZ-ARRÁEZ, A.; CASTRO, J.; AMOR, J., 1993. Evaluación de aditivos comerciales para el ensilaje de hierba. *Memoria del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM)* Xunta de Galicia, 119-122.

FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A; CASTRO, J.; CASTRO, P.; CARDELLE, M., 2002a. Variabilidad de las determinaciones analíticas de silos de hierba de explotaciones gallegas muestreados mediante sonda. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 445-450.

FLORES, G.; GONZALEZ-ARRAEZ, A; CASTRO, J.; PIÑEIRO, J.; CARDELLE, M., 2002b. Efecto de la estrategia de aprovechamiento del pasto para ensilar sobre la producción y composición química de tres gramíneas pratenses en el período primavera-verano. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 479-484

FONNESBECK, P. V.; WARDEH, M. F.; HARRIS, I. E., 1984. Mathematical models for estimating energy and protein utilization of feedstuffs. *Bulletin 508, Utah Agricultural Experiment Station*, Logan, Utah (EEUU).

FORSEK, Z.; AGANOVICK, N., 1967. *Veterinaria (Sarajevo)*, **16**, 181.

GALDUROZ, G.; IRIARTE, J., 1996. La calidad de los forrajes en Navarra. *Navarra Agraria, Mayo-Junio 1996*, 40-46.

GALVEZ, J. F.; ROSELLÓ, B., 1971. Digestibilidad de los alimentos para el ganado. Ed: Ministerio de Agricultura. Madrid (España), 61-75.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; IGARZABAL, A.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003a. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de maíz mediante la técnica de producción de gas. *ITEA Vol Extra*, **24**: 708-710.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; IGARZABAL, A.; LORENZO, L.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003b. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. I. Cálculo de las ecuaciones de predicción. *ITEA Vol Extra*, **24**: 711-713.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; LORENZO, L.; IGARZABAL, A.; OREGUI, L.M.; FLORES, G., 2003c. Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. II. Validación de las ecuaciones de predicción. *ITEA Vol Extra*, **24**: 714-717.

GERSHUN, V. I., 1973. *Veterinariya (Moscow)*, **8**, 36.

GIARDINI, A.; GASPARI, F.; VECCHIETINI, M; SCHENONI, P., 1976. Effect of maize silage harvest stage on yield, plant composition and fermentation losses. *Animal Feed Science and Technology*, **1**, 313-326.

GIVENS, D. I.; COTTYN, B. G.; DEWEY, P. J. S.; STEG, A., 1995. A comparison of the neutral detergent-cellulase method with other laboratory methods for predicting the digestibility *in vivo* of maize silages from three European countries. *Animal Feed Science and Technology*, **54**, 55-64.

GIVENS, D. I.; DEAVILLE, E. R., 2001. Comparison of major carbohydrate fractions and cell wall digestibility in silages made from older and newer genotypes grown in the UK. *Animal Feed Science and Technology*, **89**, 69-82.

GIVENS, D.I.; EVERINGTON, J.M.; ADAMSON, A.H., 1989. The digestibility and metabolisable energy content of grass silage and their prediction from laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, **24**, 27-43.

GIVENS, D. I.; EVERINGTON, J. M.; ADAMSON, A. H., 1990. The nutritive value of spring-grown herbage produced on farms throughout England and Wales over 4 years. II. The prediction of apparent digestibility *in vivo* from various laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, **27**, 173-184.

GIVENS, D. I.; MOSS, A.R.; ADAMSON, A.H., 1993. Prediction of the digestibility and energy value of grass silage conserved in big bales. *Animal Feed Science and Technology*, **41**, 297-312.

GOERING, H. K.; HEMKEN, R. W.; CLARK, N. A.; VANDERSALL, J. P., 1969. Intake and digestibility of corn silages of different maturities, varieties and plant populations. *Journal of Animal Science*, **29**, 512-518.

GOERING, H.; VAN SOEST, P., 1970. *Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and some applications)*. U.S.D.A. Agriculture Handbook n° 379, 1-12, 20 pp. EEUU

GORDON, F. J., 1980. The effect of silage type on the performance of lactating cows and the response to high level of proteins in the supplement. *Animal Production*, **30**, 29-37

GORDON, F. J., 1985. Nutritional implications of machinery use-intake and performance. En: *Machinery for Silage*. BGS Occasional Symposium n° 17, 68-77. Ed: J. K. NELSON; E. R. DINNIS. British Grassland Society, The Animal and Grassland Research Institute, Hurley, Reino Unido.

GORDON, F.J., 1989. A further study on the evaluation through lactating cattle of a bacterial inoculant as an additive for grass silage. *Grass Forage Science*, **44**, 353-357

GORDON, F. J.; COOPER, K. M.; PARK, R. S.; STEEN, R. W. J., 1997. The prediction of intake potential and organic matter digestibility of grass silages by near infrared spectroscopy analysis of undried samples. *Animal Feed Science and Technology*, **70**, 339-351.

GOUDKOV, A. V.; SHARPE, M. E., 1965. Clostridia in dairying. *Journal of Applied Bacteriology*, **28**, 63-73.

GOUET, P.; GIRARDEAU, J. P.; RIOU, Y., 1977. *Animal Feed Science and Technology*, **2**, 297.

GRANT, R. J.; COLENBRANDER, V. F.; MERTENS, D. R., 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of silage particle size. *Journal of Dairy Science*, **73**, 1834-1842.

GRASSLAND RESEARCH INSTITUTE, 1961. Determination of the dry.matter content of herbage, faeces and silage. En: *Research Techniques in use at the Grassland Research Institute*.

GREENHILL, W.L., 1964. Plant juices in relation to silage fermentation.1. The role of the juice. *Journal of the British Grassland Society*, **19** (1), 30-37.

GROSS, F. A.; AVERDUNK, G., 1974. Der Gehalt an Nährstoffen in Maissilagen, ihre Verdaulichkeit und ihre Beziehungen zum Trockensubstanzgehalt. *Das Wirtschaftseigene Futter*, **20**, 66-74.

HAIGH, P. M., 1987. The effect of dry matter content and silage additives on the fermentation of grass silages in commercial farms. *Grass and Forage Science*, **42**, 1-18

- HAIGH, P. M., 1995. A note on the relationship between oven and toluene determined dry matter concentration in bunker-made grass silages. *Irish Journal of Agricultural Research*, **34**, 63-67.
- HARRIS, C. F.; RAYMOND, W. F., 1963. The effect of ensiling on crop digestibility. *Journal of the British Grassland Society*, **18**, 204-212.
- HARRISON, J. H., 1996. Managing corn silage for maximum nutritive value. *Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Ithaca, Nueva York, EEUU, 29-37.
- HARRISON, J.H.; BLAUWIEKEL, R.; STOKES, M.R., 1994. Fermentation and Utilization of Grass Silage. *Journal of the Dairy Science*, **77**, 3209-3235.
- HARRISON, J. H.; JOHNSON, L.; HUNT, C.; DOGGETT, C. G.; SHINNERS, K.; SAPIENZA, D., 1997. Mechanical processing of corn silage: our current understanding of the benefits. *Official Proceedings of the Pacific-Northwest Animal Nutrition Conference*, Portland, Oregon, EEUU, 55-69.
- HARTLEY, R.D., 1974. Prediction of the digestibility of forages by treatment by treatment of their cell walls with cellulolytic enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **25**, 947-956.
- HAVILAH, E. J.; KAISER, A. G.; NICOL, H., 1995. Use of a kernel milkline score to determine stage of maturity in maize crops harvested for silage. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **35**, 739-743.
- HEANEY, D. P., 1979. Sheep as pilot animals. En: *Standardization of analytical methodology for feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979*. Ed: W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM. IDRC-134e. 44-8.
- HENDERSON, A. R., 1987. Silage making: Biotechnology on the farm. *Outlook on Agriculture*, **16** (2), 89-94.
- HENDERSON, A. R., 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*, **45**, 35-36.
- HENDERSON, A. R.; McDONALD, P. (1976). Citados en McDonald et al., (1991), p. 258.
- HERON, S. J. E.; WILKINSON, J. F.; DUFFUS, C. M., 1993. Enterobacteria associated with grass and silage. *Journal of Applied Bacteriology*, **75**, 13-17.
- HERTER, U.; ARNOLD, A.; SCHUBGER, F.; MENZI, M., 1996. Variety, location, year and maturity determine forage maize quality. *Agrarforschung*, **3**, 11-12.
- HOFFMAN, P. C., 2003. New developments in analytical evaluation of forages and total mixed rations. Publicación electrónica de la Universidad de Wisconsin (EEUU) accessible en <http://www.uwex.edu/ces/forage/wfc/proceedings2003/hoffman.htm>.

HOGLUND, C. R., 1964. Comparative losses and feeding value s of alfalfa and corn silage crops when harvested at different moisture levels and stored in gas-tight and conventional tower silos: An appraisal of research results. *Michigan State University, Department of Agriculture Economics. Mimeo 946*.

HONIG, H., 1991. Reducing losses during storage and unloading of silage. En: *Forage Conservation towards 2000. Proceedings of the European Grassland Federation*, 116-28. Eds: PHLOW, G.; HONIG, H. Landbauforschung Völkenrode Sonderheft 123. Braunschweig, Alemania.

HUNT, C. W.; KEZAR, W.; WINANDE, R., 1989. Yield, chemical composition and ruminal fermentability of corn whole plant, ear and stover as affected by maturity. *Journal of Production Agriculture*, 2, 357-361.

HONIG, H.; ROHR, K., 1982. The influence of chopping on losses by undigested kernels and kernels fragments of maize, when feeding ruminants. En: *Proceedings of the seminar on "Maize as basic feed for beef production"*, 32-41. Ed:H. J. OSLAGE; R. DACCORD. FAL, Braunschweig (Alemania).

HUNTER, J.L .; TeKRONY, D. M.; MILES, D. F.; EGLI, D. B., 1991. Corn Seed maturity indicators and their relationship to uptake of carbon-14 assimilates. *Crop Science*, 31, 1309-1313

INSTITUTO GALEGO DE ESTATISTICA, 2000. *Enquisa de bovino 2000*. Publicación electrónica de la Consellería de Economía. Xunta de Galicia. (http://www.xunta.es/auto/ige/ga/economicas/agro_pesca/bovino/index2000.htm).

JARRIGE, R.; DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J.P., 1974. The voluntary intake of forages. *Proceedinds of the 5th General Meeting of the European Grassland Federation*. Uppsala, Suecia. pp 98-106.

JARRIGE, R.; DEMARQUILLY, C.; DULPHY, J. P.; HODEN, A.; JOURNET, M.; BÉRANGER, C.; GEAY, Y.; MALTERRE, C.; MICOL, D.; PETIT, M.; ROBELIN, J., 1979. Le système des Unités d'Encombrement pour les bovins. *Bulletin Technique CRZV Theix, INRA*, 38, 57-59.

JASTER, E. H., 1995. Legume and grass silage preservation. En: *Post-Harvest physiology and preservation of forages*, 91-115. Ed: K. J. MOORE; M. A. PETERSEN. Crop Science Society of America Special Publication nº 22, Wisconsin, (EEUU)

JOHNSON, K. M., 1984. *Bacillus cereus* foodborne illnes: An update. *J. Food Prot*, 47 145-153.

JOHNSON, L.; HARRISON, J. H.; HUNT, C.; SHINNERS, K.; DOGGETT, C. G.; SAPIENZA, D., 1999. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: A contemporary review. *Journal of Dairy Science*, 82, 2813-2825.

JONES, B.A.; HATFIELD, R.D.; MUCK, R.E., 1995. Characterization of proteolysis in alfalfa and red clover. *Crop Science*, **35**, 537-541

JONES, D. I. H.; HAYWARD, M. V., 1973. A cellulase digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **24**, 1419-1426.

JONES, D. I. H.; HAYWARD, M. V., 1975. The effect of pepsin-pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **26**, 711-718.

JUDKINS, M. B.; KRYSL, L. J.; BARTON, R. K., 1990. Estimating diet digestibility: A Comparison of 11 techniques across six different diets fed to rams. *Journal of Animal Science*, **68**, 1405-1415.

KEADY, T. W. J.; O'KIELY, P., 1996. Effects of potassium and nitrogen fertilisation and formic acid treatment on silage composition, in-silo losses and feeding value. En: Proceedings of the 11th Silage Conference, 128-129. Ed: D. I. H. JONES, R. JONES, R. DEWHURST, R. MERRY, P. M. HAIGH. IGER Aberystrwyth, Gales, Reino Unido.

KEADY, T. W. J.; STEEN, R. W. J., 1994. Effects of treating low dry-matter grass with a bacterial inoculant on the intake and performance of beef cattle and studies on its mode of action. *Grass and Forage Science*, **49**, 438-446

KEHLER, W.; SCHOLZ, H., 1996. Botulismus des Rindes. *Übersichten zur Tierernährung*, **24**, 83-91.

KEMP, A.; GEURINK, J.H.; HAALSTRA, R.T.; MALENSTEIN, J., 1977. *Das Wirtschaftseigene futter*, **23**, 53.

KERTZ, A. F.; BARTON, B. A. ; REUTZEL, L. F., 1998. Relative Efficiencies of Withers Height and Body Weight Increase from Birth Until First Calving in Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science*, **81**, 1479-1482.

KITESSA, S.; FLINN, P. C.; IRISH, G.G., 1999. Comparison of methods used to predict the *in vivo* digestibility of feeds in ruminants. *Australian Journal of Agriculture Research*, **50**, 825-841.

KORVA, J.; TUORI, M., 1986. Prediction of the digestibility of silage and hay from the crude fibre and crude protein content. *Journal of Agricultural Science in Finland*. **58**, 175-183.

KUNG, L.; CHEN, J. H.; KRECK, E. M. ; KNUTSEN, K., 1993. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **76**, 3763-3770.

KUNG, L.; MUCK, R. E., 1997. Animal Response to silage additives. *Proceedings of the Silage: Field to Feedbunk, North American Conference*. NRAES -99. 200-210.

LAUER, J., 1999. Kernel milkline: how should we use it for harvesting silage?. *Agronomy Advice, April 1999*. University of Wisconsin. Agronomy Department. Madison, Wisconsin (EEUU).

LINDGREN, S.; PETTERSON, K.; KASPRSON, A.; JONSSON, A.; LINGVALL, P., 1985. Microbial dynamics during aerobic deterioration of silages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **36**, 765-764.

LOWRY, T.; SCHUMANN, L. M., 1956. Silo fillers disease. A syndrome caused by nitrogen dioxide. *Journal of the American Medical Society*, **162**, 153-160.

LUCAS, H.L.; SMART, W.W.G., 1959. Chemical composition and digestibility of forages. Report to XVIth Southern Pasture and Forage Crop Conference, 23-26. Citado en: Carlier et al., (1976).

MAFF, 1992. *Feed composition – UK tables of Feed Composition and Nutritive Value for Ruminants*, 2nd Edition, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Standing Committee on Tables and Feed Composition, Chalcombe Publications, Canterbury (Reino Unido), 69 pp.

MAHANNA, B., 1994. Proper management assures high-quality silage, grains. *Feedstuffs*, 12-15. January 10.

MAHANNA, B., 1996. Troubleshooting silage problems. *Publicación electrónica en: <http://www.pioneer.com/consult/research/trouble.html>*.

MAHANNA, B., 1998. Appropriato management del silomais e delle granelle umide insilate. En: *Speciale Silomais. Numero speciale di Farmer News-estate 1998*. 33-40.

MALTERRE, C., 1976. Different ways of utilizing the maize crop for beef production. En: *Improving the nutritional efficiency of beef production*. Ed: J. C: TAYLOR; J. M. WILKINSON, 140-164. CEC, Luxemburgo.

MAPA, 1995. Métodos Oficiales del MAPA. *BOE n° 52, del 2 de marzo*, 7167.

MARSH, R., 1979. The effects of wilting on fermentation in the silo and on the nutritive value of silage. *Grass and Forage Science*, **34**, 1-10.

MAYNE, C. S., 1992. Supplementation of grass silage. Recent developments. En: *Forward with grass into Europe*, 40-65. Ed: A. HOPKINS;

MAYNE, C. S.; STEEN, R. W. J., 1990. Recent research on silage additives for milk and beef production. *63rd Annual Report 1989-1990, Agricultural Research Institute of Northern Ireland*, pp. 31-42.

- MBWILE, R.P.; UDEN, P., 1991. Comparison of laboratory methods on precision and accuracy of predicting forage organic matter digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, **32**, 243-251.
- McALLAN, A. B.; PHIPPS, R. H., 1977. The effect of sampling date and plant density on the carbohydrate content of forage maize and the changes that occur on ensiling. *Journal of Agricultural Science*, **89**, 589-597.
- McDONALD, P., 1979. Silage fermentation. En: *Forage Conservation in the 80's. E.G.F. Occasional Symposium n° 11*, 67-75. Ed: C. THOMAS. British Grassland Society. Brighton, Reino Unido.
- McDONALD, P.; EDWARDS, R.A., 1976. The influence of conservation methods on digestion and utilization of forages by ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*, **35**, 201-211.
- McDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D., 1979. En: *Nutrición Animal*. Ed. Acribia, Zaragoza (España), 462 pp.
- McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S., 1991. The Biochemistry of Silage, 2nd edition. Chalcombe Publications, 340 pp. Marlow, Bucks, Reino Unido.
- McGECHAN, M. B., 1990. A review of losses arising during conservation of grass forage: Part 2, storage losses. *Journal of Agriculture Engineering Research*, **45**, 1-30.
- McKERSIE, B.D., 1985. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forage. *Agronomy Journal*, **77**, 81-86.
- MERTENS, D.R., 1973. PhD Thesis. Cornell University. Ithaca, Nueva York, EEUU. (citado en Van Soest, 1985).
- MICHALET-DOREAU, B.; DEMARQUILLY, C., 1981. Prévision de la valeur énergétique des ensilages d'herbe. En: *Prévision de la valeur nutritive des aliments des Ruminants*. 105-117. Ed. INRA publications, París, Francia.
- MICHELL, P. J., 1973. Relations between fibre and water-soluble carbohydrate contents of pasture species and their digestibility and voluntary intake by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, **13**, 165-170.
- MIDDELHOVEN, W. J.; Van BAALEN, A. H. M., 1988. Development of the yeast flora on whole-crop maize during ensiling and subsequent aerobiosis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **42**, 199-207
- MILLER, W.J.; CLIFTON, C.M., 1965. Relation of dry matter content in ensiled material and other factors to nutrient loss by seepage. *Journal of Dairy Science*, **48**, 917-923.

- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD, 1987. *Feed composition. U.K. tables of feed composition and nutritive value for ruminants*. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, Reino Unido. 52 pp.
- MINSON, D. J., 1982. Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B*, **52**, 592-614.
- MINSON, D. J., 1987. Relationships of conventional and preferred fractions to determined energy values. En: *Standardization of analytical methodology for feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979*. Ed: W.J. PIDGEN; C.C. BALCH; M. GRAHAM. IDRC-134e. 72-78.
- MINSON, D., 1990. *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press Inc., 483 pp. Nueva York (EEUU).
- MINSON, D. J.; HARRIS, C. E.; RAYMOND, W. F.; MILFORD, R., 1964. The digestibility and voluntary intake of S22 and H1 ryegrass, S170 tall fescue, S48 timothy, S215 meadow fescue and Germinal cocksfoot. *Journal of the British Grassland Society*, **19**, 298-305.
- MORENO-GONZÁLEZ, J.; BRICHETTE-MIEG, I.; LÓPEZ, A.; ALONSO, R. C., 2002. Parámetros genéticos del rendimiento, digestibilidad y otros caracteres del maíz (*Zea Mays*, L.) forrajero. *Actas de la XLII Reunión Científica de la SEEP*, 413-418.
- MORENO-GONZÁLEZ, J.; CASTRO, P.; LOSADA, E.; LÓPEZ, A., 1993. Variabilidad y selección de genotipos de maíz forrajero para valor nutritivo utilizando el NIRS. *Actas de la XXXIII Reunión Científica de la SEEP*, 161-168.
- MUCK, R.E., 1990. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. II. Fermentation products and starch hydrolysis. *Trans. American Society of Agricultural Engineering*, **33**, 373-381
- MUCK, R. E., 1998. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, **71**, 2992-3002.
- MUCK, R.E., DICKERSON, J.T. Storage temperature effects on proteolysis in alfalfa silage. *Trans. American Society of Agricultural Engineering*, **31**, 1005-1009.
- MUCK, R. E.; KUNG, L., 1997. Effects of silage additives on ensiling. *Proceedings of the Silage: Field to Feedbunk, North American Conference*. NRAES -99, 187-199.
- MUCK, R. E.; O'KIELY, P.; WILSON, R.K., 1991. Buffering capacities in permanent pasture grasses. *Irish Journal of Agriculture Research*, **30**, 129-141.
- MURDOCK, F. R.; HOGDSON, A. S.; RAMAIAH, G. D.; HEINEMANN, W. W.; BLOSSER, T. H., 1964. Relationships of various digestibility measurements and stage of maturity on orchard-grass and a timothy-ladino clover mixture. *Journal of Dairy Science* **47**, 113 (Abstract)

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 2001*, 7th Ed. National Academy Press, Washington DC, EEUU. 381 pp.

NOCEK, J. E., 1997. Bovine acidosis: implications on lameness. *Journal of Dairy Science*, **80**, 1005-1028.

NORRIS, K. H.; BARNES, R. F.; MOORE, J. E.; SHENK, J. S., 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science*, **43**, 889-897.

NOUSIAINEN, J.; RINNE, M.; HELLAMAKI, M.; HUHTANEN, P., 2003. Prediction of the digestibility of the primary growth of grass silages harvested at different stages of maturity from chemical composition and pepsin-cellulase solubility. *Animal Feed Science and Technology*, **103**, 97-111.

NOUSIAINEN, J.; RINNE, M.; HELLAMAKI, M.; HUHTANEN, P., 2003. Prediction of the digestibility of the primary growth and regrowth grass silages from chemical composition, pepsin-cellulase solubility and indigestible cell-wall content. *Animal Feed Science and Technology*, **110**, 61-74.

NOZIERE, P.; MICHALET-DOREAU, B., 2000. *In sacco* methods. En: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. Ed: J. P. F. D`MELLO. CAB International, 233-254, Wellington (Reino Unido).

OFFER, N., 1993. Background to the new *in vivo* ME silage prediction equation. *Proceedings of the 1993 Society of Feed Technologists Conference*, Reading (Reino Unido)

O`KIELY, 1991. Silage production: principles and additives. *Irish Farmer`s Journal*, May 4, 1991, 49-50.

O`KIELY, P., 1997. The use of silage additives: effects on conservation and nutritive value. *Seminario sobre uso de aditivos para ensilados. Valor nutritivo, estabilidad aeróbica y control medioambiental*. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria. Conserjería de Agricultura del Principado de Asturias, 3-4 Diciembre 1997, Villaviciosa, Asturias (España), 46 pp.

O`KIELY, P.; FLYNN, A. V., 1987. Grass silage. *An Foras Taluntais, Beef Series* n° 5, 45 pp.

O`KIELY, P.; FLYNN, A. V.; POOLE, D. B. R.; ROGERS, P. A. M., 1989. Sulphuric acid as a silage preservative. 3. Effects of adding copper to sulphuric acid on silage composition and intake and on animal performance and copper status. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **28**, 25-34.

O`KIELY, P; MUCK, R. E., 1998. Grass silage. En: *Grass for Dairy Cattle*, 223-251. Ed: J. H. CHERNEY; D. J. R. CHERNEY. CAB International (Reino Unido)

- O'KIELY, P.; O'RIORDAN, E.G.; MOLONEY, A.P., 1997. Grass ensilability indices as affected by the form and rate of inorganic nitrogen fertilizer and the duration to harvesting. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **36**, 93 (abstract).
- O'KIELY, P.; TUNNEY, H., 1997. Silage conservation characteristics of grass that received a range of rates of phosphorus fertilizer. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **36**, 104 (abstract).
- ØRSKOV, B., 1999. Technique of *in vivo* determination of intake and digestibility of forages. En: *Evaluation of the nutritive value of Mediterranean roughages. Results and researches carried out within the CAMAR EC/DG.VI Programme, contract 8001-CT90-0022.*, 37-38. Ed. J.L. TISSERAND. CIHEAM/EC-DG.VI, Zaragoza (España)
- ØRSKOV, E. R., 2000. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability. En: *Forage evaluation in Ruminant Nutrition*. Ed: D. I. GIVENS; E. OWEN; R.F.E. AXFORD; H. M. OMED. CABI Publishing, 175-188. Wallingford (Reino Unido).
- ØRSKOV, E. R.; HOWELL, F. D.; MOULD, F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, **5**, 195-213.
- OSHIMA, M.; McDONALD, P., 1978. A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensilage. *Journal of Science of Food and Agriculture*, **29**, 497-505.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R., 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, **76**, 275-286.
- PAPADOPOULOS, Y.A., McKERSIE, B.D. A comparison of protein degradation during wilting and ensiling of six forage species. *Canadian Journal of Plant Science*, **63**, 903-912.
- PARK, R. S.; GORDON, F. J.; AGNEW, R. E.; BARNES, R. J.; STEEN, R. W. J., 1997. The use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy on dried samples to predict biological parameters of grass silages. *Animal Feed Science and Technology*, **68**, 235-246.
- PARKER, J. W. G.; CRAWSHAW, R., 1982. Effects of formic acid on silage fermentation, digestibility, intake and performance of young cattle. *Grass and Forage Science*, **37**, 53-58.
- PAULY, T.M., 1999. Heterogeneity and Hygienic Quality of Grass Silage. Doctoral thesis. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria*, **157**, 90 pp.
- PELHATE, J., 1977. Maize silage: Incidence of moulds during conservation. *Folia Veterinaria Latina*, **7**, 1.
- PEYRAUD, J. C., 1989. La mesure directe de l'acidité: une opération simple, rapide, efficace. *Cultivar 2000. Suplement Elevage*, **12**, 40-41.

PFLAUM, J.; GARTNER, L.; DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J.P.; HONIG, H.; STAUDACHER, W.; WYSS, U., 1998. Silage Additive Testing. Comparison of the German DLG and the French INRA Schemes. *Das Wirtschaftseigene Futter*, **42** (3), 217-248.

PFLIMLIN, A., 1998. Evolution des modes de conservation de l'herbe en Europe: acquis et perspectives. *Fourrages*, **156**, 611-618.

PITT, R. E., 1990. Silage and Hay preservation. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Cooperative Extension. NRAES-5. 53 pp. Ithaca, Nueva York, EEUU

PHIPPS, R.H.; WELLER R.F.; FULFORD R. J., 1979. The development of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. 3. The effect of grain content on milk production. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, **92** 493-498

PHIPPS, R.; WILKINSON, M., 1985. Maize Silage. *Chalcombe Publications*. 48 pp. Marlow, Bucks, (Reino Unido).

PLAYNE, M. J., 1978. Estimation of the digestibility of low-quality hays by cattle from measurements made with sheep. *Animal Feed Science and Technology*, **3**, 51-55.

POOLE, A. H.; ASTON, K.; SUTTON, J.D., 1992. *Milk from grass silage*. A summary of an MMB sponsored research programme at IGER. March 1992. Hurley (Reino Unido).

POPPI, D. P.; MINSON, D. J.; TERNOUTH, J. H., 1981. Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. II. Factors controlling the retention of feed in the reticulo-rumen. *Australian Journal of Agriculture Research*, **32**, 09-121.

RANDBY, A. T.; SCHELMER-OLSEN, I.; BAEVRE, L., 1999. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. *Journal of Dairy Science*, **82**, 420-428.

RAYMOND, W. F., 1969. The nutritive value of forage crops. *Advances in Agronomy*, **21**, 1- 108

RAYMOND, W.F.; HARRIS, C. E.; HARKER, V. G., 1953. Studies on the digestibility of herbage. 1.- Technique of measurement of digestibility and some observations on factors affecting the accuracy of digestibility data. *Journal of the British Grassland Society*, **8**, 301-314

REID, D., 1982. The sward: Its composition and management. En: *Silage for milk production. Technical Bulletin* **2**, pp 39-62. Ed: J. A. F. ROOK Y P. C. THOMAS. National Institute for Research in Dairying, Reading, Inglaterra y Hannah Research Institute, Ayr, Escocia.

REID, J. T.; KENNEDY, W. K.; TURK, K. L.; SLACK, S. T.; TRIMBERGER, G. W.; MURPHY, R. P., 1959. Effect of growth stage, chemical composition and physical properties upon the nutritive value of forages. *Journal of Dairy Science*, **42**, 567-582.

RIVEROS, E.; ARGAMENTERÍA, A., 1987. Métodos enzimáticos de la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de forrajes. I Forrajes verdes. II Ensilados y pajas. *Avances en Producción Animal*, **12**, 49-58.

RODRIGUEZ-BECEIRO, U., 1999. A Concentración Parcelaria nas explotacións de leite da Galiza. *Trabajo final de Carrera*. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Santiago de Compostela. Campus de Lugo. Enero de 1999, 170 pp.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, A., 1989. Aproximación al análisis económico de la producción de forrajes a través del coste de producción. *Memoria anual del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Año 1989*, 199-201.

ROOKE, J. A., 1991. Lactic acid bacteria and silage fermentations. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **51**, 560-562.

ROOKE, J. A.; KAFILZADEH, F., 1994. The effect upon fermentation and nutritive value of silages produced after treatment by three different inoculants of lactic acid bacteria applied alone or in combination. *Grass and Forage Science* **49**, 324-333.

ROTH, G. W., 1994. Hybrid quality and yield differences for corn silage in Pennsylvania. *Journal of Production Agriculture*, **7**, 50-54.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E., 1994. Changes in Forage Quality during Harvest and Storage. En: *Forage Quality, Evaluation and Utilization*, 828-868. Ed G. C. FAHEY Jr. American Society of Agronomy. Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison. Wisconsin (EEUU).

ROZA, B. DE LA; MARTÍNEZ, A.; CORNEJO, E.S.; ARGAMENTERÍA, A. 1992. Calidad nutritiva de los forrajes asturianos. *Actas de la XXXII Reunión Científica de la SEEP*, pp 161-164.

ROZA DE LA, B; MODROÑO, S.; MARTÍNEZ, A., 1999. Calidad de los forrajes en el verano. *Tecnología Agroalimentaria CIATA, Edición especial 1999*, p

ROZA DE LA, B.; SANTOS, B.; MIRANDA, J.; DÍEZ, E.; ALFAGEME, L., ARGAMENTERÍA, A., 1995. Evolución del valor nutritivo del maíz forrajero en verde en zona húmeda, según su contenido en materia seca . *Actas de la XXXV Reunión Científica de la SEEP*, 217-221.

RUSSELL, J. R., 1986. Influence of harvest date on the nutritive value and ensiling characteristics of maize stover. *Animal Feed Science and Technology*, **14**, 11-27.

RUSSELL, J. R.; IRLBECK, N. A.; HALLAUER, A. R.; BUXTON, D. R., 1992. Nutritive value and ensiling characteristics of maize herbage as influenced by agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* **38**, 11-24

SANAA, M.; POUTREL, B.; MENARD, J. L.; SERIEYS, F., 1993. Risk factors associated with contamination of raw milk with *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *Journal of Dairy Science*, **76**, 2891-2898.

SAS INSTITUTE, 2000. SAS/Stat User's Guide, V. 8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC (EEUU).

SCALET, M.; ALPI, A.; PICCIARELLI, P., 1984. Proteolytic activities in alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, **116**, 133-145.

SCHMID, A.R.; GOODRICH, R.D.; MARTEN, G.C. ; MEISKE, J.C.; JORDON, R.M.; HOLGERSON, J.L., 1975. Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum silages: I. Biological methods of predicting in vivo digestibility. *Agronomy Journal*, **67**, 243-246.

SCUDAMORE, K. A.; LIVERSEY, C. T. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**, 1-7.

SHARP, R.; HOOPER, P. G.; ARMSTRONG, D. G., 1994. The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science* **49**, 42-53.

SHAVER, R.D., 1993. Kernel milkline stage at harvest and hybrid quality effects on the nutritive value of corn silage for lactating dairy cows. *Proceedings from the 4-State Applied Nutrition Conference*, Junio 2003, Lacrosse, Wisconsin, EEUU, 56-58.

SILLIKER, J.H.; ELLIOT, R.P.; BAIRD-PARKER, A.C.; BRYAN, F.L.; CHRISTIAN, J.H.B.; CLARK, D.S.; OLSON, J.C.; ROBERTS, T.A., (1980). *Microbial Ecology of Foods. Vol. 1. Factors Affecting Life and Death of Microorganisms*. 229 pp. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Academic Press, Nueva York, EEUU.

SMITH, D., 1973. The nonstructural carbohydrates. En: *Chemistry and Biochemistry of Herbage*, vol 1, 105-155. Ed G.W. Butler y R. W. Bailey. Academic Press, Londres, Nueva York.

SMITH, L. W.; GOERING, H. K.; GORDON, C. H., 1972. Relationships of forage composition with rates of cell wall digestion and digestibility of cell walls. *Journal of Dairy Science* **55**, 1140-1147.

SOSULKI, F. W.; PATTERSON, J. K.; LAW, A. G., 1960. The lignin content of grass strains. *Agronomy Journal* **52** 130-134

SPELLANE, T.; O' SHEA, J. 1973. A simple way to dispose of silage effluents. *Farm and Food*, 80-81. July-August 1973

SPOELSTRA, S. F., 1985. Nitrate in Silage. A Review. *Grass and Forage Science*, **40**, 1-11.

SPOELSTRA, S. F.; COURTIN, M. G.; van BEERS, J. A. C., 1988. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole maize silage. *Journal of Agricultural Science*, **111**, 127-132.

STEEN, R. W. J. (1988). Factors affecting the utilization of grass silage for beef production. En: *Efficient Beef Production from Grass*. British Grassland Society. Occasional Symposium nº 22, pp. 129-139.

STILMANT, D.; LECOMTE, P.; FABRY, L., 1999. Diversité de la valeur alimentaire de fourrages conservés dans trois régions belges. *Fourrages*, **155**, 389-395.

STERN, M. y ENDRES, M., 1991. *Laboratory Manual. Research Techniques in Ruminant Nutrition*. Department of Animal Science. University of Minnesota. EEUU.

STRUIK, P.C. 1983. Physiology of forage maize (*Zea mays* L.) in relation to its production and quality. *Ph.D. dissertation*. Agricultural University Wageningen, Holanda. 252 pp. Citado en Cox et al., (1994).

STRUIK, P.C., 1984. Digestibility of plant fractions from different genotypes and predictability of quality of forage maize in northwest Europe. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **33**, 56-59.

STRUIK, P. C.; DEINUM, B.; HOEFSLOOT, J. M. P., 1985. Effects of temperature during different stages of development on growth and digestibility of forage maize (*Zea mays* L.). *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **33**, 405-420.

SUSMEL, P.; STEFANON, B.; MILLS, C. R., 1991. General problems in assessing the nutritive value of Mediterranean forages. *Options Méditerranéennes-Serie Séminaires*-, **16**, 17-22.

SUTTER, A. 1957. *Project nº 307*, 74-82. The European Productivity Agency of the Organization for European Economic Cooperation. Citado en McDonald *et al.* (1991).

TAMMINGA, S., 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, **75**, 345-357.

TAMMINGA, S., 1996. A Review on Environmental Impacts of Nutritional Strategies in Ruminants. *Journal of Animal Science*, **74**, 3112-3124.

TELLER, E.; VANVBELLE, M.; FOULON, M.; COLLIGNON, G.; MATAU, B., 1992. Nitrogen metabolism in rumen and whole digestive tract of lactating dairy cows fed grass silage. *Journal of Dairy Science*, **75**, 1296-1304 .

- TERPLAN, G.; HALLERMAYER, E.; KALBFUSS, W.; UNSINN, P.; GARTNER, C. D.; HEERGESEN, C., 1978. *Milchwissenschaft*, **33**, 142
- THOMAS, C.; ASTON, K.; DALEY, S. R., 1985. Milk production from silage. *Animal Production*, **41**, 23-31.
- THOMAS, C.; THOMAS, P. C., 1985. Factors affecting the nutritive value of grass silages. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, 223-256. Ed. D. J. COLE; W. HARESIGN. Butterworths. Londres (Reino Unido).
- THOMAS, P. C.; CHAMBERLAIN, D.G., 1982. Silage as a foodstuff. En: *Silage for Milk Production*, 63-102. Ed. J.A.F. ROOK, P. C. THOMAS. Technical Bulletin 2. National Institute for Research in Dairying. Reading. (Inglaterra) y Hannah Research Institute. Ayr (Escocia).
- THOMAS, P. C.; KELLY, N. C.; CHAMBERLAIN, D. G., 1980. *Silage. Proceedings of the Nutrition Society*, **39**, 257-264.
- TILLEY, J.M.; TERRY, R. A., 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British grassland Society*, **18**, 104-111.
- TRAXLER, M. J.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; PELL, A. N.; LASCANO, C. E.; LANNA, D. P. D.; MOORE, J. E.; LANA, R. P.; VELEZ, M.; FLORES, A., 1998. Predicting forage indigestible NDF from lignin concentration. *Journal of Animal Science*, **76**, 1469-1480.
- TYRRELL, H. F.; MOE, P. W., 1975. Effect of intake on digestive efficiency. *Journal of the Dairy Science*, **58**, 1151-1163.
- VAN DER HONIG, Y. 1979. Utilisation of energy by dairy cows given diets based on maize silage. En: E.S.Bunting (ed.) *Production and Utilization of the Maize Crop*. Euromais 1979, Cambridge. 279-288.
- VAN ES, A. J. H., 1975. Feed evaluation for dairy cows. *Livestock Production Science*, **2**, 95-107.
- VAN ES, A. J. H., 1979. Evaluation of the energy value of feeds: overall appreciation. En: *Standardization of analytical methodology for feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada, 12-14 March 1979*. Ed: W.J. PIDGEN; C.C.
- VAN OS, M.; LASSALAS, B.; TOILLON, S.; JOUANY, J.P., 1995. In vitro degradation of amines by rumen microorganisms. *Journal of Agricultural Science*, **125**, 299-305.
- VAN OS, M.; VAN VUUREN, A. M.; SPOELSTRA, S. F., 1997. Mechanisms of adaptation in sheep to overcome silage intake depression induced by biogenic amines. *British Journal of Nutrition*, **77**, 399-415.

VAN SOEST, P.J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of Animal Science* **26**, 119-128.

VAN SOEST, P.J. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books, 374 pp. Corvallis, Oregón, EEUU.

VAN SOEST, P.J., 1983. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. O & B Books, Corvallis, Oregón (EEUU), 374 pp.

VAN SOEST, P. J., 1985. Definition of fibre in animal feeds. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, 55-70. Eds: W. Haresign y D. J. A. Cole. Butterworths, Londres, Reino Unido.

VAN SOEST, P. J.; MERTENS, D. R., 1977. Analytical parameters as guides to forage quality. Proceedings of the International Meeting on Animal Production for Temperate Grassland. Dublin, Junio 1977. Irish Grassland and Animal Production Association. An Fòras Taluntais, 50-52.

VAN SOEST, P. J.; MERTENS, D. R.; DEINUM, B., 1978. Preharvest factors influencing quality of conserved forage. *Journal of Animal Science*, **47**, 712-720.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, **74**, 3583-3597.

VAN WAES, C.; CARLIER, I. De BOEVER, J., 1997. Ringtest for the determination of the digestibility in forage grasses. En: *Breeding for a multifunctional agriculture*. Ed: B. BOLLER; F. J. STADELMANN. Proceedings of the 21th Meeting of the Fodder Crops and Amenity Grasses section of Eucarpia. Kartause Ittingen, (Suiza), 9-12 Septiembre 1997, pp 234-237.

VATTICONDA, M. R.; HUNTER, R. B., 1983. Comparison of grain yield and whole-plant silage production of recommended corn hybrids. *Canadian Journal of Plant Science*, **63**, 601-609.

VERBIC, J.; STEKAR, J. M. A.; ROSNIK-CEPON, M., 1995. Rumen degradation characteristics and fiber composition of various morphological parts of different maize hybrids and possible consequences for breeding. *Animal Feed Science and Technology*, **54** 133-148.

VÉRITÉ, R.; PEYRAUD, J.L., 1989. Protein: the PDI systems. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 33-48. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext, París, Francia.

VERMOREL, 1989. Energy: the Feed Unit System. . En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 23-32. Ed: R. JARRIGE. INRA y John Libbey Eurotext, París, Francia.

VERMOREL, M.; COULON, J. B.; JOURNET, M., 1987. Révision du système des unités fourragères (UF). *Bulletin Technique C. R. Z. V. Theix, I. N. R. A.*, **70**, 9-18.

VIRTANEN, A. I., 1933. The AIV method of preserving fresh fodder. *empire Journal of Experimental Agriculture*, **1**, 143-155.

WAINMAN, F. W.; DEWEY, P. J. S.; BOYNE, A. W., 1976. 2nd *Annual Report of the Feed Evaluation Unit, Rowett Research Institute*, 1-36.

WALDO, D. R., 1977. Potential of chemical preservation and improvement of forages. *J. Dairy Science*, **60**, 306-326.

WALDO, D. R., (1978). The use of direct acidification in silage production. En: *Fermentation of Silage: A Review*, 117-179. Ed: M: E. McCULLOUGH. National Feed Ingredients Association. Iowa (EEUU).

WALDO, D.R., 1984. Nutritional value of legumes preserved as silage. En: *Forage legumes for energy-efficient animal production*. USDA-ARS Proceedings of a Trilateral Workshop, 220-224. Ed: R. F. Barnes. Washington, DC, EEUU y Palmerston North, Nueva Zelanda.

WALDO, D. R.; JORGENSEN, N. A., 1981. Forages for high animal production: nutritional factors and effects of conservation. *Journal of Dairy Science*, **64** 1207-1229.47.

WEISS, W. P., 1993. Predicting energy values of feeds. *Journal of Dairy Science*, **76**, 1802-1811.

WEISS, W.P., 1994. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. En: *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. Ed: G. C. FAHEY Jr. Based on the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization held at the University of Nebraska, Lincoln, on 13-15 April 1994. American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin (EEUU), 644-681.

WEISS, W.P., 1996. Estimating available energy content in ruminant feeds. *Proceedings of the California Nutrition Conference*, Fresno, California (EEUU), pp

WEISS, B.; UNDERWOOD, J., 1992. Silage Additives. *Agronomy Facts*, Ohio State University Station, AGF-018-92. Publicación electrónica en: <http://ohioline.osu.edu/agf-fact/0018.html>.

WELLER, R.F.; JONES, E., 2002. An overview on the role and potential of forage production on lowland organic livestock farms. En: *UK Organic Research 2002: Proceedings of the COR Conference, 26-28th March 2002*, 81-84. Ed: Powell et al. , Aberystwyth (Reino Unido).

WEISSBACH, F., 1996. New developements in crop conservation. En: (eds) Jones, D.; Jones, R.; Dewhurst, R.; Merry, R; Haigh, P. *Proceedings of the 11th International Silage Conference*, Aberystwyth: IGER, 11-25.

WEISSBACH, F. ; SCHMIDT, L. Y HEIN, E., 1974. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on chemical composition of green fodder. *Proceedings of the 12th International Grassland Congress*. Moscú. pp 663-672

WIEDMANN, M.; CZJKA, J.; BSAT, N., 1994. Diagnosis and epidemiological association of *Listeria monocytogenes* strains in two outbreaks of listerial encephalitis in samall ruminants. *Journal of Clinical Microbiology*, **32**, 991-996.

WIERINGA, G. W., 1958. The effect of wilting on butyric acid fermentation in silage. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **6**, 204-210.

WIERSMA, D.W.; CARTER, P.R.; ALBRECHT, K.A.; COORS, J.G., 1994. Kernel Milkline Stage and Corn Forage Yield. *Marshfield Agricultural Research Station. Annual Report for 1994*. p 14. Marshfield, Wisconsin, (EEUU).

WIERSMA, D.W.; CARTER, P.R.; ALBRECHT, K.A.; COORS, J.G.. 1993. Kernel milkline stage and corn forage yield, quality, and dry matter content. *Journal of Production Agriculture*, **6**, 94-99.

WILESMITH, J. W.; GITTER, M. , 1986. Epidemiology of ovine listeriosis in Great Britain. *Britain Veterinary Record*, **119**, 467-470.

WILKINS, R. J., 1969. The potencial digestibility of cellulose in forage and faeces. *Journal of Agriculture Science*, **73**, 57-64.

WILKINS, R. J., 1974. The nutritive value of silages. *University of Nottingham Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, **8**, 167-189. Ed. H. SWAN; D. LEWIS. Butterworth. Londres (Reino Unido).

WILKINS, R. J., 1978. Ensiled forages and their utilisation by ruminants. *Proceedings of the 3rd World Conference on Animal Feeding*, Vol. 7, 403-412. Madrid

WILKINS, R. J.; HUTCHINSON, K.J.; WILSON, R. F.; HARRIS, C.E., 1971. The voluntary intake of silage by sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, **77**, 531-537

WILKINSON, J.M., 1979. Ensiling forage maize. En: *Production and Utilization of the Maize Crop*. Euromaïs 1979 229-244. Ed. E.S.BUNTING , Cambridge, (Reino Unido).

WILKINSON, J. M.; HUBER, J. T.; HENDERSON, H. E., 1976. Acidity and proteolysis as factors affecting the nutritive value of corn silage. *Journal of Animal Science*, **42**, 208-218.

- WILKINSON, J. M.; OSBOURN, D.F., 1975. Objectives in breeding forage maize for improved nutritive value. *Proceedings of the 8th Congress of Eucarpia, Paris*, 1975. 601-639.
- WILKINSON, J. M.; PHIPPS, R. H. 1979. The developments of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. 2.- The effect of genotype, plant density and date of harvest on the composition of maize silage. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, **92**, 485-491.
- WILLIAMS, P. C.; SOBERING, D. C., 1996. How we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. Ed: A.M.C. DAVIES; P. WILLIAM, 185-188. NIR Publications, Chichester (Reino Unido).
- WILKINSON, J.M.; STARK, B.A., 1992. *Silage in Western Europe*. A Survey of 17 Countries, 2nd Edition. Chalcombe Publications, 156 pp. Kent (Reino Unido).
- WILKINSON, J. M.; TOIVONEN, M. I., 2003. *World silage: a survey of forage conservation around the world*. Chalcombe Publications, 204 pp. Lincoln, Reino Unido.
- WILLIAMS, P. C., 1987. Variable affecting Near-Infrared Reflectance Spectroscopy Analysis. En: *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Ed: P.C. WILLIAMS; K. NORRIS, pp. 143-167 American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul, Minnesota (EEUU).
- WILSON, R.K.; COLLINS, D.P., 1980. Chemical composition of silages made from different grass genera. *Irish Journal of Agricultural Research*, **19**, 75-84.
- WILSON, R. K.; O'KIELY P., 1990. A note on the chemical composition of Irish farm silages 1985-1988. *Irish Journal of Agricultural Research*, **29**, 71-75.
- WOLF, D.P.; COORS, J. G.; ALBRECHT, K.A.; UNDERSANDER, D. J.; CARTER, P. R., 1993. Agronomic evaluations of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop Science* **33**, 1359-1365.
- WOOLFORD, M. K., 1984. *The silage fermentation*. Marcel Dekker, Inc., 350 pp. Nueva York, EEUU.
- WOOLFORD, M. K., 1990. The detrimental effects of air in silage. *Journal of Applied Bacteriology*, **68**, 101-106.
- YAN, T.; AGNEW, R. E., 2000. Validation of the UK metabolisable energy system and other energy systems. *Proceedings of the British Society of Animal Science, Annual Meeting 2000*. Scarborough (Reino Unido), p. 95.
- YOUNIE, D., Proceedings of the British Grassland Society., Occasional Symposium n° 27. British Grassland Society.

ZEAL, J.; DÍAZ, D.; FLORES, G., 1985. Efecto del estado de humedad de la hierba y de la utilización de conservante en la preparación de ensilaje y la suplementación en el crecimiento de terneros (1ª repetición). *Memoria del Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) 1984-85*. Xunta de Galicia, 164-165

ZIMMER, E., 1966. A revision of Flieg's silage evaluation key. *Das Wirtschaftseigene Futter*, **12**, 299-303.

ZIMMER, E., 1980. Efficient Silage Systems. En: *Forage conservation in the 80's*, 186-197. Ed. C. THOMAS. Occasional Symposium No. 11. British Grassland Society.. Brighton (Reino Unido).

ZIMMER, E.; WILKINS, R. J., 1984. Efficiency of silage systems: a comparison between unwilted and wilted silages. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft*, **69**, 1-88.

**ANEXO 1.- Valores de la colección de ensilajes de hierba
evaluados *in vivo* en el CIAM**

Identificación de las columnas contenidas en el Anexo n° 1

N°: número de orden

COD: Código de identificación de la muestra

NC: Número de corte

PRESE: Realización del presecado (0: No; 1: Sí)

TCOLL: Tipo de cosechadora (1: Picadora; 2: Corte directo; 3: Autocargador; 4: Rotoempacadora)

TP: Tipo de pasto (11: raigrás italiano; 12: raigrás italiano+trébol; 21: raigrás inglés; 22: raigrás inglés y trébol; 24: prado natural o mezcla de pastos)

AD: Aditivo (0: Sin aditivo; 1: Fórmico; 2: Fórmico+Formol; 3: Sales de ácidos; 4: Inoculante; 5: Melazas)

DATAc: Fecha de corte (en días desde el 1 de enero)

DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta (%); **DMS:** digestibilidad *in vivo* de la materia seca (%); **DMO:** digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (%); **DN:** digestibilidad *in vivo* del nitrógeno (%); **IMS:** ingestión voluntaria de materia seca (**MS**) en g MS por kg de peso vivo metabólico ($P^{0.75}$); **IMO:** ingestión voluntaria de materia orgánica (MO) en g MO por kg de peso vivo metabólico ($P^{0.75}$)

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%) método Tilley-Terry

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%), método FND-Celulasa

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%), método Pepsina-Celulasa

MS_c: materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa

CZ: Cenizas (%MS); **FND:** Fibra neutro detergente (%MS); **FAD:** fibra ácido detergente (%MS); **FB:** fibra bruta (%MS); **CEL:** celulosa (%MS); **LAD:** lignina-sulfúrico (%MS);

PB: proteína bruta (%MS); **EB:** energía bruta (MJ kg⁻¹ MS)

Nt: nitrógeno total (%MS); **NH₃:** N amoniacal, (%MS); **NH₃_Nt:** N amoniacal (% N total); **NS_Nt:** N soluble (%N total); **pHdif:** diferencia entre el valor de pH y el pH teórico de estabilidad, según la ecuación $pHe = 0.0359MS (\%) + 3.44$;

LCTSS: Ácido Láctico (%MS); **ACTSS:** Ácido Acético (%MS); **BUTSS:** Ácido butírico (%MS);

PROSS: Ácido Propiónico (%MS); **ETASS:** Etanol, (%MS)

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA								RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN <i>in vivo</i>					
Nº	COD	NC	PRESE	TCOLL	TP	AD	DATAC	DMS	DMO	DE	DN	IMS	IMO
1	84001	2	0	1	22	0	155	66.58	69.14	66.18	54.98	45.25	41.32
2	84011	1	0	1	22	1	127	70.42	73.28	70.21	67.99	45.74	41.36
3	84012	1	0	1	22	0	127	70.80	73.77	70.70	68.32	43.79	39.90
4	84015	1	0	1	22	1	161	59.83	62.08	59.52	51.98	43.71	39.96
5	84016	1	0	1	22	0	161	57.96	61.03	57.29	51.77	41.91	37.99
6	84021	1	0	1	22	1	126	71.81	75.50	71.84	70.27	42.16	37.49
7	84022	1	0	1	22	0	126	72.55	75.57	72.42	71.95	41.71	36.54
8	84023	1	0	1	22	1	126	70.42	73.53	69.98	71.40	39.07	34.68
9	84024	1	0	1	22	0	126	68.04	71.66	69.12	68.54	36.70	32.70
10	85011	1	0	1	22	1	119	73.40	75.91	74.51	60.94	53.67	48.39
11	85012	1	0	1	22	0	119	71.63	74.02	73.31	58.42	50.45	45.31
12	85013	1	0	1	22	1	140	68.49	70.66	68.72	51.60	47.17	43.05
13	85014	1	0	1	22	0	140	67.64	69.71	68.87	49.90	47.33	42.76
14	85015	1	0	1	22	1	153	56.01	60.94	57.22	40.67	38.66	33.65
15	85016	1	0	1	22	0	153	54.22	59.77	56.29	35.18	35.52	30.63
16	85021	1	0	1	22	1	136	69.68	73.25	72.25	53.48	43.33	38.67
17	85022	1	0	1	22	0	136	69.44	72.15	72.40	52.04	46.34	41.08
18	85023	1	0	1	22	1	136	67.01	70.99	69.78	51.51	40.14	35.40
19	85024	1	0	1	22	0	136	64.95	69.28	70.19	45.86	37.21	33.33
20	87031	1	0	1	22	1	123	74.32	77.14	78.94	68.80	41.43	36.52
21	87032	1	0	2	22	1	123	70.42	73.03	74.08	67.93	50.42	44.31
22	87033	1	0	1	22	1	147	67.58	69.14	71.93	59.01	43.03	38.80
23	87034	1	0	2	22	1	147	65.99	67.68	72.18	58.56	43.05	38.77
24	88031	1	0	1	22	1	122	64.98	71.36	67.47	58.12	34.79	27.88
25	88032	1	0	2	22	1	122	72.29	75.81	73.45	65.82	51.97	44.34
26	88033	2	0	1	22	1	164	68.58	75.40	71.22	59.99	47.11	40.56
27	88034	2	0	2	22	1	164	71.51	75.75	73.45	60.24	62.78	55.68
28	89031	1	0	1	22	0	121	62.56	67.43	64.97	52.98	53.09	43.94
29	89032	1	0	2	22	0	121	72.83	75.30	73.24	62.37	49.97	44.02
30	89033	1	0	1	22	0	152	51.26	57.47	56.27	53.01	30.10	25.54
31	89034	1	0	2	22	0	152	54.68	57.20	59.64	46.41	39.08	34.62
32	93001	1	0	3	22	2	109	63.20	71.88	70.50	63.50	31.23	25.32
33	93002	1	0	3	22	0	109	69.87	72.97	71.24	63.92	42.16	36.60
34	93003	1	0	3	21	0		63.59	68.70	68.69	59.08	41.11	35.30
35	93004	1	0	3	22	0	109	65.40	71.91	72.49	72.11	26.94	22.43
36	93005	1	0	2	22	0	126	60.14	65.81	65.90	57.89	26.91	22.03
37	93006	1	0	3	21	1	114	74.75	77.07	77.57	71.10	28.10	25.69
38	93007	1	0	3	11	1	139	60.03	61.69	61.11	54.92	32.91	29.56
39	93008	1	0	3	22	1	124	68.32	69.31	69.35	71.17	31.43	27.46
40	93009	2	0	3	11	0		54.41	56.54	53.64	49.40	22.82	20.92
41	93010	2	0	3	22	0		62.17	64.21	62.60	56.77	32.38	28.71
42	93011	1	0		22	0		67.73	68.07	64.35	67.34	39.61	34.49
43	93012	1	0	2	21	0		54.36	63.37	60.66	39.75	25.18	21.33
44	93013	1	0	2	21	0	104	57.29	74.69	72.45	67.43	28.55	19.64
45	93014	1	0	2	21	4	104	60.17	74.20	71.53	68.36	29.02	22.14
46	93015	1	0	2	21	0	119	70.41	75.43	72.68	65.24	28.87	25.31
47	93016	1	0	2	21	4	119	73.82	76.75	73.56	67.17	34.17	30.63
48	93017	2	0	2	21	0	151	70.17	76.24	73.39	63.51	34.46	29.66
49	93018	1	0	2	21	0	133	66.98	70.04	67.58	65.91	28.75	26.13
50	93019	1	0	2	21	4	133	66.98	70.23	65.64	64.26	28.42	25.91
51	93020	1	0	2	21	0	150	61.65	64.59	61.90	57.22	28.96	25.77
52	93021	1	0	2	21	4	150	62.07	65.73	63.99	57.09	31.55	28.00
53	93022	2	0	2	21	0	165	65.25	69.25	66.60	58.12	42.08	37.22
54	93023	1	0	2	21	0	165	56.32	57.62	53.76	52.65	28.54	26.28
55	93024	2	0	2	21	0	180	51.19	54.21	54.80	46.04	28.37	25.70
56	93025	2	0	2	21	0	195	46.10	48.58	45.93	26.69	26.11	24.02
57	93026	1	0	3	24	0		49.03	54.52	54.17	46.57	34.40	28.45
58	93027	1	1	3	22	0		59.71	66.46	64.70	64.14	40.23	33.97
59	94028	2	0	3	12		181	59.12	63.44	60.50	59.53	37.83	32.75
60	94029	2	0	3	12		181	52.82	56.66	57.12	48.89	23.84	21.46
61	94030	2	1	3	12		185	64.70	67.06	63.57	54.19	43.08	38.36
62	94031	1	0	3	12		129	49.84	51.93	52.08	53.03	31.62	28.81
63	94032	2	1	3	12		198	56.99	58.58	60.27	61.43	37.89	34.52
64	94033	2	0	3	12		150	55.15	58.73	58.94	49.92	27.13	23.47
65	94034	1	0	3	12		120	71.21	73.01	70.06	73.10	39.36	34.61
66	94035	1	0	3	24		155	67.07	70.54	68.23	63.25	33.86	30.14
67	94036	1	0	3	12		104	54.62	56.46	55.38	43.04	30.40	27.28
68	94037	1	0	4	12		152	61.84	63.00	59.94	64.88	30.45	27.98

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA								RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN <i>in vivo</i>					
Nº	COD	NC	PRESE	TCOLL	TP	AD	DATAC	DMS	DMO	DE	DN	IMS	IMO
69	94038	1	0	4	22	0	150	64.74	66.63	65.35	64.61	49.00	43.74
70	94039	1	0	4	22	0	121	66.67	72.71	68.78	64.52	38.70	32.14
71	94040	1	0	4	22	0	108	71.23	77.21	74.64	72.67	32.68	26.86
72	94041	1	0	4	22	0	94	76.15	80.16	76.63	74.61	45.70	38.66
73	94042	1	0	4	22	0	137	64.76	69.56	67.37	60.14	36.50	30.75
74	94043	1	0	4	22	0	164	55.98	61.18	60.47	55.26	45.52	40.77
75	94044	2	0	4	22	0	150	70.57	74.39	73.12	70.93	52.79	42.12
76	94045	2	0	4	22	0	164	70.85	76.69	72.28	70.43	47.89	39.82
77	94046	2	0	4	22	0	178	60.92	66.17	62.79	63.25	43.09	34.18
78	94047	2	0	4	22	0	162	56.43	58.18	60.37	63.96	42.77	38.35
79	94048	1	1	3	11		153	70.50	71.97	70.91	60.55	52.38	48.29
80	94049	2	0	2	11		115	69.59	74.92	71.68	69.60	41.78	35.85
81	94050	1	1	4	11		154	63.42	64.77	64.11	47.70	43.62	39.81
82	94051	1	0	3	11		117	71.84	73.31	71.12	60.30	42.07	37.69
83	94052	1	0	3	11		119	60.02	63.70	61.42	41.94	36.41	31.75
84	94053	2	1	3	11		195	66.94	69.27	63.57	63.24	54.24	47.64
85	94054	2	1	3	24		180	70.19	72.78	69.92	62.71	58.29	52.26
86	94055	1	0	4	11		147	63.94	65.59	63.51	62.30	34.33	30.72
87	94056	2	0	3	11		167	65.83	69.39	67.35	67.38	38.44	34.02
88	94057	1	0	3	11		145	68.27	71.07	67.80	55.86	37.06	32.90
89	94058	1	0	3	11	2	129	68.39	72.73	69.92	65.55	33.46	29.33
90	94059	2	0	3	11	1	154	61.72	66.93	64.34	62.30	35.98	30.46
91	94060	1	0	3	11	3	115	65.32	65.80	66.62	51.87	36.02	32.58
92	94061	1	0	3	11	0	120	72.49	74.45	72.51	71.19	38.01	33.85
93	94062	1	1	4	11	3	170	65.20	66.92	65.26	55.86	44.05	40.31
94	94063	1	0	3	11	1	160	70.24	71.64	70.99	56.77	41.41	37.45
95	94064	2	1	3	11	3	160	68.35	69.49	66.39	64.98	38.97	35.23
96	94065	2	1	3	11	3	170	63.02	64.54	61.93	66.63	41.93	37.44
97	95066	1	0	3	11	1	139	57.88	60.60	59.62	70.92	40.02	35.33
98	95067	1	0	3	24	0	134	65.09	67.19	65.20	47.73	35.31	31.02
99	95068	1	0	4	12	0		54.82	52.85	58.82	44.79	49.31	45.61
100	95069	1	0	4	24	0		70.05	69.44	66.72	52.29	65.66	58.53
101	95070	1	0	4	11	0	79	72.96	75.59	73.60	75.36	40.73	33.65
102	95071	2	0	4	11	0	93	72.49	72.37	71.68	71.76	48.88	42.66
103	95072	2	0	3	24	0	117	65.75	65.84	65.56	54.73	44.09	36.06
104	95073	1	0	3	24	5		66.72	67.54	65.82	47.40	47.40	41.31
105	95074	2	0	4	11	0	135	55.78	55.15	55.49	54.21	34.23	30.54
106	95075	1	0	4	11	0	107	67.08	66.74	65.93	63.14	43.87	39.40
107	95076	1	0	4	11	0	121	60.72	64.76	63.98	39.79	38.82	34.57
108	95077	2	0	4	11	0	135	70.11	74.72	73.07	71.70	44.74	36.72
109	95078	2	0	4	11	0	149	60.52	61.22	63.35	65.27	45.57	40.61
110	95079	1	1	3	11	1	123	72.10	72.51	68.47	52.36	59.93	54.73
111	95080	1	0	4	11	0	149	49.29	48.67	47.05	48.31	40.73	37.91
112	95081	2	0	4	11	0	163	52.01	55.27	51.34	59.51	40.29	36.48
113	95082	1	0	3	11	1	131	74.98	77.43	76.19	69.32	34.12	30.38
114	95083	2	1	3	11	0	179	64.03	64.74	66.35	56.15	46.03	41.30
115	95084	2	1	4	11	0	165	67.47	66.21	66.30	39.91	42.28	39.06
116	95085	1	0	3	11	1	136	69.34	68.97	66.87	54.34	34.89	32.11
117	95086	1	0	3	11	0	137	67.92	67.39	66.58	58.55	31.06	27.74
118	95087	1	1	4	24	0	92	61.80	62.14	62.95	68.85	47.47	41.44
119	95088	1	0	3	11	0	178	56.95	55.64	58.26	48.29	40.58	35.99
120	95089	1	1	3	11	1	144	67.83	66.37	68.57	51.90	53.55	49.44
121	96090	1	0	1	22	0	140	66.20	67.88	64.71	55.05	50.17	46.11
122	96091	1	0	1	22	0	140	60.27	63.13	62.63	51.35	54.03	48.38
123	96092	1	0	1	22	0	140	63.05	65.83	63.24	51.83	54.22	49.43
124	96093	1	0	1	22	0	140	66.42	68.42	70.06	51.39	56.11	50.86
125	96094	1	1	1	22	0	140	63.97	66.24	66.45	46.57	66.29	59.61
126	96095	1	1	1	22	0	140	63.28	65.16	63.41	51.77	41.19	36.98
127	96096	1	1	1	22	0	140	65.61	68.13	67.82	47.04	45.39	41.17
128	96097	1	1	1	22	0	140	60.98	63.03	62.39	46.43	44.78	40.65
129	96098	1	0	4	22	0	117	67.26	68.90	67.25	61.86	40.28	36.83
130	96099	1	0	3	22	0	144	62.25	64.76	64.52	64.74	40.01	34.98
131	96100	1	0	3	22	0	129	58.49	62.77	60.66	50.88	40.28	34.96
132	96101	1	1	3	22	0		60.48	64.58	62.17	47.45	46.81	41.29
133	96102	2	1	4	24	0	158	63.32	64.89	62.11	59.45	44.39	40.22
134	96103	1	1	3	11	0	119	65.50	66.72	65.33	57.22	36.14	32.53
135	96104	2	0	3	11	3	149	66.54	69.79	66.17	54.61	32.94	29.90
136	96105	2	1	4	11	0	144	72.74	74.52	72.62	63.05	47.17	42.22

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA								RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN <i>in vivo</i>					
Nº	COD	NC	PRESE	TCOLL	TP	AD	DATAC	DMS	DMO	DE	DN	IMS	IMO
137	97106	1	0	1	22	0	124	64.08	68.48	65.40	61.65	42.19	36.20
138	97107	1	0	1	22	4	124	64.65	69.05	65.69	60.58	35.30	31.17
139	97108	1	0	1	22	1	124	64.54	69.21	65.03	58.34	45.23	40.05
140	98109	1	0	2	21	0		58.85	62.93	57.76	48.55	26.52	22.91
141	98110	1	1	4	12	0	129	77.15	78.64	74.90	67.42	49.32	44.89
142	98111	1	1	3	11	3	78	72.82	73.77	71.06	62.22	47.81	42.81
143	98112	2	1	3	11	0	177	62.74	63.67	61.57	60.31	36.93	32.39
144	98113	1	0		22	0	129	67.51	70.27	67.02	65.88	38.61	34.19
145	98114	1	1	4	22	0	169	50.19	51.15	44.38	32.30	45.69	42.69
146	98115	1	1	4	22	0		52.61	54.35	48.99	57.06	48.00	42.65
147	98116	1			22	0		66.27	69.25	65.38	48.53	43.82	38.92
148	98117	1	0	1	22	0		61.13	65.72	62.58	36.94	38.08	33.50
149	98118	1	1	4	22	0		60.97	62.18	61.27	50.73	49.58	45.06
150	98119	1	1	3	11	0	85	72.48	75.12	71.87	69.17	35.21	29.81
151	98120	1	1	4	24	0		48.82	49.96	46.72	60.09	57.89	52.78
152	98121	2	1	4	11	0		73.30	75.45	71.06	71.30	47.09	40.77
153	98122	1	1	3	24	0	85	77.39	81.08	76.87	76.70	39.49	33.40
154	98123	2	1	4	22	0		76.19	77.77	73.16	80.14	59.20	52.37
155	98124	2	1	4	24	0	144	72.55	74.55	69.73	72.42	51.95	47.98
156	98125	1	1	3	24	3	83	76.77	78.42	74.40	75.08	50.71	43.50
157	99126	1	0	3	22	0	124	62.07	64.62	61.92	59.76	36.98	33.41
158	99127	1	0	3	22	4	124	64.69	67.56	64.36	57.86	37.85	34.61
159	99128	1	0	3	22	4	124	64.81	66.63	63.95	63.09	44.01	39.81
160	99129	1	0	3	22	1	124	64.39	66.90	64.16	60.90	39.86	36.27
161	99130	1	0	3	22	0	124	63.30	66.47	63.54	61.70	28.24	25.15
162	99131	1	0	3	22	4	124	62.41	65.53	63.71	63.38	29.31	26.49
163	99132	1	0	3	22	4	124	61.41	64.36	62.11	58.69	30.52	27.53
164	99133	1	0	3	22	1	124	61.85	65.26	63.64	56.65	29.03	26.31
165	99134	2	1	3	21	0	136	73.94	75.71	70.55	72.90	57.92	51.81
166	99135	1	1	3	24	0	122	65.61	70.15	66.92	65.54	35.08	29.99
167	99136	1	0	3	24	1	115	74.94	77.66	74.19	76.33	31.77	27.85
168	99137	1	1	3	11	4	87	73.62	75.16	72.20	68.12	32.32	27.94
169	99138	1	1	3	21	1	103	67.22	70.46	66.64	63.87	34.47	30.09
170	99139	1	1	3	21	1	124	64.42	67.06	65.36	64.27	31.14	25.54
171	99140	2	1	3	11	0		61.31	62.85	59.63	54.66	34.77	31.21
172	99141	1	0	3	21	1	133	58.57	60.36	57.58	61.56	40.72	37.11
173	2000142	3	0	3	11	0	302	62.26	68.36	63.91	59.65	29.88	25.18
174	2000143	3	1	3	24	0	318	61.52	64.47	60.38	69.56	49.57	43.42
175	2000144	3	1	3	11	4	304	69.68	76.20	71.99	74.81	28.92	24.68
176	2000145	3	1	3	24	1	317	48.62	59.62	57.70	58.61	21.51	16.33
177	2000146			2				68.71	73.08	68.14	60.37	48.61	43.44
178	2000147	1	1	3	22	4	95	71.92	75.20	71.93	71.30	42.33	36.89
179	2000148	1	1	3	22	4	96	69.72	73.45	69.82	69.69	46.95	41.25
180	2000149	1	1	3	22	0	97	69.07	72.77	69.44	68.77	46.65	40.39
181	2000150	1	0	3	22	0	71	73.43	77.83	73.88	66.75	43.38	38.48
182	2000151	1	0	3	22	4	71	71.25	75.34	71.24	67.33	46.18	41.46
183	2000152	1	1	3	22	0	73	73.87	77.23	72.82	70.12	50.53	45.10
184	2000153	1	1	3	22	4	73	76.20	79.72	75.45	73.56	63.77	56.59
185	2001154	1	1	4	24	0	165	60.40	62.27	57.54	58.77	39.16	35.93
186	2001155	1	0	3	22	0	146	67.53	69.78	64.04	55.76	46.96	41.88
187	2001156	1	1	1	22	0	144	70.24	72.42	66.01	46.52	51.74	47.07
188	2001157	1	0	2	22	0	144	63.38	67.84	63.47	48.96	32.57	27.93
189	2001158	3	1	3	22	0	247	53.11	53.62	47.21	43.06	51.70	47.45
190	2001159	1	0	2	24	0	147	58.74	61.76	56.90	44.54	37.59	32.79
191	2001160	2	1	3	22	4	147	71.19	74.35	68.90	62.22	40.09	35.50
192	2001161	1	1	3	22	0		72.70	74.88	68.83	49.05	51.78	47.36
193	2002162	1	0	2	22	0	157	65.76	67.79		53.89	40.32	37.20
194	2002163	1	0	1	22	0	134	65.37	68.25		55.30	47.89	42.55
195	2002164	1	0	2	22	0	140	51.20	60.56		38.67	18.92	15.62
196	2002165	1	0	2	22	0	147	48.64	57.53		32.15	29.84	24.87
197	2002166	3	1		11	0		63.55	65.09		63.35	61.07	55.06

								DMS	DMO	DE	DN	IMS	IMO
	Media							64.82	67.86	65.78	58.99	40.91	36.16
	s.d.							6.77	6.78	6.56	9.79	8.97	8.34
	c.v.							10.44	9.99	9.98	16.59	21.93	23.07
	Max							77.39	81.08	78.94	80.14	66.29	59.61
	Min							46.10	48.58	44.38	26.69	18.92	15.62

COD	DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>			ANALISIS DE LABORATORIO								
	DoTT	DoFND	DoPC	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	PB
84001	65.56	59.26		18.02	19.04	91.79	8.21	60.54	38.80	4.23	33.73	14.46
84011	71.43	65.83		17.09	18.07	90.36	9.64	56.90	37.42	2.71	33.48	13.83
84012	70.44	66.36		17.16	18.11	91.37	8.63	55.96	36.40	2.67	32.65	14.23
84015	63.45	52.95		22.70	23.92	91.48	8.52	64.01	39.96	3.99	34.33	9.51
84016	61.49	51.32		23.72	24.84	91.00	9.00	65.44	39.82	4.04	34.17	9.11
84021	72.74	65.27		17.18	18.14	89.47	10.53	53.62	36.82	3.21	32.25	16.69
84022	68.62	64.48		16.13	17.04	87.44	12.56	54.18	40.71	7.39	30.08	16.22
84023	67.14	66.22		14.22	15.19	89.49	10.51	51.10	36.92	3.74	31.23	18.71
84024	67.43	62.27		14.06	14.99	89.65	10.35	55.72	43.10	4.48	36.54	16.14
85011	73.64	62.38		21.14	22.29	90.08	9.92	55.76	35.63	4.20	29.72	13.27
85012	72.04	61.48		19.21	20.26	89.83	10.17	56.92	37.17	4.67	31.04	12.75
85013	68.51	55.67		20.19	21.25	91.46	8.54	60.97	39.64	6.45	31.74	10.02
85014	66.68	59.26		19.46	20.50	90.89	9.11	59.74	39.76	7.22	29.95	9.63
85015	49.39	50.06		19.82	20.84	87.83	12.17	64.35	48.21	13.07	27.98	8.12
85016	43.20	50.24		19.98	21.00	86.22	13.78	63.41	46.83	14.50	24.63	7.63
85021	67.02	62.36		19.74	20.75	90.00	10.00	57.33	39.60	6.93	30.30	11.09
85022	65.64	62.72		18.48	19.45	90.02	9.98	57.07	39.16	7.34	29.35	11.23
85023	68.84	62.03		18.01	18.99	89.29	10.71	57.70	41.73	8.22	29.72	11.10
85024	66.55	64.13		17.14	18.09	89.86	10.14	57.10	40.08	8.20	28.48	10.72
87031	73.77	54.60		22.22	23.29	88.73	11.27	61.95	32.99	4.61	26.76	13.90
87032	66.48			17.06	17.88	87.75	12.25	54.25	37.83	5.84	29.69	14.97
87033	68.49	57.16		21.51	22.54	88.61	11.39	57.13	33.38	5.60	26.63	10.93
87034	67.26			21.14	22.16	89.94	10.06	56.30	35.10	5.88	28.27	11.56
88031	67.49	70.93		18.01	18.87	81.33	18.67	42.84	40.54	5.18	27.80	13.14
88032	71.13	71.16		17.51	18.35	85.76	14.24	46.30	37.87	4.77	27.64	14.27
88033	71.33	71.57		19.59	20.53	85.18	14.82	46.88	45.37	13.74	24.53	14.34
88034	72.82	72.46		18.60	19.50	88.08	11.92	46.63	33.24	4.72	26.28	13.83
89031	64.14	55.82		14.94	15.66	83.73	16.27	57.80	43.79	5.39	32.67	10.74
89032	64.04	62.04		14.84	15.56	87.85	12.15	54.58	37.43	4.98	29.51	12.13
89033	70.48			15.83	16.59	83.54	16.46	69.60	51.78	7.02	36.94	9.10
89034	48.17			15.93	16.70	88.69	11.31	69.94	50.06	7.41	38.57	8.91
93001	72.84	65.57		17.58	18.58	80.67	19.33	46.49	39.23	5.23	26.25	15.72
93002	75.18	66.88		27.74	28.88	87.19	12.81	46.96	34.59	5.36	26.75	15.06
93003	70.33	58.75	63.63	18.36	19.34	85.68	14.32	52.04	40.90	5.21	30.35	13.18
93004	67.62	67.37		14.33	15.28	82.76	17.24	49.25	39.56	4.24	29.83	16.46
93005	68.11	64.70		20.06	21.11	82.64	17.36	49.26	37.78	10.28	20.28	12.69
93006	75.53	64.01	72.20	14.60	15.47	91.79	8.21	52.89	34.31	3.04	30.29	18.25
93007	63.24	47.27	49.92	18.36	19.33	90.18	9.82	64.52	43.25	5.33	35.40	10.00
93008	66.70	66.49		17.62	18.72	87.58	12.42	55.50	35.88	4.06	30.83	17.30
93009	55.86	41.27	41.72	14.73	15.68	91.05	8.95	69.07	49.88	7.58	39.61	9.33
93010	60.27	51.74	53.78	20.79	21.92	88.53	11.47	57.34	43.66	7.71	32.56	13.32
93011	68.03	61.36		17.19	18.18	86.92	13.08	55.34	41.82	6.15	32.11	13.30
93012	66.67	57.25		18.88	19.91	84.69	15.31	56.98	43.20	5.63	33.47	11.18
93013	75.13	74.46		17.84	18.49	68.35	31.65	34.34	39.78	2.00	22.33	15.37
93014	72.78	70.99		18.21	18.85	76.49	23.51	38.80	36.13	2.62	22.47	15.49
93015	74.49	69.43		13.96	14.94	87.83	12.17	50.82	35.78	2.35	30.59	14.16
93016	75.28	73.05		14.53	15.54	89.73	10.27	48.61	33.76	2.28	29.98	14.27
93017	74.90	71.10		15.83	16.88	86.34	13.66	49.13	36.08	2.30	29.67	12.66
93018	68.90	64.79		13.29	14.08	91.13	8.87	55.72	38.31	3.13	33.98	13.63
93019	68.29	61.29		13.61	14.69	91.19	8.81	58.21	39.15	3.58	33.85	12.37
93020	67.28	56.13		15.33	16.38	88.86	11.14	60.78	40.06	3.00	34.62	10.15
93021	66.85	55.08		15.83	16.99	88.90	11.10	61.76	41.20	3.24	35.50	9.48
93022	70.27	58.00		17.80	18.84	88.24	11.76	58.42	38.21	2.72	32.16	10.21
93023	55.93	44.93		20.72	21.50	92.18	7.82	68.30	43.52	4.73	37.42	8.60
93024	53.14	42.77		23.49	24.02	91.18	8.82	66.86	42.32	4.89	35.71	7.62
93025	47.41	40.09		29.81	30.19	92.29	7.71	67.51	42.79	5.33	35.41	6.02
93026	54.36	46.39	43.22	16.78	17.55	83.35	16.65	61.13	46.22	6.70	32.95	10.62
93027	66.72	58.35	61.77	27.71	28.83	84.49	15.51	47.23	36.80	4.00	28.08	15.70
94028	63.73	56.41	55.59	19.61	20.46	86.63	13.37	55.52	39.94	4.45	31.94	13.16
94029	55.37	43.33		16.84	17.76	90.73	9.27	69.00	44.84	10.36	31.34	9.89
94030	72.67	63.48		29.06	29.99	89.63	10.37	51.80	32.80	6.53	24.24	13.27
94031	53.67	42.11	43.27	18.67	19.99	91.43	8.57	66.61	42.74	8.62	32.29	10.16
94032	59.28	53.73		29.05	29.98	90.95	9.05	57.10	35.32	8.09	24.78	12.70
94033	61.64	51.44		18.26	19.26	88.68	11.32	60.97	40.67	11.05	24.84	12.18
94034	74.86	70.43		21.01	22.45	88.41	11.59	44.72	27.20	4.20	21.72	20.14
94035	68.06	65.00	56.61	16.98	17.88	89.06	10.94	62.92	39.87	7.59	28.72	13.65
94036	54.03	47.82		17.98	18.82	90.90	9.10	64.17	43.47	10.99	29.75	9.83
94037	60.62	49.52		15.77	16.91	92.27	7.73	69.35	42.47	6.71	34.24	11.54

COD	DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>			ANÁLISIS DE LABORATORIO								
	DoTT	DoFND	DoPC	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	PB
94038	65.46	56.16		17.65	18.86	90.31	9.69	60.15	38.45	6.03	30.73	11.27
94039	75.44	66.60		15.41	16.23	83.52	16.48	48.86	35.84	7.47	23.96	13.54
94040	75.91	68.89	71.08	14.03	15.11	83.48	16.52	46.70	34.20	6.83	23.68	16.32
94041	77.80	69.98		14.09	15.07	84.62	15.38	47.89	33.84	7.16	22.81	16.73
94042	70.40	56.03	59.38	15.43	16.02	84.45	15.55	50.81	38.64	9.40	23.49	11.16
94043	59.14	50.70		25.48	26.63	89.99	10.01	59.18	38.99	8.50	27.25	8.86
94044	76.79	74.58		17.75	18.60	82.08	17.92	34.41	31.16	9.48	15.05	19.04
94045	77.30	71.00		16.80	17.65	84.64	15.36	41.29	31.56	7.82	18.92	15.89
94046	67.24	59.06		17.72	18.69	81.15	18.85	47.03	41.29	13.60	18.87	12.86
94047	60.10	54.04		19.80	20.64	89.72	10.28	55.78	37.26	6.83	29.17	12.15
94048	73.81	64.23		40.73	41.63	92.50	7.50	49.16	29.13	3.73	24.75	13.88
94049	71.74	63.27		16.01	17.32	84.64	15.36	52.12	36.33	9.96	20.95	17.94
94050	69.72	52.19	57.54	29.95	31.24	91.74	8.26	55.68	34.01	6.22	26.38	9.30
94051	74.08	67.46		22.68	23.92	90.04	9.96	48.90	28.28	3.88	23.32	12.78
94052	66.88	59.48		22.33	23.63	86.15	13.85	52.13	37.91	10.16	22.15	8.06
94053	70.39	62.87		37.78	38.50	89.13	10.87	51.18	31.94	6.84	22.27	15.86
94054	75.38	63.92	74.49	41.66	42.44	90.15	9.85	46.14	23.93	5.00	17.09	17.89
94055	68.28	56.61		20.86	22.04	90.21	9.79	60.87	37.92	5.89	30.83	12.21
94056	68.05	61.16		21.17	22.22	89.03	10.97	54.50	34.72	11.65	19.87	16.95
94057	71.41	59.53	64.08	17.54	18.81	89.85	10.15	57.13	35.10	7.59	25.39	13.50
94058	71.14	60.55		15.39	16.02	88.14	11.86	56.12	37.18	8.21	25.05	16.19
94059	65.63	59.11		20.51	21.51	85.50	14.50	53.53	39.05	10.30	23.42	14.54
94060	70.34	59.65	64.54	23.22	24.63	91.15	8.85	53.81	32.50	4.01	28.25	11.92
94061	74.78	67.43		17.70	18.80	89.41	10.59	50.28	31.94	3.54	27.77	17.17
94062	67.34	62.09		42.04	43.08	91.82	8.18	53.84	32.62	5.12	26.57	10.40
94063	71.28	62.81		20.38	21.73	90.74	9.26	54.32	32.09	5.13	26.13	12.23
94064	71.44	63.65		27.78	29.29	90.67	9.33	54.70	32.95	4.00	28.44	14.68
94065	64.49	58.55		29.28	30.27	89.40	10.60	55.36	34.11	6.09	26.46	14.64
95066	59.86	60.81		21.30	22.36	89.08	10.92	64.05	37.35	5.61	30.98	12.48
95067	69.75	50.07		17.35	18.32	90.20	9.80	55.47	36.52	6.14	28.41	12.76
95068	54.26	39.55	46.22	30.88	31.76	93.22	6.78	65.93	38.51	5.00	33.41	8.46
95069	74.66	64.78	71.25	24.00	25.35	89.94	10.06	47.78	27.73	4.00	23.29	11.63
95070	76.12	72.65	73.41	14.10	15.36	84.15	15.85	45.31	32.70	8.22	19.15	20.75
95071	73.71	70.39		14.56	15.33	90.02	9.98	47.60	28.50	5.90	20.65	18.47
95072	71.52	65.51		22.40	23.59	85.58	14.42	49.43	33.74	6.74	23.95	12.98
95073	74.12	65.63		20.76	21.93	87.35	12.65	49.34	33.77	7.32	22.55	10.69
95074	62.11	48.86	54.37	16.71	17.84	91.31	8.69	56.18	35.64	6.87	26.35	11.14
95075	70.36	66.48		15.86	17.20	90.40	9.60	52.94	31.54	4.79	25.35	13.89
95076	69.48	58.18	65.32	18.87	19.93	88.98	11.02	47.23	31.73	7.68	19.49	8.18
95077	71.80	71.94		15.44	16.42	81.88	18.12	39.80	34.04	11.37	14.00	17.98
95078	60.84	59.37		15.99	17.36	89.53	10.47	57.09	35.97	6.44	27.84	12.37
95079	80.74	64.27	78.31	31.87	32.82	92.47	7.53	42.66	25.28	3.52	20.44	11.64
95080	54.08	49.44		27.72	28.79	93.57	6.43	63.01	37.77	6.98	28.91	8.19
95081	58.04	53.65	49.89	23.31	24.41	88.16	11.84	55.94	38.04	10.73	21.69	10.46
95082	77.64	65.17	73.61	21.81	23.40	89.81	10.19	45.25	31.47	6.74	21.46	18.46
95083	72.96	68.80		27.73	29.18	90.30	9.70	47.38	30.85	6.58	20.53	14.15
95084	74.88	56.10	63.93	45.95	48.09	92.88	7.12	55.43	30.71	4.24	25.13	8.15
95085	65.75	59.70		17.97	18.97	92.09	7.91	61.24	38.92	4.88	32.55	10.89
95086	65.72	58.99		16.78	17.70	89.75	10.25	59.05	37.33	5.27	29.94	11.63
95087	65.64	54.88	62.19	42.90	43.61	87.74	12.26	55.81	31.92	5.73	23.29	17.40
95088	64.46	56.25		22.64	23.99	89.17	10.83	57.12	36.87	6.47	28.06	10.69
95089	72.66	61.86		35.26	36.37	92.97	7.03	53.62	30.43	3.54	26.08	10.42
96090	66.92	62.28		17.74	18.79	91.13	8.87	52.43	35.10	5.69	27.26	11.83
96091	61.16	58.95		18.91	20.16	89.34	10.66	54.73	36.24	6.91	26.22	12.14
96092	62.40	60.89		18.09	19.26	90.46	9.54	53.98	36.71	6.07	28.68	12.06
96093	67.90	64.01		23.88	25.25	90.79	9.21	51.48	32.41	4.66	26.37	12.13
96094	66.27	61.39		31.46	32.75	90.18	9.82	51.72	33.21	5.64	26.03	12.49
96095	64.02	59.30		31.20	32.65	90.44	9.56	54.76	33.87	5.60	26.66	11.81
96096	68.16	62.23		29.11	30.48	91.26	8.74	52.57	32.67	4.85	26.85	11.89
96097	66.24	58.89		26.96	28.28	90.78	9.22	54.52	33.86	5.19	27.19	11.24
96098	67.90	59.86		16.52	17.89	90.96	9.04	60.32	35.19	3.70	30.57	14.93
96099	65.65	56.72	61.26	19.11	20.65	87.90	12.10	57.10	35.73	5.48	27.48	17.15
96100	62.13	55.90	57.69	15.22	16.39	86.10	13.90	56.77	38.90	9.10	24.89	14.43
96101	69.34	61.71		31.57	33.17	88.46	11.54	52.97	34.70	7.16	22.98	13.22
96102	63.79	54.42		27.20	27.68	91.13	8.87	54.35	33.77	4.81	27.20	13.32
96103	66.19	57.18		22.79	23.57	90.32	9.68	56.75	32.57	3.66	27.02	12.17
96104	63.74	54.38	56.91	18.02	18.60	90.49	9.51	57.23	35.65	5.48	26.75	10.72
96105	72.51	64.29		27.71	28.23	90.08	9.92	49.04	29.31	2.90	25.06	12.27

	DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>			ANALISIS DE LABORATORIO								
COD	DoTT	DoFND	DoPC	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	PB
97106	69.49	57.83		17.17	18.04	84.27	15.73	52.17	37.47	9.25	23.56	11.75
97107	69.82	57.34		16.77	17.55	87.89	12.11	54.99	36.07	6.94	24.66	12.03
97108	65.24	56.78		17.09	18.10	87.46	12.54	58.56	38.97	7.38	27.41	12.69
98109	65.44	51.84	51.32	21.70	22.98	86.39	13.61	61.50	45.58	10.53	24.67	10.65
98110	78.98	61.72	77.69	50.50	52.29	91.02	8.98	56.12	32.44	5.44	26.49	14.24
98111	76.62	60.40	73.17	38.80	39.69	89.56	10.44	54.60	33.71	6.47	26.22	12.56
98112	65.32	55.35	53.67	26.60	27.93	87.71	12.29	65.92	43.35	10.64	31.62	12.01
98113	67.98			18.70	19.54	88.56	11.44	54.55	39.36	7.04	28.24	12.77
98114	53.17	38.26	44.02	52.80	53.10	93.44	6.56	63.02	40.00	9.04	30.00	6.05
98115	55.60			20.20	20.70	88.85	11.15	58.57	39.85	10.46	26.18	9.20
98116	69.24	51.01	64.33	35.70	36.41	88.81	11.19	54.16	36.99	6.28	28.36	11.26
98117	70.92			22.70	24.56	87.97	12.03	53.49	37.81	7.08	26.64	10.88
98118	55.57	49.03	53.66	23.10	24.00	90.69	9.31	54.50	39.58	11.30	26.46	12.83
98119	70.46	64.58	70.78	21.70	22.59	84.65	15.35	45.19	33.88	4.25	27.70	15.51
98120	54.66	45.00	47.36	50.50	51.24	91.16	8.84	61.04	41.62	7.31	32.58	9.70
98121	68.94	68.79	80.33	39.80	40.38	86.58	13.42	47.00	32.38	5.05	26.43	24.46
98122	77.97	70.53	76.23	29.20	29.99	84.58	15.42	39.06	30.75	4.07	23.39	19.22
98123	76.34	67.24	78.42	35.60	36.22	88.46	11.54	38.05	25.16	3.46	21.52	24.23
98124	73.48		70.50	52.10	53.03	92.35	7.65	50.91	31.64	3.98	28.02	20.55
98125	76.45	79.18	81.12	39.90	40.77	85.77	14.23	37.26	27.09	3.09	22.18	22.55
99126	65.75			16.89	17.62	90.35	9.65	56.47	40.89	5.94	32.64	12.09
99127	64.81			16.85	17.41	91.43	8.57	57.55	41.52	6.04	33.30	11.76
99128	67.63			17.89	18.39	90.46	9.54	52.12	37.52	5.52	30.04	13.44
99129	66.64	52.57	55.77	18.03	18.82	90.99	9.01	55.29	39.21	4.94	32.85	13.47
99130	65.99			16.15	16.85	89.08	10.92	57.09	40.96	5.02	32.73	12.76
99131	64.14	48.38	51.40	16.22	16.83	90.37	9.63	58.93	42.19	6.15	34.14	12.77
99132	62.62			16.54	17.04	90.20	9.80	58.00	43.49	7.11	33.50	12.25
99133	63.29			16.34	16.83	90.63	9.37	59.68	43.96	7.02	34.40	11.73
99134	73.75	60.82	73.23	49.30	50.15	89.46	10.54	51.67	32.18	4.20	27.15	17.72
99135	70.22	61.07	64.19	25.30	27.02	85.48	14.52	51.10	38.35	4.92	29.53	15.19
99136	73.45	69.06	67.83	17.60	18.42	87.68	12.32	46.74	35.53	4.92	29.26	18.30
99137	73.14	63.57	70.92	18.60	20.27	86.45	13.55	52.85	36.39	4.62	30.63	13.21
99138	69.94			21.60	22.44	87.31	12.69	52.05	35.47	5.39	27.65	16.32
99139	65.09			16.90	17.96	82.04	17.96	54.40	40.79	5.21	30.33	11.41
99140	65.82			33.80	34.85	89.78	10.22	57.57	37.83	5.87	30.65	11.17
99141	64.29	45.07	45.61	15.80	16.72	91.12	8.88	63.73	41.25	6.29	33.82	13.73
2000142	66.83	61.99	65.00	22.70	24.06	84.28	15.72	42.86	35.87	10.17	20.55	15.42
2000143	64.70			35.30	36.25	87.59	12.41	50.88	35.88	8.58	24.51	18.10
2000144	71.77	64.95	70.83	16.70	17.72	85.33	14.67	44.73	35.74	5.79	25.52	20.66
2000145	57.67	54.43	57.92	18.10	19.22	75.90	24.10	44.57	45.81	12.20	22.34	14.87
2000146	77.06	60.22	65.69	30.90	31.84	89.36	10.64	48.47	32.35	6.22	23.71	12.25
2000147	73.86			24.20	25.55	87.16	12.84	52.12	31.77	5.33	24.16	18.16
2000148	75.55	61.37	73.90	27.20	28.52	87.85	12.15	50.65	29.28	5.97	22.34	18.57
2000149	72.76			23.30	24.78	86.57	13.43	53.30	33.48	5.85	25.46	17.27
2000150	75.38			20.00	22.09	88.71	11.29	49.16	36.29	5.27	28.16	14.97
2000151	74.24			19.70	21.08	89.79	10.21	51.68	36.95	6.21	28.95	15.86
2000152	76.89			26.00	27.52	89.26	10.74	50.21	32.21	5.16	26.00	16.58
2000153	77.97			28.70	30.40	88.74	11.26	48.42	32.11	5.89	25.26	17.17
2001154	63.69	43.57	47.50	37.60	38.38	91.75	8.25	65.81	39.22	7.58	32.30	8.80
2001155	72.08	61.81	63.06	24.30	25.62	89.19	10.81	51.79	36.56	6.71	28.02	10.72
2001156	70.93	62.14	62.74	23.20	24.64	90.99	9.01	55.90	36.85	8.05	29.02	9.95
2001157	68.49	55.35	55.25	18.50	19.93	85.76	14.24	59.78	42.16	7.38	30.01	8.78
2001158	51.41	44.61	46.17	76.00	76.48	91.78	8.22	62.98	44.43	9.53	34.03	7.68
2001159	63.05	49.57	51.74	22.50	23.62	87.23	12.77	59.23	41.29	9.17	28.76	8.52
2001160	76.34	68.47	72.10	45.30	46.20	88.56	11.44	50.89	31.58	5.39	24.33	13.35
2001161	76.81			24.50	25.67	91.45	8.55	51.32	32.36	6.52	25.14	8.62
2002162	66.67	58.57	58.02	22.26	23.06	92.27	7.73	58.49	41.70	6.82	31.37	10.11
2002163	69.43			20.12	20.86	88.86	11.14	54.85	40.63	7.99	28.08	11.62
2002164	61.11	46.72	46.76	21.41	22.37	82.53	17.47	57.04	47.39	7.05	30.77	9.05
2002165	58.33			20.62	21.17	83.34	16.66	57.29	47.23	9.84	28.59	7.91
2002166	65.83			33.62	34.30	90.15	9.85	52.38	34.19	4.93	26.87	11.83
	DoTT	DoFND	DoPC	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	LAD	CEL	PB
Media	67.59	59.52	61.49	22.82	23.84	88.44	11.56	54.44	37.08	6.29	27.83	13.08
s.d.	6.74	7.97	10.74	9.11	9.11	3.34	3.34	6.78	4.86	2.38	4.49	3.32
c.v.	9.97	13.39	17.47	39.93	38.21	3.78	28.90	12.45	13.10	37.80	16.14	25.38
Max	80.74	79.18	81.12	76.00	76.48	93.57	31.65	69.94	51.78	14.50	39.61	24.46
Min	43.20	38.26	41.72	13.29	14.08	68.35	6.43	34.34	23.93	2.00	14.00	6.02

COD	ANALISIS DE LABORATORIO												
	FB	EB	Nt	NH3	NH3_Nt	NS_Nt	pH	pHdif	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
84001	30.81	18.08	2.68	0.36	13.50	53.50	4.22	0.13					
84011	28.28	18.15	2.45	0.23	9.50	55.20	4.18	0.13					
84012	27.80	17.90	2.48	0.21	8.30	43.80	3.86	-0.20					
84015	30.88	17.12	1.93	0.41	21.30	52.50	4.90	0.65					
84016	30.89	17.00	1.67	0.22	12.90	51.90	4.12	-0.17					
84021	25.77	17.60	3.04	0.37	12.20	53.40	3.99	-0.07					
84022	27.75	17.65	2.92	0.32	11.10	50.60	3.84	-0.18					
84023	25.51	17.78	4.22	1.23	29.10	52.80	5.15	1.20					
84024	29.68	18.10	3.52	0.94	26.70	82.00	4.83	0.89					
85011	24.64	19.69	2.42	0.30	12.20	52.00	4.67	0.47					
85012	26.08	19.87	2.39	0.35	14.50	58.30	4.27	0.14					
85013	28.82	19.22	1.81	0.21	11.40	45.70	4.22	0.06					
85014	28.35	19.55	1.68	0.14	8.10	49.40	4.13	-0.01					
85015	31.05	18.54	1.39	0.09	6.70	54.10	3.92	-0.23					
85016	29.58	18.40	1.32	0.10	7.50	54.50	3.93	-0.23					
85021	28.07	18.84	1.91	0.14	7.20	64.40	3.84	-0.31					
85022	27.36	19.47	1.90	0.11	5.70	51.50	3.78	-0.32					
85023	28.08	18.45	1.97	0.20	10.00	75.40	3.91	-0.18					
85024	28.11	19.51	1.87	0.15	8.20	62.40	3.86	-0.20					
87031	25.37	19.55	2.40	0.15	6.28	45.78	3.65	-0.64	6.22	1.99	0.31	0.71	2.05
87032		19.30	2.95	0.26	8.68	44.40	3.58	-0.46	4.48	3.87	1.05	0.10	2.16
87033	28.63	19.84	2.01	0.09	4.64	38.23	3.52	-0.70	9.19	2.62	0.16	0.21	2.27
87034		20.05	1.99	0.10	4.87	46.28	3.45	-0.73	8.41	2.77	0.38	0.34	2.38
88031	22.29	15.62	2.64	0.22	8.51	46.14	3.85	-0.23	6.85	2.66	0.62	0.33	1.70
88032	24.37	17.00	2.92	0.23	8.06	48.32	3.88	-0.18	7.69	2.98	0.62	0.13	1.66
88033	29.85	16.58	2.79	0.17	6.26	42.66	3.84	-0.32	7.72	2.78	0.51	0.18	1.72
88034	23.63	17.75	2.80	0.12	4.35	43.04	3.75	-0.37	7.35	2.12	0.21	0.30	1.88
89031	28.85	16.58	2.10	0.20	9.91	46.92	4.26	0.24	3.13	5.08	1.03	0.04	1.00
89032	27.43	17.75	2.43	0.26	10.68	51.12	4.19	0.18	4.05	4.59	0.82	0.51	1.12
89033	35.58	16.70	1.33	0.20	15.30	50.51	5.02	0.95	1.41	4.58	1.25	0.74	0.28
89034	36.47	17.75	1.66	0.25	15.43	53.76	4.66	0.65	1.53	2.72	2.13	1.10	0.33
93001	26.48	17.50	2.78	0.38	13.60	53.60	4.22	0.07	5.71	2.72	0.42	0.18	1.08
93002	23.79	18.75	2.75	0.26	9.49	55.27	4.18	-0.32	5.72	1.22	0.34	0.20	1.14
93003	26.26	18.56	2.28	0.19	8.33	43.86	3.86	-0.29	7.19	1.98	0.27	0.26	1.69
93004	25.35	20.03	3.52	0.75	21.31	52.56	4.90	0.90	2.94	3.00	1.39	0.31	0.00
93005	25.24	18.06	2.02	0.26	12.97	51.98	4.12	-0.11	6.09	2.28	0.32	0.75	1.25
93006	26.73	21.75	2.79	0.34	12.19	53.41	3.99	-0.06	6.71	1.66	0.88	1.05	1.47
93007	32.16	19.31	1.54	0.17	11.10	50.65	3.84	-0.31	7.27	1.49	0.49	1.15	1.72
93008	28.59	20.83	3.82	1.11	29.16	52.88	5.15	1.06	1.85	2.32	1.80	0.73	0.00
93009	39.53	19.50	2.01	0.54	26.77	82.09	4.83	0.80	3.22	2.05	1.75	0.37	0.04
93010	33.79	18.68	2.40	0.30	12.29	52.08	4.67	0.43	3.80	1.79	1.21	0.13	0.31
93011	32.46	17.67	2.23	0.32	14.53	58.30	4.27	0.17	5.51	2.09	0.83	0.48	0.99
93012	31.02	16.85	1.99	0.23	11.46	45.73	4.22	0.04	5.69	2.18	0.59	0.02	1.08
93013	19.21	13.95	2.86	0.28	9.79	59.44	4.13	0.04	6.33	1.72	0.28	0.28	0.61
93014	22.88	15.73	2.53	0.17	6.72	54.15	3.92	-0.18	7.55	1.74	0.22	0.11	0.43
93015	31.62	18.17	2.64	0.20	7.58	54.55	3.93	-0.02	7.68	3.45	0.35	0.28	2.04
93016	31.61	18.40	2.36	0.17	7.20	64.41	3.84	-0.13	9.80	3.92	0.07	0.20	1.62
93017	32.05	17.93	2.62	0.15	5.73	51.53	3.78	-0.24	9.19	3.54	0.06	0.12	1.80
93018	36.74	19.06	2.08	0.21	10.10	75.48	3.91	-0.01	6.67	3.56	0.15	0.22	1.33
93019	30.38	17.71	2.29	0.19	8.30	62.45	3.86	-0.08	9.78	4.60	0.07	0.29	1.87
93020	31.59	17.95	1.83	0.14	7.65	57.92	3.80	-0.20	10.77	3.46	0.19	0.19	1.79
93021	32.11	18.07	1.84	0.14	7.61	55.98	3.81	-0.21	8.45	3.29	0.31	0.37	2.42
93022	29.79	17.74	1.85	0.11	5.95	58.92	3.83	-0.26	7.22	2.00	0.17	0.11	2.67
93023	35.21	17.87	1.53	0.11	7.19	46.41	3.93	-0.26	5.17	1.53	0.14	0.14	1.29
93024	38.95	18.49	1.28	0.11	8.59	57.03	3.95	-0.34	3.86	0.68	0.08	0.13	0.85
93025	35.03	17.96	1.03	0.04	3.88	31.07	4.52	0.01	2.61	0.64	0.07	0.07	0.27
93026	32.84	17.93	2.13	0.51	23.94	35.68	4.83	0.78	1.54	1.95	2.66	0.77	0.24
93027	25.57	17.92	2.69	0.39	14.50	59.11	4.51	0.07	5.45	1.79	0.54	0.11	1.11
94028	30.49	18.10	2.37	0.28	11.81	41.35	4.55	0.40	2.42	2.93	0.86	0.45	0.51
94029	36.67	19.25	1.95	0.38	19.49	50.26	4.77	0.72	1.82	1.53	3.71	0.24	0.88
94030	26.50	18.73	2.35	0.24	10.21	52.77	4.34	-0.15	5.12	1.91	0.51	0.07	0.27
94031	34.56	19.07	1.80	0.21	11.67	53.33	3.98	-0.15	6.49	3.61	1.73	0.68	0.52
94032	28.38	19.09	2.25	0.23	10.22	53.33	4.32	-0.17	5.94	1.50	0.85	0.07	0.20
94033	28.51	18.60	2.26	0.34	15.04	46.02	4.31	0.21	5.14	1.89	2.32	0.27	0.81
94034	22.65	18.87	3.80	0.63	16.58	62.63	4.44	0.24	5.96	2.72	2.82	0.23	1.03
94035	31.73	19.14	2.46	0.30	12.20	39.84	4.23	0.17	5.35	2.50	1.40	0.41	0.81
94036	33.47	18.87	1.71	0.15	8.77	42.11	4.23	0.14	2.97	1.59	2.58	0.11	0.60
94037	37.17	18.32	2.31	0.49	21.21	57.58	4.54	0.53	2.94	3.31	2.69	0.63	1.25

COD	ANALISIS DE LABORATORIO												
	FB	EB	Nt	NH3	NH3_Nt	NS_Nt	pH	pHdif	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
94038	33.44	18.62	2.15	0.36	16.74	62.33	4.62	0.54	3.20	1.91	2.08	0.39	2.92
94039	26.08	17.38	2.45	0.35	14.29	64.49	4.12	0.12	5.38	2.37	1.28	0.13	1.09
94040	25.86	18.13	3.16	0.58	18.35	66.77	4.53	0.58	4.79	3.66	1.48	0.28	2.39
94041	25.84	18.15	3.08	0.44	14.29	65.91	4.21	0.26	6.01	3.92	0.84	0.35	1.61
94042	26.89	17.77	1.98	0.21	10.61	57.58	3.74	-0.26	8.72	1.92	0.38	0.00	0.45
94043	31.28	17.98	1.57	0.25	15.92	56.05	3.90	-0.46	5.14	1.17	0.86	0.12	1.75
94044	19.16	17.19	3.28	0.16	4.88	64.94	4.14	0.06	6.98	1.68	0.17	0.00	2.12
94045	21.79	17.17	2.70	0.37	13.70	57.78	3.82	-0.23	10.35	2.41	0.12	0.00	1.12
94046	27.14	16.32	2.38	0.15	6.30	62.18	4.55	0.47	3.85	1.90	2.01	0.06	1.73
94047	31.92	18.92	2.30	0.37	16.09	56.09	4.97	0.82	2.91	1.61	1.46	0.05	1.36
94048	25.47	20.03	2.36	0.14	5.93	48.73	5.32	0.42	1.18	0.96	0.37	0.00	1.05
94049	24.82	18.58	3.14	0.32	10.19	45.86	4.46	0.43	3.93	6.63	0.31	1.17	1.10
94050	28.52	19.20	1.61	0.13	8.07	55.28	4.26	-0.27	5.35	1.91	1.55	0.03	0.56
94051	23.99	18.88	2.19	0.17	7.76	59.36	4.18	-0.09	5.65	2.61	1.30	0.00	1.17
94052	28.07	17.66	1.38	0.11	7.97	49.28	4.16	-0.09	5.77	1.94	2.69	0.13	0.84
94053	24.12	17.57	2.75	0.23	8.18	48.00	4.74	-0.06	3.51	1.11	0.00	0.00	0.42
94054	18.62	19.92	3.11	0.25	8.04	45.66	4.71	-0.23	3.35	1.08	0.10	0.00	0.33
94055	31.81	18.58	2.38	0.45	18.70	55.88	4.56	0.36	5.97	1.94	2.46	0.14	0.95
94056	26.10	19.54	3.10	0.42	13.55	51.29	4.59	0.38	6.07	2.20	1.92	0.14	0.51
94057	27.85	18.56	2.32	0.20	8.41	43.53	4.07	-0.01	7.93	3.07	2.51	0.17	1.01
94058	27.84	18.75	2.79	0.22	7.89	39.78	4.20	0.20	5.21	2.32	0.51	0.19	0.71
94059	27.97	18.29	2.83	0.52	18.37	57.60	4.54	0.36	4.11	2.32	1.35	0.34	0.82
94060	28.88	20.05	2.12	0.24	11.08	59.91	4.52	0.24	2.60	2.38	2.77	0.09	1.45
94061	26.96	19.35	3.02	0.32	10.60	65.23	3.99	-0.10	9.17	3.33	0.28	0.39	1.11
94062	28.13	19.77	1.80	0.13	7.22	54.44	4.94	-0.01	1.90	1.09	1.21	0.00	0.52
94063	27.50	20.03	2.11	0.17	8.06	47.39	4.20	0.02	3.53	3.00	2.42	0.19	1.40
94064	29.10	18.75	2.62	0.28	10.69	63.36	4.40	-0.05	4.80	3.31	1.07	0.14	1.03
94065	28.23	19.20	2.81	0.45	16.01	48.75	5.04	0.54	2.55	1.60	1.70	0.14	0.37
95066	32.79	18.61	2.63	0.36	13.69	28.14	4.78	0.57	0.93	1.72	3.53	0.37	0.47
95067	29.90	18.64	2.63	0.26	9.89	44.11	4.12	0.05	5.97	2.61	1.08	0.40	1.02
95068	35.84	19.47	1.80	0.17	9.44	54.44	4.90	0.35	0.87	0.42	1.97	0.19	0.77
95069	25.46	17.73	2.27	0.19	8.37	59.03	4.18	-0.13	6.58	1.11	2.02	0.21	1.69
95070	24.22	17.93	4.09	0.48	11.74	61.86	4.45	0.49	8.13	7.50	0.21	1.04	0.63
95071	24.62	18.92	3.62	0.38	10.50	56.35	4.07	0.10	10.00	1.84	0.07	0.14	1.90
95072	26.88	16.68	2.61	0.30	11.49	49.43	4.14	-0.11	5.86	1.37	1.94	0.53	0.97
95073	26.05	17.05	2.08	0.16	7.69	48.08	3.67	-0.53	9.00	1.94	1.18	0.52	0.95
95074	29.80	17.53	2.23	0.21	9.42	54.26	3.99	-0.06	7.59	2.94	0.76	0.53	1.71
95075	28.80	18.03	2.97	0.38	12.79	58.25	4.10	0.08	8.51	2.67	1.30	0.37	3.29
95076	24.63	17.97	2.36	0.21	8.90	50.85	4.42	0.29	7.38	2.88	0.68	0.63	1.15
95077	22.27	17.61	3.63	0.35	9.64	52.89	4.02	0.02	8.73	3.44	0.51	0.76	0.83
95078	31.68	17.99	2.78	0.49	17.63	58.63	4.54	0.52	4.01	1.85	3.70	0.43	3.02
95079	21.81	17.67	2.29	0.16	6.99	58.52	4.13	-0.46	4.14	1.37	0.40	0.12	0.65
95080	32.33	17.19	1.59	0.12	7.55	50.31	3.89	-0.55	5.81	0.79	0.36	0.00	1.94
95081	29.08	16.70	2.10	0.22	10.48	56.19	4.37	0.09	4.13	0.60	2.00	0.04	1.83
95082	25.21	19.07	2.82	0.23	7.98	58.16	3.85	-0.39	12.16	3.38	0.09	0.27	2.03
95083	24.06	19.76	2.10	0.25	11.81	61.43	4.32	-0.13	6.23	1.53	2.42	0.27	0.71
95084	26.95	19.22	1.19	0.04	3.36	52.94	5.28	0.19	0.43	0.33	0.17	0.27	4.07
95085	33.21	18.53	1.64	0.11	6.65	54.27	3.77	-0.33	7.81	4.04	0.00	0.27	0.44
95086	32.04	18.58	1.81	0.29	16.24	85.08	3.70	-0.35	9.12	2.29	0.41	0.27	1.35
95087	26.99	18.95	2.86	0.28	9.76	21.33	5.41	0.43	2.56	0.79	0.09	0.27	0.28
95088	32.05	19.11	1.68	0.26	15.60	71.43	4.61	0.35	3.19	1.44	4.37	0.27	0.83
95089	27.47	19.97	1.65	0.11	6.79	27.27	4.59	-0.12	1.66	1.41	1.10	0.27	0.65
96090	29.41	18.02	1.93	0.11	5.44	54.92	3.94	-0.15	12.83	2.22	0.17	0.14	1.72
96091	28.39	18.49	2.19	0.14	6.16	50.68	4.17	0.04	11.25	1.61	1.77	0.14	1.93
96092	29.40	18.76	2.08	0.12	5.72	50.00	4.02	-0.08	11.85	2.88	0.98	0.14	1.30
96093	27.78	19.27	1.98	0.10	4.80	60.61	4.35	0.04	13.31	1.24	1.28	0.14	1.57
96094	30.09	19.73	2.16	0.06	2.92	46.30	4.67	0.09	5.43	1.51	1.23	0.14	1.17
96095	26.79	18.39	2.10	0.07	3.33	51.43	4.55	-0.02	5.33	1.43	1.71	0.14	1.30
96096	26.11	20.03	1.94	0.06	3.30	52.58	4.52	0.02	5.61	1.77	1.43	0.14	1.26
96097	28.87	19.23	1.86	0.08	4.35	53.23	4.60	0.18	4.89	1.47	2.28	0.14	1.32
96098	31.24	19.16	2.58	0.18	6.90	50.39	4.48	0.44	9.11	3.93	2.02	0.14	2.14
96099	29.63	19.56	3.16	0.38	11.93	67.09	5.10	0.97	4.51	4.92	4.61	0.14	0.88
96100	27.59	18.47	2.38	0.19	7.82	45.80	4.36	0.36	3.94	5.42	0.97	0.14	1.61
96101	26.78	18.28	2.08	0.05	2.40	57.21	4.52	-0.07	6.80	2.98	0.16	0.14	1.50
96102	27.70	18.58	2.05	0.22	10.73	53.66	4.48	0.06	2.05	0.44	0.95	0.14	0.15
96103	28.89	18.44	1.87	0.30	16.04	62.57	4.34	0.07	5.13	1.26	1.43	0.14	0.13
96104	29.52	18.07	1.60	0.18	11.25	51.25	3.66	-0.43	10.11	1.26	0.22	0.14	0.22
96105	26.07	19.35	1.85	0.21	11.35	62.16	4.83	0.39	2.63	0.32	1.15	0.14	0.22

COD	ANALISIS DE LABORATORIO												
	FB	EB	Nt	NH3	NH3_Nt	NS_Nt	pH	pHdif	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
97106	25.98	17.34	2.33	0.12	4.94	36.05	4.40	0.34	6.72	3.10	1.32	0.23	0.40
97107	26.82	17.73	2.50	0.13	5.16	43.20	4.05	0.00	8.94	2.24	0.76	0.18	0.53
97108	28.95	17.99	2.47	0.12	4.90	40.89	4.40	0.34	6.36	3.35	0.75	0.17	1.56
98109	28.65	18.36	2.03	0.20	9.77	36.36	4.25	0.03	6.41	2.67	0.32	1.84	0.88
98110	27.63	19.98	2.61	0.09	3.26	34.85	5.77	0.52	0.48	0.30	0.06	0.12	3.09
98111	27.90	20.43	2.27	0.15	6.70	42.05	5.03	0.20	0.10	0.28	0.10	1.73	0.77
98112	33.62	19.44	2.41	0.16	6.56	35.94	4.64	0.25	2.33	1.95	0.71	2.44	0.83
98113	25.80	18.93	2.03	0.13	6.58	34.21	3.60	-0.51	8.82	2.14	0.00	0.00	1.23
98114	31.90	16.77	1.10	0.04	3.97	27.59	4.90	-0.44	0.45	0.27	0.00	0.08	0.23
98115	28.60	16.82	1.73	0.14	8.00	31.43	4.10	-0.07	4.65	0.79	0.00	0.59	0.54
98116	26.20	18.44	2.04	0.10	4.93	36.99	4.30	-0.42	4.73	0.64	0.17	0.11	0.50
98117	24.70	19.23	1.94	0.09	4.77	38.64	3.70	-0.55	12.60	3.39	0.31	0.00	3.00
98118	28.00	19.79	2.47	0.23	9.12	28.07	4.70	0.43	6.32	2.12	0.17	0.95	0.48
98119	32.80	17.51	2.81	0.28	9.84	36.07	4.51	0.29	4.47	1.29	1.84	0.23	0.64
98120	41.10	17.27	1.66	0.14	8.33	34.52	4.95	-0.30	1.50	0.20	0.20	0.00	0.85
98121	35.10	18.14	3.87	0.13	3.25	36.36	5.58	0.71	1.23	0.53	0.10	0.00	0.75
98122	28.80	16.96	3.29	0.21	6.25	35.42	3.95	-0.54	7.29	0.79	0.27	0.10	0.51
98123	27.00	18.61	3.76	0.20	5.22	40.30	4.50	-0.22	5.62	0.79	0.00	0.00	0.20
98124	34.00	18.61	3.45	0.10	2.78	30.00	5.66	0.35	1.09	0.08	0.00	0.00	1.48
98125	25.90	18.10	3.61	0.15	4.17	35.42	4.61	-0.26	4.24	1.08	0.05	0.35	0.38
99126	34.10	18.59	2.47	0.14	5.75	52.73	3.90	-0.15	7.46	2.49	0.00	0.18	0.77
99127	34.50	18.82	1.96	0.12	6.06	36.34	3.70	-0.34	7.60	1.48	0.00	0.00	0.83
99128	32.00	18.81	2.19	0.14	6.38	58.70	3.60	-0.48	6.65	1.23	0.00	0.00	0.67
99129	33.20	18.67	2.50	0.14	5.77	51.03	3.70	-0.39	6.32	1.89	0.00	0.00	1.72
99130	33.00	18.37	1.94	0.15	7.98	57.45	4.10	0.08	3.96	2.85	0.43	0.37	0.50
99131	33.30	19.25	2.25	0.17	7.40	63.02	4.20	0.18	3.14	2.47	0.62	0.37	0.37
99132	33.40	18.95	1.90	0.12	6.36	54.10	3.80	-0.23	5.20	1.57	0.36	0.18	0.30
99133	34.10	19.31	1.98	0.11	5.56	43.27	3.80	-0.23	5.20	1.59	0.00	0.00	0.73
99134	26.90	17.83	3.14	0.24	7.55	30.32	6.20	0.99	0.53	0.49	0.71	0.14	0.55
99135	32.30	16.94	2.77	0.33	12.00	48.57	4.20	-0.15	10.55	3.44	0.79	0.67	1.03
99136	29.20	17.84	3.58	0.68	18.89	42.86	4.40	0.33	6.08	1.65	1.48	0.00	0.91
99137	32.50	17.67	2.85	0.52	18.11	49.06	4.90	0.79	4.46	3.12	4.73	1.18	1.67
99138	30.90	18.09	3.19	0.43	13.48	33.33	4.70	0.48	3.61	1.57	1.44	0.23	0.65
99139	36.00	17.30	2.90	0.62	21.43	42.86	5.10	1.05	0.53	2.01	4.26	0.47	1.24
99140	32.30	17.45	2.16	0.16	7.26	36.99	4.40	-0.25	3.61	1.09	1.36	0.00	0.56
99141	33.60	18.19	2.34	0.27	11.62	35.14	4.50	0.49	2.34	1.90	2.53	0.57	1.39
2000142	24.70	16.34	2.69	0.21	7.70	37.70	4.00	-0.25	9.38	2.07	0.75	0.40	1.76
2000143	25.50	17.37	2.63	0.22	8.17	45.16	4.90	0.19	1.81	0.85	1.13	0.23	0.71
2000144	26.30	17.05	3.47	0.32	9.31	48.28	4.30	0.26	5.45	4.07	0.48	0.54	0.90
2000145	32.20	15.41	2.71	0.36	13.47	32.65	4.70	0.61	1.55	3.20	2.54	0.77	0.94
2000146	23.70	17.49	1.81	0.13	7.14	50.00	3.80	-0.75	5.02	1.36	0.19	0.13	0.74
2000147	25.70	19.28	3.76	0.45	11.98	57.14	4.30	-0.01	8.10	2.89	1.20	0.25	0.58
2000148	24.10	19.23	3.68	0.37	10.10	53.00	4.10	-0.32	8.27	2.10	0.66	0.15	0.99
2000149	26.20	19.13	3.26	0.49	15.13	60.53	4.50	0.22	6.27	3.09	1.55	0.26	1.29
2000150	27.40	18.79	2.60	0.16	6.15	46.15	3.90	-0.26	14.90	2.85	0.00	0.00	5.65
2000151	27.90	18.88	2.64	0.15	5.58	44.23	3.90	-0.25	9.09	1.88	0.00	0.00	3.96
2000152	25.50	18.65	2.85	0.21	7.30	52.70	4.10	-0.27	12.73	1.46	0.00	0.00	2.69
2000153	24.20	18.44	2.75	0.16	5.82	49.37	4.00	-0.47	7.70	1.36	0.00	0.00	3.59
2001154	33.10	17.98	1.86	0.06	3.14	38.57	4.90	0.11	0.69	0.19	1.33	0.11	0.80
2001155	26.20	17.40	2.10	0.27	12.75	50.98	4.20	-0.11	8.56	1.77	1.56	0.16	1.15
2001156	28.10	17.67	1.81	0.06	3.10	38.10	3.50	-0.77	17.28	1.64	0.00	0.00	2.24
2001157	29.80	16.89	1.62	0.08	5.00	36.67	4.10	0.00	5.46	5.14	0.49	0.70	1.41
2001158	34.90	17.49	1.42	0.02	1.39	15.74	5.90	-0.27	0.14	0.93	0.00	0.00	0.00
2001159	29.10	17.08	1.60	0.11	6.94	50.00	4.60	0.35	4.58	1.87	2.89	0.22	0.62
2001160	25.30	17.67	2.32	0.09	3.71	38.10	4.50	-0.57	3.93	0.66	0.09	0.04	0.75
2001161	25.40	17.68	1.59	0.05	3.08	43.59	3.60	-0.72	12.73	1.92	0.12	0.00	1.10
2002162	28.72		1.82	0.11	6.16	54.43	3.56	-0.68	9.92	1.25	0.05	0.10	0.86
2002163	26.79		2.13	0.15	7.23	47.09	3.73	-0.43	7.87	1.33	0.01	0.14	1.13
2002164	27.65		1.70	0.17	10.19	30.03	4.17	-0.04	0.90	3.21	0.06	0.51	0.99
2002165	27.37		1.33	0.09	6.55	31.64	4.13	-0.05	3.16	0.57	1.01	0.16	0.68
2002166	24.44		2.16	0.12	5.50	50.21	4.10	-0.55	4.82	0.87	0.13	0.02	0.39
	FB	EB	Nt	NH3	NH3_Nt	NS_Nt	pH	pHdif	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
Media	28.82	18.34	2.37	0.24	9.82	49.97	4.30	0.03	5.69	2.15	0.98	0.28	1.17
s.d.	3.85	1.05	0.62	0.17	5.04	10.92	0.48	0.40	3.15	1.21	1.02	0.34	0.84
c.v.	13.36	5.75	26.34	70.52	51.35	21.85	11.15	1154.86	55.38	56.44	103.94	121.21	71.25
Max	41.10	21.75	4.22	1.23	29.16	85.08	6.20	1.20	17.28	7.50	4.73	2.44	5.65
Min	18.62	13.95	1.03	0.02	1.39	15.74	3.45	-0.77	0.10	0.08	0.00	0.00	0.00

**ANEXO 2.- Valores de la colección de ensilajes de planta
entera de maíz evaluados *in vivo* en el CIAM**

Identificación de las columnas contenidas en el Anexo n° 2

N°: número de orden

COD: Código de identificación de la muestra

DE: digestibilidad *in vivo* de la energía bruta (%); **DMS:** digestibilidad *in vivo* de la materia seca (%); **DMO:** digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (%); **DFND:** digestibilidad *in vivo* de la pared celular (%);

DoTT: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%) método Tilley-Terry ;

DoNDC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%), método FND-Celulasa;

DoPC: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (%), método Pepsina-Celulasa

Constantes de degradabilidad de la materia seca obtenidas en la incubación *in situ*:

a=fracción inmediatamente degradable; **b**=fracción lentamente degradable; **c**=constante fraccional de la degradación de b en el rumen (h^{-1}); **D72:** porcentaje de desaparición de materia seca de las bolsas incubadas 72 h en el rumen

MS: materia seca; **MS_c:** materia seca corregida por pérdida de volátiles durante el secado en estufa; **CZ:** Cenizas (%MS); **FND:** Fibra neutro detergente (%MS); **FAD:** fibra ácido detergente (%MS); **FB:** fibra bruta (%MS); **CEL:** celulosa (%MS); **LAD:** lignina-sulfúrico (%MS); **ALM:** Almidón (%MS); **PB:** proteína bruta (%MS); **EB:** energía bruta (MJ kg^{-1} MS)

Nt: nitrógeno total (%MS); **NH₃_Nt:** N amoniacal (% N total); **NS_Nt:** N soluble (%N total); **LCTSS:** Ácido Láctico (%MS); **ACTSS:** Ácido Acético (%MS); **BUTSS:** Ácido butírico (%MS); **PROSS:** Ácido Propiónico (%MS); **ETASS:** Etanol, (%MS)

Valores de la colección de ensilajes de planta entera de maíz evaluados in vivo en el CIAM

Nº	COD	RESULTADOS EVALUACIÓN <i>in vivo</i>				DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>			DEGRADABILIDAD M.Seca <i>in situ</i>			
		DE	DMS	DMO	DFND	DoTT	DoNDC	DoPC	D72	a	b	c
1	1997001	68.26	64.47	65.29	48.77	72.36	59.93	61.60				
2	1997002	65.04	61.38	62.65	43.33	75.54	60.19	62.87				
3	1998003	67.48	67.19	69.88	53.04	75.00	66.34	66.96				
4	1998004	64.24	64.60	67.27	49.30	73.11	63.94	64.51				
5	1998005	62.00	60.31	63.68	60.24	73.66	55.37	56.99				
6	1998006	64.87	63.46	66.62	59.56	70.12	55.44	55.03				
7	1998007	67.39	64.61	67.60	53.29	72.93	60.23	58.82				
8	1998008	67.54	67.22	70.19	60.41	76.74	70.42	69.28				
9	1998009	66.47	65.89	68.60	57.82	75.43	66.87	64.86				
10	1998010	55.86	56.46	59.10	48.85	68.00	59.84	57.53				
11	1998011	64.58	63.69	64.81	48.55	71.68	59.51	56.81				
12	1998012	69.13	66.76	68.62	58.83	74.95	64.70	62.07	81.82	49.49	34.89	0.041
13	1999013	68.97	67.95	69.97	60.61	72.31	66.81	64.21	84.31	54.53	32.86	0.033
14	1999014	63.93	62.23	65.55	54.01	69.82	64.09	62.89				
15	1999015	64.37	62.75	65.80	59.31	68.85	57.55	55.37				
16	1999016	65.89	63.87	67.19	52.22	71.54	66.13	64.00	82.54	49.68	35.53	0.038
17	1999017	67.23	65.91	68.38	63.86	72.11	64.00	62.17	82.56	49.16	36.50	0.037
18	1999018	63.95	62.40	64.56	62.21	68.62	60.46	56.70				
19	1999019	64.29	63.75	65.21	58.35	70.17	60.76	57.82				
20	1999020	61.75	60.88	63.10	57.40	71.29	64.16	60.76	81.37	46.63	38.13	0.034
21	1999021	68.24	67.72	69.63	54.11	76.86	71.71	68.46	86.10	54.28	33.62	0.043
22	1999022	65.86	64.60	67.08	61.87	72.98	65.15	61.04				
23	1999023	65.79	64.29	66.73	57.20	70.86	63.64	59.36	78.05	41.73	39.11	0.037
24	1999024	61.38	59.81	61.81	52.00	66.54	62.31	57.07	76.89	40.81	41.98	0.028
25	1999025	66.10	66.38	67.81	59.92	75.44	65.19	62.54	83.70	52.69	35.22	0.031
26	1999026	67.24	67.46	68.76	58.58	75.09	65.63	63.62	83.46	52.89	33.08	0.036
27	1999027	68.60	68.57	69.88	60.83	74.66	69.49	67.45	83.54	55.13	34.74	0.024
28	2000028	66.02	63.20	65.28	52.70	72.77	61.41	59.55	79.94	45.33	41.91	0.024
29	2000029	66.18	64.53	67.10	53.49	74.53	64.31	62.56	81.63	48.88	41.94	0.021
30	2000031	70.81	70.90	72.90	60.66	72.42	58.50	55.95				
31	2000032	69.30	68.63	70.28	57.32	74.81	62.63	60.94	82.28	52.69	43.71	0.016
32	2001034	67.90	67.09	68.43	63.16	75.98	56.99	57.62				
33	2001035	69.13	68.79	70.48	67.61	78.34	60.29	61.05				
34	2001036	68.69	68.10	69.78	60.70	77.17	60.33	61.42				
35	2001037	68.20	68.27	69.61	63.53	74.92	57.92	58.35				
36	2001038	69.85	71.71	72.97	59.54	78.02	65.05	65.59				
37	2001039	68.97	70.30	71.87	59.05	77.81	63.69	65.09				
38	2001040	69.39	70.32	71.67	54.05	78.76	69.10	68.51	87.22	53.19	35.31	0.042
39	2001041	72.28	73.62	74.99	61.62	79.89	69.51	69.05	87.64	53.84	34.73	0.046
40	2001042	72.40	73.87	75.35	56.62	80.05	71.48	69.56	88.69	53.84	35.43	0.050
41	2001043	69.45	70.96	72.13	46.76	80.03	72.92	72.88	88.07	57.89	30.88	0.047
42	2002044	62.87	65.30	66.75	39.85	77.31	69.71	70.18	85.25	44.58	41.12	0.052
43	2002045	66.89	68.32	69.65	46.97	78.21	69.10	71.13	86.52	45.66	42.56	0.047
44	2002046	61.58	63.24	64.78	32.79	76.43	68.23	68.49	84.33	48.25	39.30	0.035
45	2002047	70.71	71.99	73.38	54.88	77.49	64.96	65.91	85.38	44.31	42.48	0.045
46	2002048	63.64	65.58	67.03	38.46	76.92	69.18	69.31	84.95	50.13	35.80	0.052
47	2002049	66.01	67.91	69.40	41.97	76.45	71.24	70.14	86.06	48.43	38.61	0.052
48	2002050	61.82	63.36	65.05	37.43	74.99	69.08	69.63	86.05	52.48	35.27	0.044
49	2002051	61.55	63.86	65.25	43.56	73.95	64.70	65.04	83.41	47.89	37.41	0.044
50	2002052	66.28	67.46	68.82	49.07	72.74	64.27	64.25	81.56	47.05	37.17	0.037
51	2002053	67.88	68.87	70.67	45.53	75.44	68.19	70.28	85.32	51.84	35.79	0.039
52	2002054	64.44	65.73	67.10	35.58	73.61	69.19	69.37	83.14	49.59	36.13	0.040
53	2002055	66.40	67.74	69.05	40.40	75.04	70.80	69.86	83.75	49.38	37.00	0.040
54	2002056	63.76	65.25	66.66	36.32	76.57	69.91	70.62	86.04	46.41	41.11	0.049
55	2002057	63.43	64.95	66.29	35.01	72.52	69.55	66.59	82.43	53.27	31.74	0.035
56	2002058	62.79	64.67	65.84	38.47	72.07	67.32	67.07	82.90	55.24	30.30	0.036
57	2002059	66.40	68.61	69.62	46.62	74.95	67.38	64.54				
58	2002060	65.20	66.99	68.00	40.10	76.47	68.78	67.14				
59	2002061	62.58	64.19	65.12	45.99	71.40	62.56	61.17				
60	2002062	63.07	65.49	66.33	44.07	73.89	64.79	64.40	81.90	48.23	35.36	0.045
61	2002063	63.78	65.89	66.85	43.53	75.32	67.27	66.47				
62	2002064	62.11	64.30	65.30	41.26	72.51	63.93	60.25				
63	2002065	68.47	70.22	71.23	51.05	75.38	66.28	66.39				
64	2002066	65.69	66.48	67.92	41.18	76.46	68.04	67.09	84.37	45.06	41.70	0.040
65	2002067	65.85	66.57	68.32	45.33	73.36	65.35	61.08	80.06	44.17	38.87	0.037
66	2002068	70.11	70.78	72.09	56.36	72.50	66.82	67.65				

Valores de la colección de ensilajes de planta entera de maíz evaluados in vivo en el CIAM

N°	COD	RESULTADOS EVALUACIÓN <i>in vivo</i>				DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>			DEGRADABILIDAD M.Seca <i>in situ</i>			
		DE	DMS	DMO	DFND	DoTT	DoNDC	DoPC	D72	a	b	c
67	2002069	67.72	68.62	70.85	50.71	74.51	67.58	69.05	83.70	46.14	41.00	0.036
68	2003070	68.21	69.60	71.05	47.79	73.97	66.95	68.21				
69	2003071	63.69	66.10	67.39	35.67	72.56	71.58	71.00	83.12	48.50	37.53	0.036
70	2003072	66.44	68.23	69.72	49.07	74.33	68.09	68.22				
71	2003073	67.95	70.05	71.51	55.81	74.37	64.31	64.68				
72	2003074	68.93	71.35	72.74	53.02	77.17	72.87	72.45				
73	2003075	64.45	66.66	68.16	43.02	82.30	72.41	70.99				
74	2003076	62.76	65.35	66.97	46.06	78.49	65.64	64.69	82.69	44.65	39.65	0.046
75	2003077	69.03	71.88	73.50	53.35	80.78	72.26	72.59				
76	2003078	62.35	66.43	67.62	43.75	75.90	66.15	63.73				
77	2003079	66.80	71.13	72.54	51.36	79.14	71.99	72.34	86.85	50.49	38.18	0.045
78	2003080	70.89	72.23	73.14	45.09	78.88	74.52	75.20				
79	2003081	70.49	71.65	72.79	48.74	81.15	72.45	72.00				
80	2003082	71.10	72.39	73.38	49.57	80.59	71.49	71.57				
81	2003083	72.26	73.39	74.52	53.20	77.87	71.27	71.02				
82	2003084	72.29	73.70	74.65	50.26	78.27	73.47	73.67				
83	2003085	71.04	72.05	73.19	48.88	77.23	69.52	69.85				
84	2003086	67.30	68.29	69.70	48.45	73.38	65.10	65.33	84.23	47.56	38.76	0.043
85	2003087	73.92	75.63	76.85	61.55	81.21	69.21	68.18	87.42	53.31	37.21	0.036
86	2003088	66.15	67.01	67.91	41.44	72.27	67.45	66.85	83.14	48.63	37.83	0.034
87	2003089		68.96	69.73	42.23	76.15	72.13	73.65	87.05	50.48	39.28	0.038
88	2003090		66.83	67.93	42.02	73.24	68.94	68.04	82.12	49.48	36.60	0.033
89	2003091		59.84	64.79	46.17	68.33	59.68	60.34	80.91	45.62	38.68	0.035
90	2003092		64.41	65.44	51.80	66.74	57.99	56.99				
91	2003093		67.98	69.19	55.27	74.36	61.61	61.72				
		DE	DMS	DMO	DFND	DoTT	DoFND	DoPC	D72	a	b	c
Media		66.54	67.02	68.69	50.74	74.81	65.99	65.22	83.79	49.34	37.44	0.039
s.d.		3.21	3.59	3.29	8.10	3.32	4.55	5.00	2.55	3.84	3.23	0.008
c.v.		4.82	5.36	4.79	15.96	4.44	6.89	7.67	3.05	7.79	8.63	20.87
Max		73.92	75.63	76.85	67.61	82.30	74.52	75.20	88.69	57.89	43.71	0.052
Min		55.86	56.46	59.10	32.79	66.54	55.37	55.03	76.89	40.81	30.30	0.016

Valores de la colección de ensilajes de planta entera de maíz evaluados in vivo en el CIAM

COD	ANALISIS DE LABORATORIO									
	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	CEL	LAD	FB	ALM
1997001	28.30	29.57	93.88	6.12	51.21	31.34	28.10	3.24	24.37	26.27
1997002	26.10	27.40	94.33	5.67	50.73	29.48	26.27	2.88	22.06	24.68
1998003	29.30	30.11	95.82	4.18	44.80	24.27	21.45	2.56	20.12	27.66
1998004	30.20	30.86	96.04	3.96	45.96	25.88	23.27	2.49	20.69	25.23
1998005	20.40	21.21	95.79	4.21	64.73	35.50	32.32	3.00	28.49	6.53
1998006	20.70	21.51	96.25	3.75	62.24	35.59	31.85	3.51	27.87	7.30
1998007	21.40	22.26	96.67	3.33	52.12	32.49	29.35	2.91	26.13	8.54
1998008	31.00	31.63	96.27	3.73	39.43	21.51	19.38	1.93	17.38	25.18
1998009	29.10	29.67	96.15	3.85	47.41	25.81	23.11	2.44	20.48	20.81
1998010	32.20	32.48	96.37	3.63	52.11	28.28	24.55	3.53	21.27	20.62
1998011	25.20	26.38	95.77	4.23	52.14	31.90	28.66	3.05	24.20	22.09
1998012	28.00	28.97	95.34	4.66	45.16	27.85	24.66	2.61	27.28	23.97
1999013	33.10	33.51	96.71	3.29	40.03	22.71	20.35	2.20	21.96	31.38
1999014	27.50	27.81	96.91	3.09	42.82	25.13	21.67	2.59	23.84	29.98
1999015	27.20	27.88	95.65	4.35	50.10	31.84	27.74	3.15	29.01	20.18
1999016	33.00	33.65	96.61	3.39	41.57	24.22	21.12	2.57	23.27	33.18
1999017	30.30	31.05	95.73	4.27	44.39	25.88	23.08	2.50	25.78	20.62
1999018	25.90	26.10	94.93	5.07	46.73	26.81	23.32	3.03	29.21	14.46
1999019	22.60	23.02	93.73	6.27	47.62	27.02	23.91	2.65	28.81	20.66
1999020	36.40	36.78	96.54	3.46	43.93	25.19	23.02	2.08	26.90	32.14
1999021	31.00	31.79	97.05	2.95	36.67	20.19	18.54	1.82	26.54	27.61
1999022	26.40	27.06	97.09	2.91	44.59	26.32	23.77	2.49	24.65	31.96
1999023	25.50	25.77	95.58	4.42	42.88	25.68	22.51	3.04	30.62	21.99
1999024	24.80	25.16	95.73	4.27	44.56	27.07	23.46	3.41	31.17	21.25
1999025	35.50	36.38	95.60	4.40	41.10	23.73	20.83	2.69	20.33	32.45
1999026	34.20	35.02	95.83	4.17	40.81	23.43	20.66	2.63	20.67	32.29
1999027	30.00	30.88	96.20	3.80	39.34	22.60	19.94	2.27	21.50	33.77
2000028	27.10	28.00	96.30	3.70	47.69	27.28	24.20	2.91	24.87	25.50
2000029	30.40	31.42	96.20	3.80	42.58	24.64	21.34	2.79	21.07	30.00
2000031	24.50	25.37	96.81	3.19	53.16	32.76	28.89	3.37	27.60	19.24
2000032	31.30	32.25	96.08	3.92	45.45	27.76	24.72	2.74	24.20	22.78
2001034	15.40	16.30	93.72	6.28	60.62	36.69	33.72	2.87	33.05	0.00
2001035	15.70	16.49	93.91	6.09	61.49	35.71	33.51	2.05	32.28	0.00
2001036	20.40	21.03	95.37	4.63	56.83	32.60	29.95	2.39	28.68	0.00
2001037	18.60	19.49	95.08	4.92	60.79	35.09	32.48	2.35	31.72	1.48
2001038	24.70	25.20	95.80	4.20	47.21	26.96	24.45	2.65	24.90	14.99
2001039	24.50	24.99	95.99	4.01	49.62	28.11	25.71	2.44	24.70	15.17
2001040	28.00	28.58	96.20	3.80	40.10	23.19	21.29	1.94	21.02	22.45
2001041	28.80	29.38	95.98	4.02	42.51	22.85	20.92	2.00	19.92	22.81
2001042	33.30	34.05	96.31	3.69	39.47	21.14	19.07	2.15	19.28	28.81
2001043	35.00	35.73	96.84	3.16	37.50	20.23	18.37	1.89	19.19	33.92
2002044	36.81	37.54	96.32	3.68	40.49	21.32	19.38	1.98	20.18	34.30
2002045	33.63	34.35	96.26	3.74	40.37	21.78	19.96	1.79	20.48	33.16
2002046	36.77	37.46	96.66	3.34	39.78	22.62	20.55	1.94	20.89	36.06
2002047	33.96	34.66	96.05	3.95	42.73	24.58	22.14	2.08	20.64	28.73
2002048	38.60	39.38	96.21	3.79	41.64	22.09	19.86	2.08	19.26	33.36
2002049	37.00	37.71	96.08	3.92	38.50	22.34	20.30	1.80	19.03	36.15
2002050	36.90	37.63	96.37	3.63	40.98	23.03	21.33	1.69	20.87	33.18
2002051	34.70	35.41	95.98	4.02	45.17	25.13	20.48	2.28	21.61	28.28
2002052	32.50	33.13	96.17	3.83	44.95	25.79	23.51	2.19	24.42	26.05
2002053	32.00	32.53	96.24	3.76	39.22	22.21	20.21	2.04	20.27	31.46
2002054	38.50	39.37	96.78	3.22	38.50	22.00	19.59	2.42	21.28	32.84
2002055	32.50	33.17	96.35	3.65	37.32	22.25	20.26	2.04	21.05	31.94
2002056	38.80	39.47	96.88	3.12	39.63	21.44	19.87	1.75	21.11	34.05
2002057	35.70	36.20	96.54	3.46	38.48	23.78	21.29	2.43	20.34	33.79
2002058	32.70	33.22	96.56	3.44	40.41	23.50	21.18	2.47	23.76	26.66
2002059	31.80	32.49	96.54	3.46	41.78	25.27	22.81	2.56	22.66	29.15
2002060	32.40	33.05	96.35	3.65	40.12	24.41	22.30	2.30	24.18	32.04
2002061	31.10	31.73	95.51	4.49	47.26	27.49	24.31	3.03	27.16	26.31
2002062	36.80	37.45	96.37	3.63	45.01	24.64	22.51	2.39	23.67	27.42
2002063	32.40	33.24	96.37	3.63	42.93	24.46	22.48	2.04	25.83	27.28
2002064	30.20	30.85	95.97	4.03	44.55	27.87	25.01	2.89	26.20	24.70
2002065	29.10	29.71	96.15	3.85	43.10	24.26	22.11	2.04	23.91	27.28
2002066	30.80	31.26	96.75	3.25	41.47	24.68	22.42	2.25	22.85	28.48
2002067	26.30	26.92	96.39	3.61	44.02	27.34	23.95	2.95	24.88	25.43
2002068	32.97	34.20	97.00	3.00	44.19	24.43	22.37	1.86	21.34	24.60

COD	ANÁLISIS DE LABORATORIO									
	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	CEL	LAD	FB	ALM
2002069	31.46	31.93	96.57	3.43	40.41	23.56	20.82	2.03	18.25	29.65
2003070	35.45	36.17	96.30	3.70	40.83	21.48	19.44	1.80	18.74	29.91
2003071	31.19	31.88	96.59	3.41	37.99	23.32	21.29	1.96	21.21	30.04
2003072	30.77	31.42	96.40	3.60	42.55	21.67	19.94	1.61	19.51	31.46
2003073	28.36	28.94	96.13	3.87	44.94	22.66	20.74	1.75	19.31	30.32
2003074	29.37	29.95	95.99	4.01	39.78	21.89	20.01	1.70	19.40	30.62
2003075	30.32	31.11	96.46	3.54	41.63	23.30	21.31	1.72	20.93	28.84
2003076	30.16	30.82	95.65	4.35	44.10	24.77	22.01	2.40	22.34	23.84
2003077	29.95	30.48	96.23	3.77	38.88	20.52	18.94	1.57	19.19	32.92
2003078	29.11	29.59	95.82	4.18	43.01	24.74	22.24	2.18	23.08	27.30
2003079	28.33	28.85	96.25	3.75	39.95	22.02	20.03	1.66	21.04	27.53
2003080	37.13	38.13	96.50	3.50	35.69	19.67	17.91	1.48	19.34	34.29
2003081	32.25	33.00	96.60	3.40	37.84	20.33	18.56	1.53	16.22	36.81
2003082	34.64	35.55	96.96	3.04	38.81	22.25	20.18	1.77	17.60	36.42
2003083	31.68	32.62	96.51	3.49	39.49	22.64	20.42	1.76	18.38	32.39
2003084	35.10	35.77	97.03	2.97	36.89	20.41	18.66	1.70	16.96	37.50
2003085	33.04	33.65	96.92	3.08	38.70	22.08	20.54	1.60	19.40	33.30
2003086	29.90	30.42	96.20	3.80	42.89	24.25	21.66	2.05	21.20	28.50
2003087	32.18	32.87	96.54	3.46	41.15	23.17	21.34	1.61	19.16	32.70
2003088	31.00	31.51	95.89	4.11	40.96	22.79	20.92	1.70	21.90	27.45
2003089	30.05	30.59	96.43	3.57	38.53	20.13	18.98	1.02	20.90	27.54
2003090	29.39	30.05	96.58	3.42	41.27	24.99	22.96	1.93	23.51	24.36
2003091	44.35	45.07	91.46	8.54	46.02	30.72	25.39	2.09	25.65	25.12
2003092	30.87	31.65	96.46	3.54	53.24	31.72	29.23	2.62	25.68	26.94
2003093	30.41	31.26	96.45	3.55	48.39	27.91	25.27	2.45	22.50	26.37
	MS	MSc	MO	CZ	FND	FAD	CEL	LAD	FB	ALM
Media	30.38	31.07	96.08	3.92	44.14	25.32	22.80	2.29	22.93	26.21
s.d.	5.06	5.06	0.85	0.85	6.09	4.02	3.60	0.52	3.71	8.32
c.v.	16.65	16.28	0.88	21.57	13.81	15.87	15.80	22.82	16.18	31.73
Max	44.35	45.07	97.09	8.54	64.73	36.69	33.72	3.53	33.05	37.50
Min	15.40	16.30	91.46	2.91	35.69	19.67	17.91	1.02	16.22	0.00

Valores de la colección de ensilajes de planta entera de maíz evaluados in vivo en el CIAM

COD	ANALISIS DE LABORATORIO										
	PB	EB	Nt	NH3_Nt	NS_Nt	pH	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	
1997001	6.20	19.41	1.02	7.09	51.00	3.85	4.10	3.36	0.32	0.46	0.35
1997002	6.11	20.27	1.14	6.55	32.93	3.90	4.64	3.98	0.34	0.38	0.00
1998003	7.31	19.52	1.19	3.39	37.61	3.67	4.98	1.67	0.00	0.00	1.77
1998004	6.39	18.77	1.04	3.72	41.55	3.73	4.57	1.36	0.00	0.00	0.96
1998005	6.38	18.61	1.04	3.70	44.68	3.57	4.51	2.40	0.00	0.25	5.59
1998006	6.90	18.67	1.12	4.11	49.55	3.40	6.47	2.22	0.00	0.00	4.69
1998007	6.83	19.46	1.11	3.41	42.99	3.40	6.92	2.20	0.00	0.00	4.72
1998008	7.71	18.86	1.25	2.49	34.98	3.75	3.00	1.48	0.00	0.00	0.77
1998009	7.09	19.50	1.14	1.76	33.45	3.76	2.82	1.41	0.00	0.00	0.93
1998010	6.93	19.07	1.14	2.90	31.38	4.69	1.71	0.81	0.00	0.00	0.12
1998011	7.40	20.28	1.22	7.24	44.83	3.60	6.59	3.33	0.16	0.63	2.02
1998012	8.57	19.53	1.41	7.50	70.00	3.65	6.29	2.46	0.00	0.36	0.96
1999013	6.23	18.80	1.02	4.25	45.00	3.90	4.11	0.48	0.09	0.00	0.33
1999014	5.76	18.54	0.94	3.87	35.48	3.80	2.40	0.80	0.00	0.00	0.08
1999015	6.52	18.64	1.06	4.24	48.48	3.70	8.01	1.40	0.00	0.11	0.32
1999016	5.28	18.58	0.87	4.42	47.20	3.60	5.45	1.09	0.00	0.06	0.52
1999017	6.91	18.76	1.15	7.50	52.50	3.50	5.38	1.49	0.00	0.23	1.02
1999018	7.51	19.02	1.22	3.53	35.29	3.50	1.74	0.54	0.00	0.00	0.00
1999019	8.63	19.16	1.41	2.94	32.35	4.40	3.98	1.42	0.18	0.18	0.07
1999020	6.65	18.87	1.08	2.79	34.88	4.10	2.80	0.47	0.00	0.00	0.66
1999021	8.38	18.93	1.37	4.82	48.17	3.70	9.16	1.10	0.00	0.00	0.74
1999022	7.21	18.93	1.15	0.00	53.13	3.70	5.49	1.63	0.00	0.00	0.91
1999023	7.19	19.01	1.17	2.50	28.13	4.20	1.41	0.86	0.00	0.00	0.43
1999024	7.25	19.14	1.19	3.21	32.14	4.70	2.06	0.97	0.56	0.20	0.00
1999025	7.24	18.76	1.20	7.53	54.12	3.90	5.83	1.63	0.00	0.00	0.34
1999026	7.26	18.78	1.20	7.06	55.76	3.80	5.58	1.58	0.00	0.00	0.41
1999027	7.78	18.72	1.28	6.62	53.94	3.60	8.67	1.63	0.00	0.00	0.60
2000028	7.90	19.03	1.29	4.24	36.36	3.80	2.66	2.29	0.59	0.00	1.07
2000029	7.71	18.94	1.25	5.38	38.46	3.90	5.03	2.73	0.00	0.00	0.39
2000031	7.88	19.16	1.29	5.93	40.74	4.50	1.84	2.82	0.29	0.24	0.69
2000032	8.73	18.87	1.44	7.31	62.66	3.60	5.94	1.57	0.13	0.10	1.66
2001034	9.74	18.58	1.61	5.16	42.90	3.90	7.60	4.68	0.00	0.13	1.88
2001035	9.99	18.88	1.64	5.33	48.33	3.80	7.07	3.89	0.00	0.19	1.72
2001036	8.27	18.83	1.36	4.85	46.97	3.80	5.93	1.91	0.00	0.00	2.35
2001037	8.42	18.89	1.39	5.16	55.16	3.60	9.09	3.39	0.00	0.00	1.83
2001038	8.60	18.60	1.41	5.14	40.00	3.70	4.21	1.26	0.00	0.00	0.93
2001039	8.16	18.55	1.34	5.45	45.45	3.70	2.49	1.39	0.00	0.00	1.47
2001040	8.35	18.37	1.37	5.38	43.59	3.70	3.29	1.50	0.00	0.00	0.71
2001041	8.93	18.42	1.47	5.81	41.86	3.80	3.47	1.28	0.00	0.00	1.08
2001042	7.79	18.33	1.27	4.35	43.48	3.80	4.32	1.23	0.00	0.00	1.50
2001043	6.88	18.37	1.13	5.24	47.62	3.80	3.80	1.17	0.00	0.00	1.29
2002044	5.18	17.94	1.02	2.67	37.33	3.83	3.24	1.08	0.09	0.00	1.22
2002045	4.67	18.20	0.93	3.19	44.73	3.87	3.80	1.03	0.10	0.00	1.64
2002046	4.32	18.18	0.87	3.13	43.13	3.78	3.78	0.85	0.10	0.00	1.23
2002047	4.95	18.02	0.98	3.00	39.04	3.92	3.31	0.98	0.15	0.00	1.62
2002048	4.66	18.11	0.97	2.68	38.07	3.84	4.26	1.04	0.07	0.00	0.98
2002049	4.46	17.87	0.92	2.92	40.64	3.88	4.34	1.06	0.11	0.00	0.63
2002050	4.06	18.18	0.81	3.34	42.14	3.89	4.36	0.95	0.10	0.00	1.02
2002051	3.89	17.86	0.83	3.47	39.58	3.89	3.92	1.11	0.12	0.00	1.04
2002052	4.93	18.39	0.77	2.80	37.60	3.79	4.37	1.18	0.00	0.00	0.73
2002053	5.55	18.25	0.87	2.15	34.41	3.76	3.60	1.11	0.00	0.00	0.40
2002054	6.56	18.45	1.06	4.39	38.05	3.78	5.57	1.31	0.00	0.00	0.65
2002055	6.65	18.62	1.10	5.31	44.69	3.83	5.92	1.23	0.00	0.00	0.28
2002056	5.98	18.34	0.97	4.24	39.79	3.82	3.60	1.13	0.00	0.00	0.44
2002057	6.78	18.46	1.11	4.03	40.05	3.84	3.69	0.86	0.00	0.00	0.20
2002058	6.34	18.49	1.05	5.25	44.61	3.80	3.75	1.03	0.00	0.00	0.31
2002059	6.23	18.32	1.01	4.97	44.72	3.77	4.14	1.59	0.00	0.00	0.38
2002060	5.87	18.33	0.94	4.95	41.91	3.79	5.46	1.14	0.00	0.00	0.49
2002061	5.91	18.46	0.96	5.35	41.14	3.79	5.46	1.24	0.00	0.00	0.34
2002062	6.43	18.41	1.05	5.68	44.19	3.89	3.37	1.25	0.00	0.00	0.36
2002063	6.34	18.38	1.06	5.52	49.13	3.78	5.80	1.67	0.00	0.00	0.64
2002064	6.17	18.39	0.99	5.03	44.30	3.75	4.91	1.39	0.00	0.00	0.52
2002065	5.84	18.37	0.99	4.50	42.91	3.74	5.77	1.17	0.00	0.00	0.71
2002066	6.80	18.62	1.11	3.23	41.94	3.76	2.52	1.12	0.00	0.00	0.34
2002067	7.19	18.52	1.14	3.65	44.52	3.69	3.56	1.77	0.00	0.00	0.79
2002068	7.33	19.81	1.32	7.34	65.83	3.46	9.00	0.59	0.00	0.00	1.89

COD	ANALISIS DE LABORATORIO										
	PB	EB	Nt	NH3_Nt	NS_Nt	pH	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
2002069	6.79	18.71	1.23	3.87	41.49	3.79	3.35	0.65	0.02	0.04	0.35
2003070	6.62	18.64	1.02	5.26	47.09	3.86	2.86	0.74	0.03	0.00	0.90
2003071	5.99	18.47	0.94	5.48	53.42	3.73	2.88	0.74	0.02	0.00	1.08
2003072	6.21	18.58	1.03	5.68	49.84	3.81	3.18	0.71	0.02	0.00	0.96
2003073	6.36	18.43	1.06	5.30	53.31	3.73	2.67	0.70	0.00	0.00	1.02
2003074	6.00	18.35	1.00	5.44	51.36	3.74	2.86	0.77	0.00	0.00	0.83
2003075	5.77	18.48	0.96	5.48	55.14	3.75	2.90	0.92	0.00	0.00	1.32
2003076	5.95	18.50	0.95	5.21	48.96	3.71	3.74	0.93	0.00	0.00	0.80
2003077	5.62	18.23	0.90	4.44	49.26	3.74	3.21	0.71	0.00	0.00	0.64
2003078	5.83	18.01	0.98	3.86	42.81	3.74	3.46	0.66	0.00	0.00	0.55
2003079	6.00	17.90	1.04	4.05	44.26	3.73	3.50	0.69	0.00	0.00	0.70
2003080	7.10	18.42	1.25	5.39	48.92	3.86	3.65	0.86	0.00	0.02	1.34
2003081	6.65	18.51	1.17	5.85	53.99	3.80	3.75	0.55	0.00	0.00	1.27
2003082	6.42	18.47	1.18	5.88	54.66	3.82	4.73	0.66	0.00	0.01	1.31
2003083	6.70	18.37	1.20	5.28	51.45	3.81	4.68	0.88	0.00	0.01	1.48
2003084	6.01	18.37	1.05	5.14	51.35	3.80	3.89	0.92	0.00	0.00	0.50
2003085	6.81	18.65	1.15	5.26	57.89	3.80	3.76	0.73	0.07	0.09	0.46
2003086	5.94	18.51	1.00	6.33	60.00	3.70	3.27	0.84	0.00	0.00	0.49
2003087	6.40	18.38	1.03	5.76	54.55	3.70	4.32	1.05	0.00	0.00	0.55
2003088	6.68	18.54	1.05	5.20	50.15	3.70	3.32	0.82	0.00	0.00	0.41
2003089	6.77	18.53	1.14	3.78	43.60	3.66	3.29	0.86	0.00	0.00	0.53
2003090	7.92	18.97	0.73	10.65	95.83	3.58	3.50	1.18	0.00	0.00	0.62
2003091	6.21	17.49	1.02	4.65	35.62	3.87	3.14	0.84	0.00	0.00	0.39
2003092	6.72					3.70	3.34	1.58	0.00	0.08	0.49
2003093	7.47					3.80	3.20	1.56	0.00	0.04	0.81
	PB	EB	Nt	NH3_Nt	NS_Nt	pH	LCTSS	ACTSS	BUTSS	PROSS	ETASS
Media	6.71	18.64	1.12	4.72	45.67	3.79	4.32	1.38	0.04	0.04	0.95
s.d.	1.17	0.47	0.18	1.58	9.53	0.21	1.67	0.81	0.11	0.11	0.91
c.v.	17.50	2.53	15.91	33.39	20.87	5.53	38.64	59.00	262.62	260.41	95.68
Max	9.99	20.28	1.64	10.65	95.83	4.70	9.16	4.68	0.59	0.63	5.59
Min	3.89	17.49	0.73	0.00	28.13	3.40	1.41	0.47	0.00	0.00	0.00

ANEXO 3.- Diseño de jaula metabólica usada para la realización de ensayos de digestibilidad *in vivo* con ovinos en el CIAM, realizado por J. Castro

