



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA
(*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA
POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS Y EL METABOLISMO
RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA
ELABORADA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL: NUTRICION

PRESENTADA POR

CHARLES
SERGIO C. ANGELES CAMPOS

ASESORES:

PhD. Germán D. Mendoza Martínez
M.C. Francisco A. Castrejón Pineda
PhD. Mario A. Cobos Peralta



MEXICO, D.F.

1996



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sergio C. Angeles Campos', written in a cursive style.

Sergio C. Angeles Campos

DEDICATORIAS

A mi hijita: *Alina* quien me impulsa a seguir aprendiendo ya que esto significa seguir creciendo y viviendo, para poder brindarle un futuro acorde a las exigencias de este mundo.

A mi esposa: *Adriana Colín de Angeles* por brindarme su apoyo, para la culminación de este objetivo.

A *Uds dos* quienes son mi familia, gracias por tenerme paciencia y comprenderme al no poder dedicarles el tiempo necesario en muchas ocasiones, esperando que este humilde esfuerzo les liene tanto como a mi.

A mis padres : *Alberto y Jovita* por haberme inculcado que nunca es tarde para lograr las metas. Gracias por contar con Uds. y tenerlos entre nosotros.

AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer patente mi agradecimiento al Colegio de Postgraduados, al Programa de Ganadería, en particular al personal docente por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, y en forma especial al Dr. Germán D. Mendoza Martínez, por su asesoría y revisión del trabajo de tesis.

A la DGAPA en particular al programa de PAPIIT por el financiamiento parcial, para la realización de esta investigación.

Con especial reconocimiento al Dr. Francisco Castrejón Pineda por su valiosa cooperación y asesoría para la realización de esta investigación y sobre todo por permitirme ser tu amigo Paco, lo cual ha sido invaluable para la culminación de este objetivo, de esta etapa académica..

Al MVZ. José Luis Cordero por su colaboración en el área clínica y quirúrgica de esta investigación. Al técnico Sr. Andres Lee por su cooperación en el análisis de laboratorio

Con especial cariño a Toni por su invaluable ayuda en la realización e interpretación de resultados de laboratorio, además del animo que siempre me trasmitió, lo cual fue valioso, para finalizar esta meta, gracias por brindarme parte de tu tiempo, y sobre todo por darme la oportunidad de ser tu amigo, lo cual me satisface mucho.

A Toño Díaz por su interés, amistad y colaboración para que concluyera, esta etapa, gracias por todas las facilidades

A todos mis compañeros y amigos del **Departamento de Nutrición Animal** que participaron y colaboraron en este trabajo, en particular, a mis amigos Luis, Jose Luis, Vero y Yola , los cuales contribuyeron de manera directa con su esfuerzo siendo partícipes de lo que involucro esta investigación.

A los miembros del Jurado gracias por las observaciones y recomendaciones realizadas. En particular a la Dra. Silvia Buntinx D. por el tiempo dedicado a la revisión en la elaboración de este trabajo.

CONTENIDO

	Pag.
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE CUADROS DEL APENDICE	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCION.....	1
Justificación.....	2
1.1. Revisión de literatura.....	3
1.1.1. Esquilmos agrícolas.....	3
1.1.1.1. Características fisicoquímicas de los esquilmos.....	4
1.1.1.2. Limitantes del empleo de esquilmos.....	5
1.1.1.3. Tratamientos diversos de esquilmos agrícolas.....	6
1.1.2. Cultivos microbianos	8
1.1.2.1. Principales características de las levaduras.....	10
1.1.2.2. Condiciones ideales de crecimiento de las levaduras.....	11
1.1.2.3. Mecanismos de acción de las levaduras en el rumen	12
1.1.2.4. Principales características del cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
1.1.3. Población de microorganismos ruminales.....	14
1.1.3.1. Factores que influyen en la población de protozoarios.....	18
1.1.3.2. Ciclos diurnos de protozoarios.....	20

	Pag.
1.1.3.3. Efecto de los protozoarios sobre la tasa de consumo y digestión de bacterias	22
1.1.3.4. Efecto de los protozoarios sobre el reciclamiento de nitrógeno y carbono bacteriano	28
1.1.3.5. Función de los protozoarios en el rumen.....	31
1.1.3.6. Migración y secuestro de protozoarios.....	32
1.1.3.7. Causas de mortalidad en los protozoarios.....	33
1.1.4. Ambiente y parámetros ruminales.....	33
1.1.4.1. Patrón de fermentación ruminal.....	33
1.1.4.2. pH ruminal.....	36
1.1.4.3. Nitrógeno amoniacal	37
1.1.4.4. Digestibilidad ruminal.....	39
1.1.4.4.1. Utilización de marcadores para evaluar la digestibilidad de los nutrientes.....	40
1.1.5. Respuestas al empleo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en dietas de rumiantes.....	42
1.1.5.1. Cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y su efecto en los cambios de pH	48
1.1.5.2. Relación entre el cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y la población de microorganismos.....	49
1.1.5.3. Relación entre el cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y la concentración de ácidos grasos volátiles.....	50
1.1.5.4. Relación entre el cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH ₃).....	50

	Pag.
1.1.5.5. Relación entre el cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y la síntesis de proteína microbiana	52
1.6. Hipótesis.....	54
1.7 Objetivos.....	54
II. MATERIAL Y METODOS.....	55
2.1. Localización geográfica del área de estudio.....	55
2.2. Metodología experimental	55
2.2.1. Características de los animales en estudio.....	55
2.2.2. Alimentación de los animales	56
2.2.3. Distribución de los tratamientos.....	56
2.2.4. Adición del cultivo de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	57
2.2.5. Obtención del líquido ruminal	57
2.2.6. Obtención de muestras duodenales y de heces.....	59
2.2.7. Variables evaluadas.....	59
2.2.7.1. Determinación de pH del líquido ruminal	59
2.2.7.2. Conteo de la población de protozoarios	60
2.2.7.3. Conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC) (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	61
2.2.7.4. Determinación del nitrógeno amoniacal (N-NH ₃).....	61
2.2.7.5. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV's)	62
2.2.7.6. Determinación de la tasa de pasaje fracción líquida.....	64

	Pag.
2.2.7.7. Digestibilidad aparente de los nutrientes.....	65
2.2.7.8 Determinación de la digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta	65
2.2.7.9. Perfil y flujo de aminoácidos a nivel duodenal.....	66
2.3. Análisis estadístico	68
2.3.1. Modelo estadístico.....	68
III. RESULTADOS	69
3.1. Potencial de hidrógeno.....	69
3.2. Protozoarios ruminales (microorganismos/ 10^4 /ml).....	69
3.3.1. Concentración de Holotricos.....	69
3.3.2. Concentración de Entodimorfos.....	70
3.3.3. Concentración de protozoarios totales (Entodinos y Holotricos).....	70
3.3. Nitrógeno amoniacal.....	71
3.4. Acidos grasos volátiles a nivel ruminal.....	72
3.4.1. Concentración de acetato (mmoles).....	72
3.4.2. Concentración de propionato (mmoles).....	72
3.4.3. Concentración de butirato (mmol).....	73
3.4.4. Concentración (mmol) de los ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).....	73
3.4.5. Proporción molar de acetato.....	73
3.4.6. Proporción molar de propionato.....	74
3.4.7. Proporción molar de butirato.....	74

	Pag.
3.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida Co-EDTA.....	75
3.5.1. Tasa de pasaje (%/h).....	75
3.5.2. Volumen ruminal (l).....	75
3.5.3. Consumo de alimento (MS)	75
3.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta	76
3.6.1. Digestibilidad aparente de los nutrimentos	76
3.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno.....	76
3.7. Perfil y Flujo de amoniácidos a duodeno.....	77
IV DISCUSION.....	78
4.1. Potencial de hidrógeno.....	78
4.2 Protozoarios ruminales (microorganismos /10 ⁴ /ml).....	79
4.2.1. Concentración de Holotricos.....	79
4.2.2. Concentración de Entodinomorfos.....	80
4.2.3. Concentración de protozoarios totales (Entodinos y Holotricos).....	81
4.3. Nitrógeno amoniacal.....	82
4.4. Acidos grasos volátiles a nivel ruminal.....	83
4.4.1. Concentración de acetato (mmoles).....	83
4.4.2. Concentración de propionato (mmoles).....	84
4.4.3. Concentración de butirato (mmoles).....	84
4.4.4. Acidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).....	85

	Pag.
4.4.5. Proporción molar de acetato	86
4.4.6. Proporción molar de propionato	86
4.4.7. Proporción molar de Butirato.....	87
4.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida Co-EDTA.....	88
4.5.1. Tasa de pasaje (%/h).....	88
4.5.2. Volumen ruminal (l).....	88
4.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta	89
4.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes	89
4.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno.....	90
4.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno.....	90
4.8. Consumo de materia seca.....	90
V CONCLUSIONES	92
VI RECOMENDACIONES.....	93
VII LITERATURA CITADA.....	94
VIII APENDICE DE CUADROS.....	108

LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Representación de las principales reacciones metabólicas que ocurren en los protozoarios entodínomórfidos	24
Cuadro 2. Composición nutricional de la dieta ofrecida	58
Cuadro 3. Calendario de muestreo	63

LISTA DE CUADROS DEL APENDICE

		Pag.
CUADRO 4.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre el pH ruminal	109
CUADRO 5.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de Holotricos (microorganismos $\times 10^4$) en el rumen	110
CUADRO 6.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de Entodinomorfos (microorganismos $\times 10^4$) en el rumen.....	111
CUADRO 7.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de protozoarios totales (microorganismos $\times 10^4$) en el rumen	112
CUADRO 8.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de nitrógeno amoniacal (mg/dl) en el rumen	113
CUADRO 9.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de ácido acético (mmol) en el rumen	114
CUADRO 10.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de ácido propiónico (mmol) en el rumen	115
CUADRO 11.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración de ácido butírico (mmol) en el rumen	116
CUADRO 12.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la concentración mmolar de ácidos grasos volátiles en el rumen	117
CUADRO 13.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la proporción molar de acetato en el rumen	118
CUADRO 14.	Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la proporción molar de propionato en el rumen	119

	Pag.
CUADRO 15. Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la proporción molar de butirato en el rumen	120
CUADRO 16. Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la proporción molar y concentración (mmol) de los ácidos grasos volátiles en el rumen.	121
CUADRO 17. Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la tasa de pasaje de la fracción líquida (% / h), volumen ruminal (l) y consumo (g) de materia seca (CMS).....	122
CUADRO 18. Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la digestibilidad total aparente de la materia seca (DTAMS), ruminal de la MS (DARMS), MS Ruminal (DAMSR), digestibilidad aparente por nutrimento (DAN): materia seca digerida a nivel ruminal (DAMSR), digestibilidad aparente por nutriente de la materia seca (DANMS), materia orgánica (DANMO), fibra detergente neutro (DANFDN), y fibra detergente ácido (DANFDA)	123
CUADRO 19. Efecto de la adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre la tasa de flujo de la fracción líquida, volumen ruminal, flujo duodenal (kg/h) de la materia seca (FMS), fibra detergente neutra (FDFDN), fibra detergente ácida (FDFDA), proteína cruda(FDPC) y proteína verdadera (FDPV)	124
CUADRO 20. Efecto de la adición de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre el perfil de aminoácidos (g / 100g de MS) a nivel duodenal	125
CUADRO 21. Efecto de la adición de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre el flujo de aminoácidos (g / día) en la digesta duodenal	126

RESUMEN

ANGELES CAMPOS SERGIO C.: EVALUACION DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA POBLACION DE PROTOZOARIOS Y EL METABOLISMO RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA ELABORADA A BASE DE RASTROJO DE MAIZ. Asesorado por: Ph.D. German Mendoza Martínez, M.C. Francisco Castrejón Pineda y Ph. D. Mario Cobos Peralta.

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto producido por la adición de dos cultivos de levadura a base de *Saccharomyces cerevisiae* a dosis comercial sobre algunos parámetros ruminales, flujo de nutrientes a duodeno, digestibilidad ruminal y aparente total de la dieta experimental y cuantificar la población de protozoarios (géneros holotricos y entodinos / ml). Se utilizaron 9 borregas adultas criollas, con un peso vivo de 28.8 ± 3 kg, a las que previamente se les practicó una cirugía para colocarles una cánula ruminal y duodenal. Los animales se alojaron en jaulas metabólicas individuales. La dieta experimental (DB) consistió (en base seca) de rastrojo de maíz (65%), sorgo (23.5%), melaza (10.2%), y urea (1.3%). El cultivo de levaduras y el óxido de cromo se administraron vía cánula ruminal (8:00 h diariamente). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, las variables registradas a diferente hora de muestreo se analizaron por el procedimiento de mediciones repetidas y se compararon mediante contrastes ortogonales T_1 vs T_2, T_3 (testigo vs levaduras) y T_2 vs T_3 , (Yea-Sacc vs Levucell). Los tratamientos estudiados fueron T_1 : dieta base (DB) sin levadura, T_2 : DB + 3 g (Yea-Sacc¹⁰²⁶) y T_3 : DB + 1 g (Levucell). Los resultados muestran que disminuyó ($P < .05$) el pH ruminal en los contrastes estudiados. La población de protozoarios tanto de holotricos y entodinos no cambio ($P > .05$) por efecto de la adición de la levadura; la concentración de nitrógeno amoniacal (mg/dl) no se vió afectada por acción del cultivo de levadura; la concentración (mmol) y porcentaje molar de los ácidos grasos volátiles: acético, propiónico y butírico no se afectó ($P > .05$) en los tratamientos con levadura con respecto al testigo. No se modificaron ($P > .05$) los siguientes parámetros: digestibilidad y flujo de nutrientes a duodeno de la MS, MO, FDN, FDA y de aminoácidos de la dieta. Por lo tanto, bajo las condiciones experimentales en las que se realizó la presente investigación, se concluye que la adición de levaduras no produce ninguna alteración benéfica sobre los parámetros ruminales, considerando las características inherentes de la dieta ofrecida, las propias del animal, el medio ambiente y prácticas de manejo, que son factores que interactúan de manera determinante en la modulación del medio ambiente ruminal.

Palabras clave: cultivo de levaduras, protozoarios, metabolismo ruminal, flujo duodenal de nutrientes y rastrojo de maíz.

ABSTRACT

Effect of two yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on protozoal population and ruminal metabolism of sheep fed corn stalks. Advised for: Ph.D. German Mendoza Martínez, M.C. Francisco Castrejón Pineda y Ph. D. Mario Cobos Peralta.

Nine adult, crossbred ewes (average weight $28.3 \pm 3\text{kg}$) were randomly assigned to three treatments to examine the effect of two yeast cultures of *Saccharomyces cerevisiae* on some ruminal variables, flux of amino acids to the duodenum, apparent and total ruminal digestibility, and protozoal population count (Holotrichidae and Entodinidae). The animals were fitted with ruminal and duodenal cannulae and were kept in individual metabolism cages. The basal diet (BD) consisted of corn stalks (65%), grain sorghum (23.5%), cane molasses (10.2%), and urea (1.3%). Treatments were: $T_1 = \text{BD without yeast (control)}$; $T_2 = \text{BD} + 3 \text{ g Yea-Sacc}^{1026}$, and $T_3 = \text{BD} + 1 \text{ g Levucell}$. The dosages for both yeast cultures were those recommended by the respective manufacturer. Yeast cultures and chromic oxide were administered daily through the ruminal cannulae at 8:00 h. Results were analyzed using the repeated measures procedure and orthogonal contrasts (T_1 vs T_2 and T_3 and T_2 vs T_3). Yeasts had no effect on protozoal population count; ammonia nitrogen concentration; concentration and molar proportion of volatile fatty acids; dry matter, organic matter, neutral detergent fiber, and acid detergent fiber digestibility, or amino acid flux to the duodenum ($P > .05$). However, a decrease in ruminal pH ($P < .05$) was observed in the yeast treatments. It is concluded that the addition of yeast cultures to a roughage-based diet does not have a beneficial effect on ruminal metabolism.

Key words: Yeast culture, Protozoa, Ruminal metabolism, Duodenal flux, Amino acids, Corn stalks.

EVALUACIÓN DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS Y EL METABOLISMO RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA ELABORADA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

I. INTRODUCCIÓN

Debido a que cada día es mayor el reto para satisfacer las demandas de alimentación de la población humana, situación que se presenta tanto a nivel mundial como nacional, es imprescindible la implementación de nuevos sistemas de producción, así como la búsqueda de nuevas alternativas de alimentación, mediante objetivos de investigación nutricional buscando aprovechar al máximo el potencial de los ingredientes, para producir carne, leche y huevo.

Los avances en la investigación en materia de nutrición animal, se traducen en mayores márgenes de ganancia para los productores, lo cual estimula la inversión en investigación pecuaria y favorece la transferencia de tecnología a nivel de campo.

En nuestro país, como en el resto de Latinoamérica, donde por razones de índole sociocultural se observa un alto consumo de cereales por el hombre, se dispone de grandes volúmenes de esquilmos agrícolas y subproductos industriales con un alto contenido de fibra, los cuales deben ser aprovechados al máximo en la producción de proteína de origen animal. Dado que la producción de rumiantes se sustenta y se desarrolla en mayor proporción en condiciones extensivas, la utilización de pastizales nativos es práctica común, y en ocasiones se proporcionan residuos agrícolas con un valor nutricional mínimo; sin embargo, la utilización de estos, en la nutrición de rumiantes se dificulta, por el valor agregado de producción, que estos residuos adquieren por la necesidad de realizar

actividades de cosecha, procesamiento, transporte y maniobras, que encarecen su costo. por el escaso valor nutricional que poseen, su uso en estas circunstancias no es rentable.

A pesar de que la alimentación de rumiantes se sustenta en forrajes y en ocasiones en subproductos agrícolas, la utilización de estos subproductos, no es en forma adecuada debido a diversos factores, como: utilización de mano de obra adicional, mínimo contenido nutricional, además de una digestibilidad mínima; por lo que se han buscado nuevas alternativas para favorecer la utilización de los nutrimentos contenidos en las pajas y subproductos, por parte de los animales, a través de diferentes tratamientos y/o aditivos una de las cuales pueden ser los cultivos de levaduras.

JUSTIFICACION

En el presente trabajo se pretende revisar el papel de los cultivos de levaduras a base de *Saccharomyces cerevisiae*, y evaluar el efecto de dos cultivos de levaduras a dosis comercial, sobre la población de protozoarios y algunos parámetros de la fermentación ruminal como son: pH, nitrógeno amoniacal, concentración milimolar y proporción molar de ácidos grasos volátiles, así como tasa de flujo de la fracción líquida, digestibilidad de la materia seca y materia orgánica, de las fracciones de fibra bruta, nivel de consumo, y flujo de nutrientes.

1.1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1.1. Esquilmos agrícolas

Los subproductos agrícolas son los remanentes de la obtención de los productos agrícolas, y constituyen una enorme reserva de forraje tosco susceptible de utilizarse en la alimentación animal (Mendoza y Ricalde, 1993).

En México se producen alrededor de 74 millones de toneladas de esquilmos de diferentes especies agrícolas como el maíz, sorgo, frijol, trigo, cebada, etc., además de 14 millones de subproductos agroindustriales, como el bagazo de caña, pastas de oleaginosas y el orujo de uva, entre otros (Valdéz y Núñez, 1984).

Datos publicados por Castañeda y Monroy (1984) mencionan que de la producción nacional de esquilmos destacan el rastrojo y el olote de maíz (55%), subproductos (17%), pata de sorgo (11%) la paja de trigo (11%); los demás esquilmos representan en conjunto aproximadamente el 6%.

La importancia de los esquilmos agrícolas radica, en primer lugar, en su disponibilidad debido a la superficie destinada a la agricultura, y, en segundo lugar, en que el forraje producido no es suficiente para satisfacer las demandas del ganado existente, por lo que los esquilmos constituyen un recurso potencial para satisfacer este déficit.

Los esquilmos de cosechas han sido empleados tradicionalmente en el agro mexicano para alimentar a los animales, particularmente a aquéllos dedicados a las actividades de trabajo, tanto vacunos como caballos, sin representar un ingreso adicional para el agricultor (Castañeda y Monroy, 1984).

Los residuos de maíz ofrecen un gran potencial como fuente de alimento para la industria de la carne bovina; sin embargo deben adecuarse tanto económica como logísticamente a un sistema de producción, ya establecido, es decir, el ganado y los residuos deben encontrarse en la misma área, ya que mover o transportar los residuos agrícolas no es económicamente redituable. En ocasiones es posible transportar el ganado hacia donde se encuentran dichos residuos, (Klopfestein *et al.*, 1991).

La información generada en cuanto al uso de los esquilmos a nivel nacional indica que alrededor del 44% de la producción se emplea como alimento para el ganado. Los sistemas menos eficientes como el pastoreo directo y el suministro en "greña" (sin sufrir ningún proceso físico), representan cerca del 50%. Con respecto al rastrojo de maíz, un 85% se utiliza en sistemas integrales de alimentación por la ganadería; 32% se pastorea; 21% se consume en forma de greña, 10% empacado y 11% molido. (Castañeda y Monroy, 1984).

En numerosas ocasiones se ha destacado la importancia de los subproductos agrícolas (pajas y rastrojos), como parte integral de los sistemas de alimentación de rumiantes, particularmente de ovinos y bovinos productores de carne, no obstante, dichos subproductos presentan limitaciones tanto nutricionales como no nutricionales, que impiden su incorporación a niveles superiores en las raciones tradicionales.

1.1.1.1. Características fisicoquímicas de los esquilmos

Las principales características comunes de estos subproductos lignocelulósicos son las siguientes:

- ☉ Bajo contenido de proteína cruda, menor al 7 % y de muy baja disponibilidad.

- ⊛ Alto contenido de paredes celulares, generalmente mayor al 60 %.
- ⊛ Contenido inferior al 60% de TND (total de nutrientes digestibles).
- ⊛ Bajo porcentaje de digestibilidad
- ⊛ Consumo voluntario disminuido
- ⊛ Gran voluminosidad. (Mendoza y Riquelme, 1993)

1.1.1.2. Limitantes en el empleo de esquilmos

La principal limitante para la utilización de los esquilmos es su baja concentración de nutrientes, ya que por sí solos no satisfacen los requerimientos nutricionales mínimos de mantenimiento de los animales. La amplia relación de volumen-peso de los esquilmos, aunada a su escasa calidad nutricional, restringen su utilización racional en la alimentación de los animales, debido a que se diluye la concentración de nutrientes que se pueden aportar (Castañeda y Monroy, 1984).

Una limitante más para el aprovechamiento es la escasez y poca versatilidad de la maquinaria forrajera existente, además de la falta de conocimientos técnicos, situación que se aprecia cuando los esquilmos son quemados cuando son incorporados al suelo desaprovechando la energía contenida (Castañeda y Monroy, 1984).

El uso de los esquilmos se ha realizado a través del tiempo en forma conjunta con el desarrollo de la ganadería, aceptando su limitado valor nutritivo, por lo tanto cualquier esfuerzo tendiente a mejorar la calidad alimenticia de los esquilmos agrícolas debe ser apoyado (Castañeda y Monroy, 1984).

1.1.1.3. Tratamientos diversos de esquilmos agrícolas

Los altos contenidos de fibra y la baja digestibilidad de ésta son generalmente aceptados como los factores responsables del bajo valor energético de los esquilmos. Como se sabe, los mayores constituyentes de la fibra son celulosa, hemicelulosa y lignina, por lo que la composición química y física de los esquilmos; así como la interrelación entre estos constituyentes, y el número y tipo de microorganismos determinan la disponibilidad de la celulosa y hemicelulosa como fuente de energía para la microbiota ruminal que finalmente será utilizada por el rumiante (Castañeda y Monroy, 1984).

La estructura y composición química de la pared celular de la planta varía considerablemente de acuerdo con la especie, variedad, edad de la planta y el tipo de célula. En los forrajes maduros, la pared celular consta de tres regiones: pared primaria, pared secundaria y lámina media.

La pared primaria de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, está compuesta por fibras de celulosa, entremezcladas con una combinación de polisacáridos con glicoproteínas. Cuando la pared celular primaria cesa su crecimiento, la pared secundaria está presente debajo de ésta, con un grosor similar al de la pared primaria y con depósito de lignina. La lámina media está conformada de polisacáridos con pectina entre células maduras y lignina (Orpin, 1983/84).

La pared primaria consiste de dos hojas: la externa contiene predominantemente fibras longitudinales y en cambio en la interna sobresalen las fibras de celulosa transversa (Rogers y Perkins, citado por Orpin (1983/84) las cuales se encuentran entrelazadas con una matriz de hemicelulosa que a menudo se encuentra engrosada y es más densa que la

pared primaria (con tres hojas de fibras de celulosa entremezcladas con una matriz de hemicelulosa-lignina). Las fibras están depositadas en forma de hélice alrededor del eje celular, y pueden ser distinguidas por la dirección de la hélice y el ángulo de orientación (Orpin, 1983/84).

La celulosa está constituida por cadenas lineales con enlaces beta 1-4, unidades de glucopiranosas unidas también por puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. La celulosa cristalina presenta una alta resistencia a las enzimas celulolíticas, mientras que la holocelulosa (celulosa y hemicelulosa) es casi enteramente digerida por estas enzimas. Por lo que la estructura tridimensional de la lignina previene del ataque químico a la estructura de carbohidratos; mediante procesos físicos y químicos como el molido y la deslignificación se permite el acceso de las enzimas para que ataquen a estos carbohidratos (Orpin, 1983).

Beveridge y Richards (1975) mostraron que en el rumen la celulosa cristalina y amorfa se digiere a niveles similares, sugiriendo que en este medio ambiente complejo, la cristalinidad de la celulosa no limita la tasa de digestión de la misma. La situación es diferente dentro de las células de los protozoarios, donde participan principalmente las enzimas endocelulasas y algunas enzimas que actúan adheridas a la superficie de la partícula de la planta engullida.

Por estas limitaciones, se han desarrollado diversos tratamientos cuyo objetivo principal es aumentar el acceso de las enzimas microbianas a la fracción celulósica de la fibra.

Existen diferentes tipos de tratamientos para mejorar la calidad nutricional de estos productos y subproductos, que de manera general se clasifican en: tratamientos físicos, químicos y biológicos.

Los principales tratamientos físicos son procesos generalmente mecánicos : la molienda, la cocción a presión, la irradiación y el peletizado; a pesar de que mejoran la digestibilidad, la molienda muy fina en trituradoras y la irradiación son tan costosas que no tienen importancia comercial (Castañeda y Monroy, 1984). Los tratamientos químicos, son los que utilizan bases para romper los enlaces álcali lábiles de la asociación entre celulosa, lignina y sílice, además de producir un aumento de tamaño o “hinchazón” de la celulosa de la pared celular, lo que facilita el ataque de las celulasas (Castañeda y Monroy, 1984; Riquelme, 1984), sin embargo el costo elevado de los tratamiertos químicos ha limitado su uso.

En consecuencia, durante los últimos años se han desarrollado investigaciones tendientes a mejorar el valor alimenticio de estos materiales y aprovechar la capacidad de mantener un equilibrio ruminal para utilizar la celulosa y otros polisacáridos estructurales como fuente de energía, utilizando tratamientos biológicos entre los que sobresalen el uso de hongos y el de los cultivos microbianos (Jackson, 1977).

1.1.2. Cultivos microbianos

Anteriormente a los cultivos microbianos se les denominaba como probióticos, este término fue originado por Richard Parker, citado por Wren (1983), pasando mucho tiempo antes de distinguirlos como aditivos microbianos, concepto que se consolidó a partir de los antibióticos. Los probióticos (para-vida) se utilizo por adicionar sustancias (cultivos) a un

sistema para sustituir o balancear, mientras que un antibiótico (contra-vida) destruye uno o mas elementos en un ecosistema para el control de un problema o enfermedad.

Los probióticos son comúnmente utilizados para ayudar a combatir los efectos del estrés asociados con practicas de producción intensiva, pueden ser suministrados durante cierto tiempo para anticipar el estrés, y recuperar el balance negativo de la microflora, a un balance positivo; y también como una posibilidad para minimizar las pérdidas de producción. Los probióticos comerciales son frecuentemente utilizados en la alimentación de ganado de engorda que se encuentran en cuarentena . Uno de los atributos de estos productos es que estimulan el apetito, en animales que continuamente están consumiéndolos, y si los animales son tratados terapéuticamente responden mejor (Wren, 1987).

Un amplio rango de probióticos han sido descritos con un potencial para mejorar la producción animal. Sin embargo la idea de que los productos fungales conteniendo células vivas pueden jugar un papel significativo en el control de la fermentación ruminal no ha sido adecuadamente investigado (Williams y Newbold, 1990).

Recientemente ha aumentado considerablemente el interés por el uso de microorganismos nuevos para mejorar la salud y productividad de las empresas de animales de granja y el uso de cultivos de hongos en dietas de rumiantes han recibido atención renovada, demostrándose que los aditivos fungales mejoran la producción de rumiantes por alterar la digestión microbiana (Dawson, 1993; Wallace, 1993).

Considerables esfuerzos se han desarrollado para manipular el ambiente microbiano ruminal con la idea principal de mejorar la productividad de los rumiantes (Williams y

Newbold, 1990), dichas modificaciones se pueden realizar mediante varios mecanismos: (1) sustancias (amortiguadores); que modifican el ambiente ruminal en forma indirecta (2) sustancias (ionóforos); que modifican directamente la actividad metabólica de algunos microorganismos así como la proporción de estos, en el medio ruminal (3) suplementos que contienen microorganismos vivos, los cuales modifiquen en forma benéfica al animal hospedador mediante la modificación del ambiente ruminal. (Fuller, 1986).

Tomando en cuenta que los cultivos microbianos son compuestos formados por mezclas de microorganismos (hongos y levaduras), enzimas, vitaminas, minerales además de otros nutrientes con efectos benéficos. No obstante los efectos de las levaduras en los rumiantes no son constantes, debido a factores diversos inherentes a las levaduras (nucleótidos, aminoácidos y vitaminas) que a su vez son proporcionados a los microorganismos ruminales por medio de un proceso de autólisis de las levaduras (Hough y Maddox, 1970; Fallon y Harte, 1987; Fuller, 1986; Guerzoni y Succi, 1972; Mendoza y Ricalde, 1993; Newbold, 1990 Tapia, 1989; y Williams, 1988).

1.1.2.1. Principales características de las levaduras

Los cultivos de levaduras presentan varias características favorables: 1) no son patógenos, ni tóxicos, 2) no se absorben en el tracto digestivo, 3) no dejan residuos en los tejidos animales, 4) se utilizan en pequeñas cantidades, 5) se proliferan fácilmente tanto en condiciones *in vitro* e *in vivo*, 6) promueven el crecimiento de cierto tipo de bacterias, 7) presentan una alta estabilidad ante variaciones de temperatura, 8) no causan mutaciones, 9)

modulan el ambiente ruminal, 10) mejoran la eficiencia alimenticia. (Huber, 1987; Jones y Thomas, 1987; Plata, 1993).

1.1.2.2. Condiciones ideales para el crecimiento de las levaduras

Las levaduras requieren de un ambiente acuoso para que su desarrollo sea óptimo y aún cuando su crecimiento es mayor en condiciones de pH entre 3.5 a 5.0. Dicho rango es importante porque determina la actividad de las proteínas plasmáticas incluyendo a las enzimas ligadas a su membrana, lo cual es importante para el transporte de estas proteínas (Rose, 1987).

Algunos autores mencionan que las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) mantienen su actividad tanto en condiciones aerobias como anaerobias, es decir que el *Saccharomyces cerevisiae* presenta reproducción mitótica, sin embargo en condiciones no propicias puede esporular. Los factores que inhiben su crecimiento son concentraciones altas de glucosa o galactosa (2 % o más), (Salmon *et al.*, 1989; Lodi *et al.*, 1991).

Existen otros factores que inhiben su crecimiento tales como: , concentraciones altas de etanol, amoníaco y soluciones hipertónicas (Lodi *et al.*, 1991; Dickinson y Dawes, 1988; Morris *et al.*, 1983; Cartwright *et al.*, 1986).

Autores como Chu *et al.* (1981) mencionan que cuando existen concentraciones altas de acetato el *Saccharomyces* lo incorpora su estructura y por lo tanto excreta sales de bicarbonato, situación que podría explicar el pH ruminal, alcalino reportado en algunos estudios (Plata y Mendoza, 1993).

1.2.2.3. Mecanismos de acción de las levaduras

Diversos estudios se han realizado (Dawson, 1987; Dildey, 1988 y Williams, 1988) para proponer los posibles mecanismos de acción de las levaduras, que son: 1) cambios en la flora bacteriana por competencia y estimulación de bacterias ruminales celulolíticas; 2) modulación del ambiente ruminal, al evitar fluctuaciones del pH; 3) reducción de la actividad de las bacterias metanogénicas; 4) optimización en la absorción de minerales; 5) son fuente de nutrientes y productos esenciales (aminoácidos, vitaminas enzimas y antibióticos); 6) incremento en metabolitos como ácidos grasos volátiles (AGVs) a causa de una mayor actividad bacteriana.

Dawson (1993), propuso que los efectos causados por los cultivos microbianos; listando los siguientes; 1) estimulación de las bacterias (lácticas y celulolíticas); 2) disminución de la concentración de nitrógeno amoniacal; 3) alteración de la síntesis de proteína microbiana; 4) modificación del perfil de aminoácidos en el flujo duodenal; 5) incremento del consumo; 6) incremento de la degradación de la fibra; 7) modificación de la concentración de ácidos grasos volátiles; 8) reducción en la producción de metano; 9) disminución de la concentración de ácido láctico; 10) modulación del pH ruminal; 11) incremento de la proteína sobrepasante. Estos efectos coinciden con el esquema de modo de acción de los cultivos de levadura propuesto por Wallace (1994).

Dawson y Newman, (1987) encontraron que la población de bacterias anaerobias aumentó cinco veces y la de bacterias celulolíticas solo dos veces, cuando la levadura fue incluida en un simulador de rumen con fermentación continua (Rusitec).

Dawson (1989) señala que las diferentes especies de bacterias celulolíticas respondieron de manera diferente a la adición de levadura, ya que se observó que, dependiendo de la cepa utilizada de *Saccharomyces*, fue diferente el crecimiento de bacterias ruminales específico. Por ejemplo algunas cepas del *Saccharomyces* estimulan o favorecen el crecimiento de bacterias como el *Fibrobacter succinogenes* en cultivos puros; que no se presento en otras bacterias como *Ruminococcus albus*.

1.2.2.4. Principales características del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae*

La cepa *Saccharomyces cerevisiae* se comporta como microorganismo facultativo anaeróbico lo que le permite tener un crecimiento adecuado cuando es introducido al rumen (Dawson, 1987 y Wohlt, *et al.*, 1991).

El *Saccharomyces cerevisiae* presenta reproducción mitótica, existiendo factores que inhiben su crecimiento, como altas concentraciones de glucosa, etanol y amoníaco (Cartwright *et al.*, 1986). Sin embargo, Salmon *et al.* (1989) mencionan que cepas diploides de *Saccharomyces cerevisiae* se reproducen por gemación (mitosis) y que bajo ciertas condiciones de privación nutricional, las células diploides de levadura presentan una reproducción por meiosis y esporulación. A nivel de laboratorio, esta forma de reproducción puede ser inducida por varios procedimientos, mediante la utilización de fuentes de carbono como el acetato y excluyendo una fuente de nitrógeno.

Durante la esporulación el cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* sintetiza seis tipos de enzimas beta 1-6 y 1-3 glucanasas, lo cual tiene por finalidad desdoblar la pared celular que lo rodea (Hien y Fleet, 1983a y 1983b).

Durante la esporulación del *Saccharomyces* el pH del medio se incrementa, porque iones acetato son incorporados y reemplazados por iones bicarbonato y carbonato en mayor concentración que los protones excretados. En contraste, la utilización de glucosa en un medio mínimo está acompañada por una disminución del pH debido a la excreción de protones por la ATPasa de la membrana plasmática (Serrano, citado por Salmon *et al.*, 1989). Aunque el *Saccharomyces cerevisiae* es más tolerante que otras levaduras al etanol, concentraciones de etanol cercanas a 2 M inhiben aun a las cepas más tolerantes. Las membranas, en particular la membrana plasmática, son el principal blanco de la inhibición por etanol en *S. cerevisiae* (Cartwright *et al.*, 1986).

Además las levaduras tienen la capacidad de fermentar azúcares como sucrosa, glucosa, fructosa y maltosa (Panchal *et al.*, 1984).

El efecto del cultivo sobre el ecosistema ruminal ha sido revisado por diversos autores donde concluyen que dicho cultivo es capaz de mantener una concentración productiva ruminal. No obstante en estudios realizados por Newbold *et al.* (1990) sobre la destrucción de las células del cultivo, se observó que la viabilidad de las levaduras a través del tracto digestivo disminuía razón de 0.17 / h lo cual es similar a la tasa de flujo de salida del rumen.

1.1.3. Población de microorganismos ruminales

Los rumiantes dependen para su supervivencia de la fermentación de nutrientes de los alimentos por parte de los microorganismos del rumen, y que este órgano digestivo, cuenta con un medio ambiente de características fisicoquímicas especiales, con un aporte excelente

de nutrientes, mantiene una diversa comunidad microbiana conformada por bacterias adaptadas, protozoarios y hongos.

El compartimento retículo-rumen es reconocido como un fermentador discontinuo en el cual los carbohidratos, proteínas y lípidos de los alimentos son degradados y producen ácidos grasos volátiles, metano, amonio, bióxido de carbono y biomasa microbiana. Comúnmente el fluido ruminal contiene grandes números de bacterias y protozoarios, con concentraciones bacterianas que se extienden hasta más de 10^{10} /ml y concentraciones de protozoarios cercanas a 10^6 / ml Existen grandes poblaciones de microorganismos adheridos estrechamente a partículas de alimento y muchas microcolonias que están próximas a la pared del rumen, según estudios realizados por Harrison y Mc.Allan (1980).

El rumen contiene una mezcla de partículas alimenticias y microorganismos en los cuales estan incluidos: protozoarios ciliados, protozoarios flagelados hongos, bacterias grandes, bacterias chicas y bacteriofagos, muchos de los cuales interactuan entre si. Bajo estas condiciones los dos más importantes de los componentes vivientes de este sistema son los protozoarios y las bacterias. Los protozoarios engullen tanto alimento y bacterias al mismo tiempo (Coleman, 1986).

El compartimento ruminal de los ovinos tiene un volumen aproximado de 5 L con una temperatura de 39°C y un flujo semicontínuo de alimento colonizado. Coleman (1986) menciona que la actividad de todos los microorganismos del rumen es anaeróbica, sin embargo ellos pueden ser aerobicos en una pequeña cantidad, y el contenido tiene un pequeño potencial redox.

Desde el momento en que el alimento es consumido, los microorganismos tienen un medio ambiente caliente, anaeróbico y usualmente deficiente en componentes solubles tales como azúcares y aminoácidos, los cuales son ricos en materiales relativamente indigestibles, como fibras de celulosa y granos de almidón (Coleman, 1986).

Como el rumen es similar a una forma esférica, las paredes no son tan importantes como la superficie para proporcionar una fuente de nutrientes. La naturaleza del habitat determina el tipo de protozoarios que son encontrados, así como su fisiología y bioquímica (Coleman, 1986).

Son dos los tipos de protozoarios ciliados que se encuentran en el rumen. Los entodinomórfidos son de forma cilíndrica aplanados o esféricos cubiertos con una capa pelúcida, con una boca, un peristoma sobresaliente y cilios en la parte final anterior y un ano en la parte posterior; el rango de tamaño es de $24 \times 15 \mu\text{m}$ a $205 \times 123 \mu\text{m}$. El segundo grupo está compuesto por los llamados holotricos, que tienen un rango de tamaño de $19 \times 36 \mu\text{m}$ a $100 \times 160 \mu\text{m}$. Estos protozoarios están cubiertos en su mayoría por cilios, teniendo un lugar bucal característico y son mucho más móviles que los entodinomórfidos (Coleman, 1986).

Los protozoarios ciliados suelen formar una parte substancial del sistema ecológico de los microorganismos del rumen, representando en determinadas circunstancias más del 75% de la masa total de los microorganismos presentes. En sus numerosos estudios, los protozoarios ciliados holotricos han sido observados frecuentemente en muestras obtenidas de regiones principalmente fermentativas en el tracto digestivo de mamíferos herbívoros como lo mencionan Williams y Coleman (1991).

Los protozoarios ruminales están altamente especializados para crecer en el ecosistema ruminal. La mayoría de estos son ciliados existen en poblaciones de 10^5 a 10^6 protozoarios / ml. encontrados tanto en el rumen como en el omaso. Dependen del animal hospedador para abastecerse de alimento, pero también transforman las paredes de vegetales y los constituyentes bacterianos en componentes celulares y metabolitos, que son utilizados por el huésped (Williams, 1986).

La influencia que ejercen los protozoarios en el rumen sobre la población y su tasa de desarrollo depende en gran medida de la dieta. El conocimiento de la dinámica de los protozoarios en el rumen es importante ya que permite entender el papel que juegan en el metabolismo ruminal.

El papel y capacidad bioquímica de los protozoarios es poco conocido, ya que bajo ciertas condiciones dietarias, los protozoarios representan la mitad de la biomasa ruminal y contribuyen de manera sustancial a la producción de AGVs; estos ácidos son producto de la fermentación microbiana ruminal que provee las fuentes de carbono y energía requeridas por el animal hospedador. Sin embargo, los dos grupos de ciliados ocupan nichos metabólicos diferentes. Los holotricos utilizan principalmente carbohidratos solubles, mientras que los entodimorfos ciliados ingieren y fermentan el material fragmentado. Los entodimorfos son usualmente más numerosos en el rumen y, por lo tanto, han sido mejor caracterizados bioquímicamente (Williams, 1986).

Martin *et al.* (1994) describen la importancia del conocimiento de la cantidad de flujo microbiano a partir del rumen para entender la digestión microbiana ruminal y el papel de los microorganismos en la nutrición de los rumiantes

importantes son: tipo de huésped, localización geográfica, dieta consumida y variedades antagónicas. El número total de ciliados presentes varía considerablemente. Dietas con alta digestibilidad que proporcionan una fuente disponible de nitrógeno y energía, producen una población mayor de ciliados; sin embargo, la frecuencia y cantidad de alimento consumido por el huésped, ciclo diurno en el rumen, el tamaño de la partícula, la concentración de sales y la suplementación con antibióticos y otros aditivos, tienen influencia sobre la población protozoaria (Williams, 1986).

1.1.3.1. Factores que influyen en la población de protozoarios

La composición genérica y el tamaño de la población de holotricos está influenciada por diversos factores que interactúan. Los más importantes son: el tipo de huésped, localización geográfica, naturaleza de la dieta consumida y frecuencia de alimentación. Mediciones realizadas sobre la presencia de holotricos en varios huéspedes indican que los géneros *Dasytricha* e *Isotricha* son los que se encuentran regularmente, y que cuando ambos están presentes, *Dasytricha ruminantium* es frecuentemente más numeroso que el *Isotricha spp.* (Williams y Coleman, 1991).

Coleman (1988) menciona que todos los entodimorfidos grandes, excepto el género *Entodinia*, son celulolíticamente activos y pueden desarrollarse en condiciones de una fuente única de alimento.

Los holotricos se observan más en rumiantes domésticos, que en animales silvestres, y su número en el rumen aumenta cuando la dieta contiene carbohidratos solubles, (Dehority y

Purser, 1979) como pasto fresco de clima templado (Clarke, 1964) y en la cara de abacat (Valdez *et al.*, 1977). Estudios realizados en poblaciones de holotricos de varios huéspedes indican que la distribución geográfica afecta a dicha población. Tales efectos han sido demostrados a partir de mediciones conducidas en bueyes almizcleros en Canada y Alaska por Dehority, 1974 y en búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en diversas localidades a lo ancho del mundo, incluyendo Brasil, Taiwan, Japón y Korea (Dehority, 1986b; Han, 1984; Imai *et al.*, 1981 y 1982); sin embargo, no fueron observados en animales examinados en el oeste asiático (Ogimoto *et al.*, 1983).

El número de holotricos presente en el rumen de animales domesticados generalmente muestra una concentración de 10^5 /ml y en dietas con forraje, este género representa un 20% (12 a 40%) del total de la población ciliada. (Clarke, 1964).

El flujo microbiano ruminal puede determinarse a través de mediciones de marcadores químicos específicos y no específicos, en muestras microbianas y en las fracciones ruminales a partir de las cuales pueden ser aislado. Considerando que la fracción microbiana consiste en mayor parte de bacterias y protozoarios, no obstante la contribución relativa de estas dos poblaciones en el flujo total microbiano hacia el intestino delgado no es claro (Punia *et al.*, 1992).

Existe una mínima información acerca de la relación entre poblaciones de hongos ruminales y protozoarios ciliados; se ha observado que las zoosporas individuales son engullidas por protozoarios como ocurre con la predación del *Entodinium spp.* sobre el *Neocallimastix*, (Orpin, 1983 y 1984).

1.1.3.2. Ciclos diarios de Protozoarios

Coleman (1991) menciona que el número de holotricos en el rumen no es constante a lo largo del día, existiendo cambios marcados en el tamaño de la población ocurren en los periodos pre-alimentación y posprandiales. Asimismo, indica que la variación diaria en el número de ciliados holotricos y entodimórfidos en el rumen, es diferente.

La población de entodimórfidos disminuye a las 16 h después de la alimentación, existiendo un incremento alrededor del período de pre-alimentación (Michalowski, 1977; Warner, 1962, 1966), mientras que la población de holotricos declina por un período de 12 a 20 h post-alimentación (Williams, 1986).

Sin embargo, existen diferencias entre las poblaciones de holotricos, ya que ciertos géneros como *Dasytricha ruminantium* e *Isotricha spp.* mostraron incrementos en un rango de 0.5-4 h después de la alimentación, y posteriormente una disminución en forma subsecuentemente cuando la alimentación cesó, no obstante, dicha variación tanto en el aumento o disminución de la población no fue siempre la misma. (Coleman, 1991).

Por su parte Michalowski (1975 y 1977), investigando con búfalos de agua que fueron alimentados una vez al día, encontró que los holotricos aumentaron antes de la alimentación. Además, no observó disminución poco después, de que los animales consumieron alimento. Estudios conducidos por Michalowsky y Muszynsky (1978) revelaron un incremento marcado 2 h antes de comer, mientras que otros estudios muestran que la población se elevó 1 o 2 h después de que el alimento fue consumido (Dehority, 1970; Dehority y Tirabasso, 1989; Dennis *et al.*, 1983).

no encontraron un incremento aparente en el número de protozoarios antes del tiempo de alimentación. La concentración de los holotricos ruminales se incrementó cerca de 10 veces en las 2 h después de cada alimento, para retornar al nivel de pre-alimentación en 5-6 h (Murphy *et al.*, 1985).

Las fluctuaciones en el número de holotricos aparentemente no están correlacionados, con la osmolaridad del líquido ruminal, (Dehority y Males, 1974) y el patrón de variación del número de holotricos en el rumen no necesariamente es paralelo a los cambios en la población de entodinomórfidos. Además Eadie *et al.*, (1970) señalan que la proporción de holotricos puede incrementarse bajo ciertas condiciones de disminución de la población total de protozoarios.

Purser, (1961) observó un ciclo diurno para el género *Dasytricha* en borregos y reportó un incremento rápido en el líquido ruminal entre las 20 y 24 h después de alimentarlos.

Warner, (1966) observó un ciclo similar en ovinos para los generos *Dasytricha* e *Isotricha*.

El ciclo de los Isotrichidae difiere marcadamente de lo que se observa en los entodinomórfidos ya que su concentración disminuye al momento de la alimentación y aumenta alrededor de las 8 h posteriores a esta (Warner, 1966).

Clarke (1965) encontró que los números de Isotrichidae en ganado no manifestaron inicialmente un incremento hasta que se alimentó al ganado, alcanzando un punto máximo a las 2 h post-alimentación, continuandose con una súbita disminución. Warner (1966)

sugiere que los *Isotrichidae* experimentan una rápida multiplicación dentro un periodo de 4-8 h alrededor de la alimentación, alrededor de las 18 h ya no existe división.

Dehority y Tirabasso (1989) mencionan que el incremento inicial en la concentración de Entodinomorfidos, se debe probablemente a factores de dilución física, como el consumo de alimento, agua y salivación. El incremento subsecuente en la población, es resultado del desarrollo de protozoarios en respuesta a los nutrientes.

Murphy (1985) observó que suministrando alimento en forma directa al rumen en dos ocasiones al día, se produjo un incremento tres veces superior al número de protozoarios obtenido antes de alimentar, esto sucedió inmediatamente después de cada ofrecimiento de alimento.

La aparición de protozoarios en el líquido ruminal después de la alimentación ha sido asociado con azúcares solubles que penetran al fluido ruminal (Murphy *et al.*, 1985).

1.1.3.3. Efecto de los protozoarios sobre la tasa de consumo y digestión de bacterias

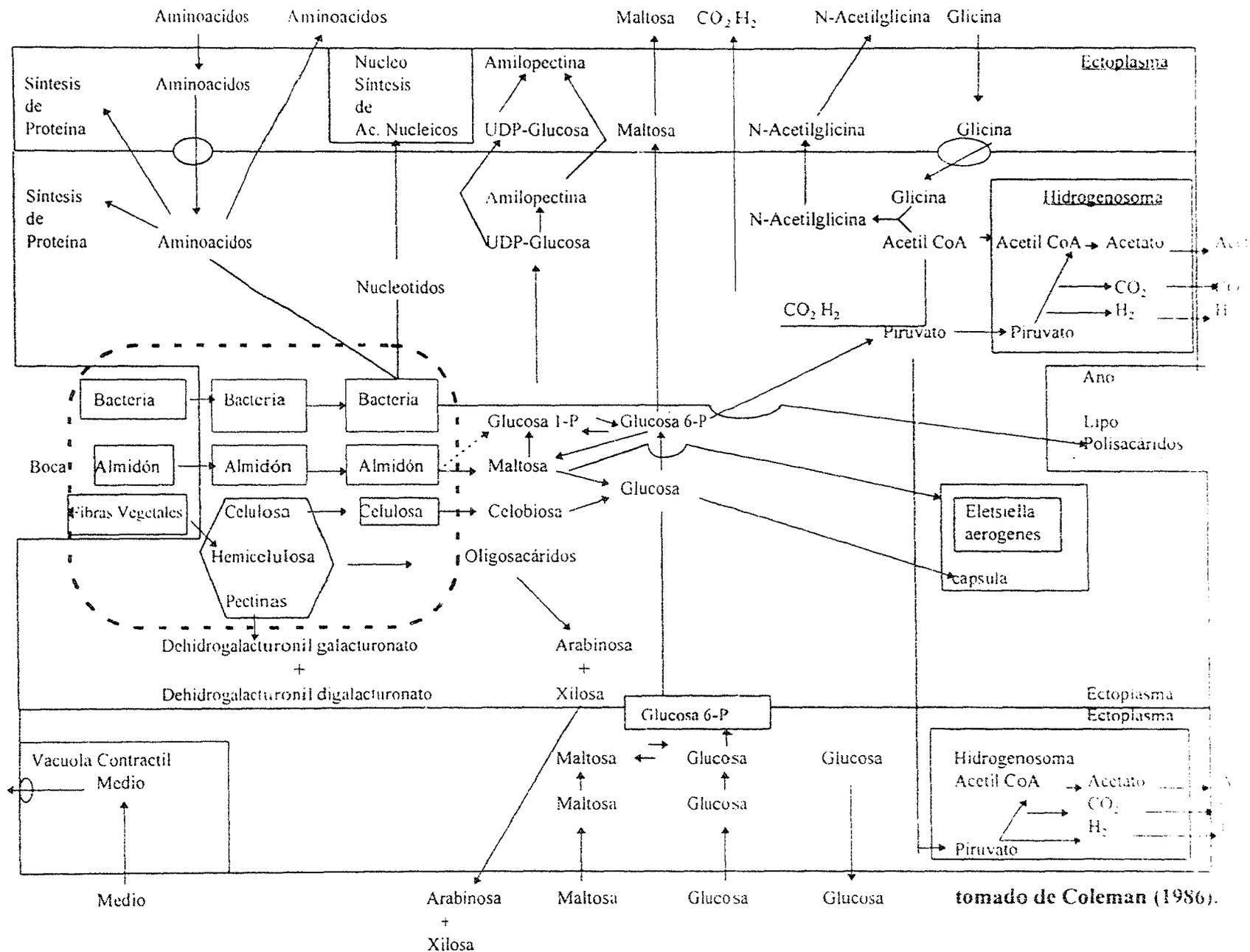
Coleman (1988) menciona que en el rumen, los protozoarios entodinomórfidos engullen bacterias, en ocasiones seleccionando, matando y digiriendo algo de ellas, con liberación de productos de la digestión hacia el medio ruminal, como ocurre en las *Selenomonas ruminantium* y el *Bacteroides fibrosolvans*, que son tomadas del estrato superior y digeridas rápidamente por muchas especies de protozoarios. Todas las especies de protozoarios ingieren una mezcla de bacterias ruminales, pero no todas las especies son digeridas, por lo que no se vierten los productos solubles de la digestión al medio ruminal. La presencia de protozoarios ciliados en el rumen provoca una disminución de 50 a 90%

en el número de bacterias ruminales no constituyen un efecto selectivo sobre ciertas especies individuales: bajo esta circunstancia, el número de bacterias celulolíticas rebasa al número de bacterias amilolíticas, las cuales pueden disminuir en presencia de *Entodinium spp.* Así mismo este investigador indica que la actividad de los protozoarios al engullir bacterias provoca que se liberen productos disponibles para las bacterias ruminales que no son digeridas, con lo cual se proporciona carbono y nitrógeno bacteriano, en una proporción de 3 o 4 veces al día, debido al flujo de salida de los protozoarios del rumen y, la razón de encontrar bacterias como *Klebsiella aerogenes* y *Proteus mirabilis* en el interior de los protozoarios en cultivos *in vitro* es discutible y se sugiere que representa un balance entre la tasa de desarrollo y la de producir una cubierta protectora contra la actividad enzimática, evidencia que se presenta con celulasas solubles de protozoarios, las cuales no son producidas por bacterias intracelulares, demostrándose esto con la presencia de enzimas (celulasas y amilasas), detritus de plantas y fracciones de protozoarios lo cual es observado en rúmenes de ovinos desfaunados, otros con una sola especie de protozoarios, y con una población mixta de especies de protozoarios (Cuadro 1).

La mayoría de organismos ciliados y particularmente *Entodinium spp.*, ingieren los almidones del grano rápidamente (en pocos segundos como el *Entodinia*), mientras que el consumo de bacterias continua alrededor de 24 h. Las condiciones de muerte por necesidad de alimento de los protozoarios no favorece la digestión de las bacterias, aunque cada protozoario cuando se alimenta ingiere por encima de las 1000 bacterias en 24 h (Coleman, 1988).

en el número de bacterias ruminales, no constituyendo una regla universal, pero sí existe un efecto selectivo sobre ciertas especies individuales; bajo esta circunstancia, el número de bacterias celulolíticas rebasa al número de bacterias amilolíticas, las cuales pueden disminuir en presencia de *Entodinium spp.* Así mismo este investigador indica que la actividad de los protozoarios al engullir bacterias provoca que se liberen productos disponibles para las bacterias ruminales que no son digeridas, con lo cual se proporciona carbono y nitrógeno bacteriano, en una proporción de 3 o 4 veces al día, debido al flujo de salida de los protozoarios del rumen y, la razón de encontrar bacterias como *Klebsiella aerogenes* y *Proteus mirabilis* en el interior de los protozoarios en cultivos *in vitro* es discutible y se sugiere que representa un balance entre la tasa de desarrollo y la de producir una cubierta protectora contra la actividad enzimática, evidencia que se presenta con celulasas solubles de protozoarios, las cuales no son producidas por bacterias intracelulares, demostrándose esto con la presencia de enzimas (celulasas y amilasas), detritus de plantas y fracciones de protozoarios lo cual es observado en rúmenes de ovinos desfaunados, otros con una sola especie de protozoarios, y con una población mixta de especies de protozoarios (Cuadro 1).

La mayoría de organismos ciliados y particularmente *Entodinium spp.*, ingieren los almidones del grano rápidamente (en pocos segundos como el *Entodinia*), mientras que el consumo de bacterias continúa alrededor de 24 h. Las condiciones de muerte por necesidad de alimento de los protozoarios no favorece la digestión de las bacterias, aunque cada protozoario cuando se alimenta ingiere por encima de las 1000 bacterias en 24 h (Coleman, 1988).



Cuadro 1. Representación de las principales reacciones metabólicas que ocurren en los protozoarios entodimorfidos (○ → Transporte activo).

A pesar de que, los protozoarios no utilizan los productos de la digestión bacteriana, a menos que exista la suficiente energía disponible para su desarrollo y aminoácidos necesarios para la síntesis de proteína el destino de los productos de la digestión bacteriana, depende de las especies presentes de protozoarios. Además cuando la bacteria es engullida, es realmente muerta y digerida, por lo que existen más productos disponibles, los cuales son utilizados por los protozoarios, y así son liberados para un rápido desarrollo de los organismos ruminales (Coleman, 1988).

La concentración de sales en el medio ruminal afecta la tasa de consumo de bacterias, al parecer es constante sobre un rango de 65 a 140%, la cual es una concentración estable de sales según lo mencionan Coleman y Sanford, (1979b), sin embargo, este consumo disminuye rápidamente cuando la concentración es menor. La tasa de liberación de productos solubles de la digestión bacteriana es más rápida a un rango de concentración entre 65 a 100% de sales y no a mayores concentraciones.

El pH óptimo para este consumo de bacterias es de 6 a 7 (Coleman, 1988, Coleman y Sandford, 1979a).

Los protozoarios depositan a las bacterias dentro de vesículas en el endoplasma (Coleman y Hall, 1969), el cual contiene enzimas digestivas y líticas (Williams *et al.*, 1986), además de poseer maltosa y glucosa en vesículas cercanas provenientes de la digestión del almidón de granos (Coleman, 1969).

Eadie y Hobson, (1962) mostraron que cuando alimentaron corderos con heno y concentrado, los cuales fueron mantenidos libres de ciliados desde el nacimiento, y que posteriormente fueron colonizados con ciliados del rumen, el número de bacterias pequeñas

disminuyó de 36×10^7 a 14×10^7 . La densidad poblacional de bacterias grandes y ovales fueron las menos afectadas como fue el caso de *Oscillospora* el cual disminuyó de 150×10^5 /ml a menos de 10^5 /ml en el curso de una semana, y el número de protozoarios fue incrementado.

Kurihara *et al.* (1968) de manera similar encontraron unam disminución en el número de bacterias que digerían almidones en presencia de *Entodinia* especialmente, cuando alimentaron corderos defaunados y posteriormente colonizados con protozoarios, en animales alimentados una vez al día, la colonización máxima bacteriana ocurrió un tiempo después de este día. Dichos autores concluyen que los protozoarios no son selectivos al engullir pequeñas bacterias, y que la disminución en el número de bacterias corresponde estrechamente con el aumento en el número de protozoarios. La densidad de población de bacterias grandes y ovaladas no estuvo relacionado con el nivel de protozoarios de los ovinos, a pesar de que se incrementó el número de *Selemonas* cuando esta bacteria fue aislada a partir de animales faunados.

Los protozoarios tienen un efecto negativo sobre la población de bacterias amilolíticas ruminales (Kurihara *et al.*, 1978), como resultado de la competencia entre éstos y las bacterias por la utilización de sustratos y la particular habilidad de los protozoarios de ingerir granos de almidón y bacterias (Jouany, 1994).

Mendoza (1991) menciona que en presencia de protozoarios ciliados se reduce significativamente la actividad amilolítica en el rumen, se observa menor digestión del almidón en el medio ambiente ruminal, y por consiguiente se reducen los cambios drásticos en el pH.

Es posible que la eficiencia del crecimiento bacteriano este directamente relacionada a la tasa de dilución de las bacterias y/o del contenido ruminal, debido a que las bacterias en el rumen están parcialmente asociadas a los sólidos y la pared ruminal, la tasa de crecimiento bacteriano puede estar en relación a la tasa de dilución del líquido (Aguilera, 1988), lo cual se explica porque solamente en cultivos continuos *in vitro* de estado estable, la tasa de crecimiento específico de los microorganismos es igual a la tasa de dilución del cultivo (Bergen, 1979). Las bacterias que están adheridas a la pared del rumen secuestran oxígeno, hidrolizan urea y en conjunto con las bacterias de la fase líquida, modifican el medio ambiente ruminal (McAllister *et al.*, 1994).

Orpin y Letcher (1983 / 1984) encontraron que en animales desfaunados el número de bacterias libres aumentó, pero no el de asociadas a partículas, sugiriendo que los protozoarios unicamente engullen bacterias libres.

Whitlelaw *et al.* (1972) utilizaron animales con raciones altas en grano y encontraron que la población de protozoarios de animales faunados disminuyó, siendo de $5 \text{ a } 30 \times 10^5/\text{ml}$, la concentración de bacterias totales disminuyó de $34 \times 10^9/\text{ml}$ a $4 \times 10^9/\text{ml}$ y el número de bacterias viables (de 1.05×10^9 a $0.004 \times 10^9/\text{ml}$). El cultivo bacteriano predominante, fué el *Bacteroides spp* bajo ambas condiciones.

Teather *et al.* (1984) en vacas alimentadas con ensilado de maíz - concentrado encontraron una correlación negativa con una significancia alta entre la concentración de proteína de bacterias y de protozoarios y que el flujo a duodeno de la cantidad total de proteína fué más constante entre animales que individualmente. Así que también fué altamente significativa la concentración de la proteína de los protozoarios y la concentración total de

la proteína microbiana. Esto sugirió una interacción competitiva entre protozoarios y hongos, pero también pudo ser una simple predación por los protozoarios sobre los zoosporas las cuales son lo suficientemente pequeñas para ser ingeridas especialmente por los ciliados grandes.

Orpin y Letcher (1983 y 1984) confirmaron que la desfaunación, aumentó el volumen ruminal (promedio 30%) y la tasa de flujo disminuyó (promedio 36%) con el incremento resultante en la masa de la digesta ruminal.

1.1.3.4. Efecto de los protozoarios sobre el reciclamiento de nitrógeno y carbono bacteriano

Se ha estimado que el nitrógeno aportado por los protozoarios es de un 20% en forma de nitrógeno amoniacal total el cual llega a duodeno, lo cual a partir de la investigación realizada por Nolan y Leng (1972). Murphy *et al.* (1985), quienes alimentaron borregos con treból henificado, considerando que ingresaba 14.2 g de nitrógeno, a la fosa ruminal en forma diaria, y tan solo 4.4 g fueron reciclados en forma de proteína microbiana. Lo cual sugiere que dicha situación se debe a la acción de bacteriofagos, fagocitosis y digestión por protozoarios, o destrucción y lisis de bacterias.

Coleman (1975) estableció que 1 % de las bacterias son engullidas y digeridas por los protozoarios cada minuto. También menciona que después de la digestión los aminoácidos bacterianos son liberados (45 g/día) dentro del rumen, los cuales se encuentran disponibles para la fermentación y como fuente de carbono y nitrógeno para el resto de las bacterias ruminales.

Cottle *et al.* (1978) suministraron nitrógeno, dentro del rumen de ovinos alimentados con paja de avena y sucrosa, y midieron el flujo de nitrógeno, entre el ión amonio libre, fracciones de proteína bacteriana y de protozoarios. Establecieron bajo estas condiciones, la cantidad de protozoarios, la cual fué de 38% de la biomasa microbiana, equivalente a 1.3g de nitrógeno de protozoarios, y 2.2 g de nitrógeno bacteriano en el rumen en forma diaria. El reflujo de nitrógeno directo entre bacterias y protozoarios fué de 6 g diariamente.

Posteriormente Cottle (1980) demostró que con la adición de 4% de harina de pescado a la ración, el flujo directo de nitrógeno fué de 1.2g de protozoarios y de 3.0g de bacterias, y que el recambio de nitrógeno entre bacterias y protozoarios fué únicamente de 3.7% /día.

Van Nevel y Demeyer (1977) y Demeyer y Van Nevel (1979) informaron que la eficiencia energética de la síntesis total y neta, se incrementó de 35 y 13 a 47 y 30 g de nitrógeno por cada kg de materia orgánica, fermentada respectivamente. Además, dichos autores sugirieron que la presencia de protozoarios no cambió la proporción de nitrógeno reciclado en el rumen, sin embargo, adicionó un paso ineficiente dentro de la síntesis total de materia microbiana.

Considerando las diferentes tasas de digestión de las bacterias producidas por los protozoarios (expresadas como porcentaje de la biomasa bacteriana engullida por minuto) los resultados de diferentes investigadores señalaron las siguientes diferencias: 1.0% (Coleman, 1975.); 0.05% (Cottle *et al.* 1978); 0.1 a 0.27% (Coleman y Sandford, 1979a.); 0.055% (Nolan y Staciw, 1979); 0.03 (Leng y Nolan, 1984). Estas citas suponen que los protozoarios engullen y digieren bacterias y liberan los productos de la digestión. Sin embargo, existen otros dos caminos a través de los cuales, la proteína puede ser liberada

dentro del rumen. El primero involucra la lisis de ciertas bacterias por enzimas extracelulares liberadas por el *Epidinium spp.* (Coleman y Laurie, 1974). El segundo tiene relación con la baja tasa de pasaje de los protozoarios comparados con las bacterias libres en el líquido. Existiendo diferencias con lo reportado por Leng et al. (1981) quien menciona que es menor a un 10%, mientras que lo más común 20 a 40% (Pilgrim et al. 1970); (Harrison et al., 1979) y Leng (1982) postularon que los protozoarios permanecen lisados y muertos en el rumen, sin embargo, esto no ha sido demostrado ya que posteriormente Coleman (1985) menciona, que esto no es una casualidad, y que es el resultado de la exposición de los protozoarios al aire y /o soluciones de sales hipotónicas por periodos cortos durante la ingestión de agua o durante la rumia.

Muchos, pero no todos los ciliados del rumen contienen bacterias adheridas a la superficie pelúcida. Diversas evidencias han sido presentadas de que las bacterias adheridas a once especies de ciliados son metanogénicas, sin embargo las bacterias adheridas a cada protozoario son muy variables, la proporción de ciliados con superficie metanogénica puede depender del estado nutricional del huesped, observandose una disminución de un 65% a 25% después de comer (Stumm et al., 1982). Dichas evidencias fueron presentadas sobre la base de una sobrealimentación del rumen con nitrógeno o hidrógeno, de modo que las bacterias metanogénicas adhosadas a los protozoarios, fueron fuente de hidrógeno. Esto fué razonado por que los protozoarios se separan cuando el hidrogeno es infusionado dentro del rumen o regresa libremente y disponible después de que el animal a consumido alimento.

Leng (1988) en un resumen de sus resultados obtenidos en el laboratorio menciona que la vida media de todas las especies de protozoarios del rumen estudiadas son consideradas longevas en el líquido ruminal. En todas las especies estudiadas más del 60% del carbono que procede a partir de protozoarios, es liberado en el rumen el cual ingresa a formar carbono-metano; indicando una lisis y degradación de protozoarios; los pequeños protozoarios entodinomórfidos tienen tiempos de vida similares, tanto en bovinos como ovinos, con dietas respectivas. de los protozoarios grandes del rumen de bovinos y ovinos son retenidos por lo que están en mayor amplitud que los protozoarios pequeños, la vida media de los grandes protozoarios holotricos es mayor que la de los entodiniinos.

1.1.3.5. Función de los protozoarios en el rumen

Los estudios de Weller y Pilgrim (1974) y de Coleman (1975) fueron los primeros que indicaron que la presencia de protozoarios en el rumen podía ser detrimental para la eficiencia de producción en rumiantes. De esta forma clara se mostró que los protozoarios consumen bacterias. Estudios posteriores indicaron que los protozoarios son preferentemente retenidos en el rumen. Y disminuyen la eficiencia de desarrollo microbiano por lo que la disponibilidad de proteína bacteriana para el animal se ve afectada (Leng, 1988).

En dietas que se suministraron con un mínimo de proteína de sobrepaso, el nivel de desarrollo fue superior en animales desfaunados (libre de población de ciliados), que en el ganado faunado, (Bird y Leng, 1978).

La predación de bacterias, el mantenimiento y reflujo de protozoarios en el rumen reducen la disponibilidad de proteína microbiana susceptible a ser digerida en el intestino. Sin embargo, la importancia cuantitativa de los protozoarios no es reconocida. De cualquier la disponibilidad de proteína bacteriana disponible depende de las especies de protozoarios presentes en la concentración poblacional. En suma parece ser que los borregos libres de protozoarios presentan una mayor cantidad de proteína de sobrepaso para la fermentación ruminal. (Ushida y Joany, 1985).

1.1.3.6. Migración y secuestro de protozoarios

Weller y Pilgrim (1974) mencionan que la principal causa de retención de protozoarios en el rumen es el secuestro.

Los protozoarios holotricos son secuestrados en la pared del retículo y migran hacia el rumen en poco después de la comida. Se considera que la migración de protozoarios se debe a la naturaleza química del alimento, y a la acción física de la ingestión del alimento, como la profusa salivación que ocurre tanto en el proceso de ingestión, como en la rumia. (Murphy *et al.*, 1985).

En el ganado alimentado una vez al día, todos los holotricos son secuestrados en el rumen justo antes de la alimentación. Por otra parte, todos los holotricos aparecen en el fluido ruminal a partir de 3-4 h después de la alimentación (Clarke, 1965; Valdez *et al.*, 1977 y Murphy *et al.*, 1985). Los holotricos secuestrados ocupan sitios específicos sobre la digesta en el rumen, pero esto se relaciona a la posición que ocupan cuando el animal consume alimento (Bauchop, 1980).

El secuestro de protozoarios sobre las partículas de alimento (Mannan, p. 178) en el epitelio reticular (Abe *et al.*, 1981), parece ser una buena razón para explicar la retención de los protozoarios. Presumiblemente, los protozoarios son arrastrados del rumen durante la fase líquida digestiva (algunas horas después de la alimentación), pero tienen continuamente cambios de los sitios de secuestro a lo largo del día, para asegurando su adherencia a partículas para no ser arrastrados y salir del rumen. La población de protozoarios ha sido estimada por conteo directo de un volumen conocido de fluido ruminal.

1.1.3.7. Causas de mortalidad en los protozoarios

Leng (1982) mostró la evidencia de que un 65% de los protozoarios del rumen mueren a través de su paso por el tracto digestivo. Existen enzimas relacionadas con la lisis celular siendo importante en el rompimiento de grandes moléculas en el rumen. Las principales causas de muerte son consideradas como traumas físicos tales como exposición a condiciones de oxígeno de los anaerobios estrictos, y a soluciones hipotónicas durante la ingestión de agua y durante la rumia. (Coleman, 1985).

1.1.4. Ambiente y parámetros ruminales

1.1.4.1. Patrón de fermentación ruminal

En la fermentación ruminal existen dos aspectos importantes a considerar los cuales son : condiciones propicias para una eficiente actividad celulolítica; y por otra parte las necesidades para una síntesis óptima de proteína microbiana. La importancia relativa de

estas dos condiciones varía de acuerdo a las características de la composición del alimento y a los sistemas de producción (Williams, 1989).

Dietas con alto contenido de forraje producen un patrón de fermentación que fluctúa entre 65 : 25 : 10% y 70 : 20 : 10% (de acetato: propionato:butirato expresado en porcentaje molar), por otra parte cuando la cantidad de concentrado en la ración se incrementa por arriba de 60% las proporciones de AGVs varían en el orden de 45 : 40 : 15% y 50 : 40 : 10% (Shimada, 1991).

Dietas ofrecidas a base únicamente de forraje, produjeron la mezcla de 65-74% de ácido acético; 15-20% de propiónico y 8-16% de butírico, sin embargo, forrajes de alta calidad y con una molienda fina generaron la reducción de la proporción de acético y el incremento de propiónico o de butírico o de ambos ácidos grasos volátiles. Aun cuando se señalan algunas proporciones promedio, las concentraciones de AGVs en el líquido ruminal, no reflejan necesariamente su tasa de producción y absorción. En estudios realizados con dietas bajas y altas en concentrado se observó que a pesar de que la concentración de ácido acético se redujó, el nivel de producción no disminuyó en igual magnitud, debido posiblemente a que al mismo tiempo que se incrementó, la producción de propionato se elevó, la absorción de todos los ácidos grasos (Thomas y Rook, 1977).

La producción de AGVs se relaciona con la concentración de metano en el rumen, tanto el metano como el propionato sirven como aceptores de equivalentes reductores que se producen a nivel ruminal (Rodríguez y Llamas, 1990). En el proceso de absorción de los AGVs a través de la pared ruminal el acetato no sufre cambios aparentes y parte del

propionato se transforma a lactato, con respecto al butirato se convierte en su mayoría a cuerpos cetónicos (Shimada, 1991).

Las pentosas producidas a partir de la degradación de hemicelulosa y pectinas son transformadas a AGVs. El piruvato es el intermediario a través del cual los carbohidratos son convertidos a AGVs, bioxido de carbono y metano. La proporción de estos productos finales depende del tipo de carbohidratos fermentados, especies de bacterias involucradas y medio ambiente ruminal durante la fermentación; así mismo la producción de metano esta relacionada con las productos finales de degradación a partir de las fuentes de carbohidratos, por ejemplo dietas con alto contenido de concentrado produjeron un nivel molar de 1 en la proporción acetato : propionato con la siguiente reacción fermentativa: 3 mol de glucosa \rightarrow 2 acetato + 2 propionato + butirato + 3CO₂ + CH₄ + 2H₂O. En contraste con una dieta alta en forraje, el resultado de la ecuación de fermentación fue una proporción de 3 moles de acetato : propionato con la siguiente ecuación de fermentación: 5 moles de glucosa \rightarrow 6 acetato + 2 propionato + butirato + 5 CO₂ + CH₄ + 6 H₂O; cuando se compara estas ecuaciones de fermentación, es obvio observar que existe una relación inversa entre propionato y metano (Church, 1987).

Por lo que el incremento en el propionato ruminal produce como consecuencia mayor eficiencia energética, reducción en la pérdida calórica, menor empleo de aminoácidos para el proceso de gluconeogénesis y por ende un incremento en la síntesis de proteína (Shimada, 1991).

Joany (1994) menciona que la desaparición de protozoarios generalmente se asocia a la disminución de la concentración de butirato e incremento en propionato o acetato.

1.1.4.2. pH ruminal

El potencial de hidrogeniones refleja la condición de balance entre la capacidad amortiguadora (saliva, sales de bicarbonato, capacidad amortiguadora de la ración) y la acidez de la fermentación. Al incrementarse la acidez se reduce la proporción de acetato:propionato, al aumentar la alcalinidad se amplían las relaciones acetato:propionato (Hobson, 1972).

Dirksen (1970) menciona que la inclusión de carbohidratos altamente solubles en la dieta, origina una proliferación específica de microorganismos ruminales productores de ácido láctico (*Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp.*) y que consecuentemente provocan una disminución del pH ruminal. Y dependiendo de la severidad de esta situación en el rumen, se producen cambios en la microflora ruminal, metabolismo del animal y en su condición corporal; además de factores dietarios tales como: nivel de inclusión de fibra, consumo de agua tienen influencia en la población protozoaria, tasa de pasaje y absorción de nutrientes, son factores que también inciden en situaciones de acidez.

A pesar de que no puede definirse un pH óptimo en el medio ruminal, los microorganismos encuentran condiciones favorables en valores cercanos a 6.5, con lo cual su metabolismo es más eficiente, y son severamente afectados a pH superior de 8 e inferior a 5.5, siendo este último un factor que afecta grandemente la concentración en su población (Hungate, 1966; Hino *et al.*, 1973; Williams y Coleman, 1991). Además la viabilidad de las bacterias celulolíticas se afecta desde valores de pH inferiores a 6.5, y por consecuencia se presenta una reducción sobre la fermentación de los carbohidratos estructurales de los alimentos

(Williams *et al.*, 1983). Así mismo Cheng *et al.* (1984) concluyeron que en condiciones ruminales de pH ácido, el ataque bacteriano a las paredes celulares se hace difícil por lo que se reduce la digestión. Autores como Rodríguez y Llamas (1990) consideran que un pH superior a 6.2 es el óptimo para obtener una adecuada digestión.

1.1.4.3. Nitrógeno amoniacal

La fuente más importante de nitrógeno para los microorganismos ruminales procede normalmente de la proteínas de la ración y del nitrógeno no proteico (NNP). La microflora ruminal es altamente proteolítica, por lo que gran parte de la proteína que llega al rumen es degradada hasta péptidos y aminoácidos, la mayor parte de los cuales son desaminados posteriormente. Las bacterias proteolíticas exclusivamente son escasas, ya que las cepas aisladas parecen utilizar otras bacterias como fuentes de nutrientes. Las proteínas solubles, aminoácidos y péptidos son rápidamente degradados hasta amoniaco; sugiriéndose que las proteínas solubles se adhieren rápidamente a las paredes de las bacterias y estas las degradan. (Orskov, 1988; Perez Gavilán *et al.*, 1976). La actividad proteolítica se puede medir por determinación de la curva de producción de amoniaco en el rumen tras la administración de proteína, por vía oral o en forma intrarruminal, aunque el nivel de degradación depende de una serie de factores limitantes, algunos inherentes al animal huésped, o por la misma actividad microbiana.

Wallace, citado por Ørskov (1979), indicó que la velocidad de degradación del gluten de maíz era menor con bajas concentraciones de amoniaco ruminal que con altas

concentraciones y dichas respuestas se debían al descenso en la cantidad de bacterias en un medio cuyo nitrógeno es limitante.

Diversas fuentes de nitrógeno contribuyen a la producción de amoniaco ruminal entre ellos el (NNP) de la dieta, el nitrógeno salival y posiblemente, pequeñas cantidades de urea que penetran al rumen a través de sus paredes. Todas estas fuentes casi en su totalidad son convertidas en amoniaco. Dependiendo del tipo de dieta ofrecida a los rumiantes, los microorganismos ruminales convierten a amonio 60-90% del nitrógeno consumido diariamente, y 50-70% del nitrógeno bacteriano puede derivarse del amoniaco (Mathison y Milligan, 1971; Tamminga, 1979).

Satter y Slyter (1974) mencionan que niveles de 50 mg/l de amoniaco pueden ser suficientes para un crecimiento bacteriano óptimo. No obstante otros autores señalan que el rendimiento bacteriano no se incrementa como resultado de aumentar la concentración de amoniaco en el rumen por encima de 50 mg/l.

Los valores mencionados anteriormente difieren de lo indicado por Mehrez *et al.*, (1977) quienes definen que la concentración óptima de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en el fluido ruminal es aquélla que da como resultado la máxima tasa de fermentación o la máxima tasa de síntesis microbiana por unidad de sustrato fermentado. Estos autores señalan que la concentración óptima de 235 mg/l de fluido ruminal, lo que apunta a dos explicaciones sobre la concentración de nitrógeno amoniacal: (1) que la concentración de amoniaco necesaria para el máximo desarrollo microbiano no es igual a la que permite un ritmo de fermentación óptimo y (2) que la concentración de nitrógeno necesaria para obtener máximos rendimientos varía con el sustrato utilizado.

Chalupa (1977) menciona que la proteína derivada de las bacterias es mayor que la de los protozoarios (55 vs 38%); sin embargo, la mayor digestibilidad se observa en los protozoarios (88 vs 66%), lo cual indica que tanto el contenido de proteína digestible (36.3 vs 33.4%) como el valor biológico es de (77 vs 78%) para las bacterias y protozoarios respectivamente. La utilización neta de la proteína de protozoarios es superior a la de origen bacteriano (55 vs 67%).

1.1.4.4. Digestibilidad ruminal

La determinación de la digestibilidad de los alimentos es de vital importancia debido a que existen variaciones en la digestión de sus diferentes componentes. La digestión ruminal de los nutrientes puede describirse matemáticamente por varios componentes. Para el caso del almidón, los componentes más importantes son la tasa de digestión, la magnitud de la digestión y la tasa de pasaje. La tasa de digestión puede ser descrita por un proceso de cinética de primer orden con una tasa fraccional constante, debido a que algunas relaciones dinámicas de la digestión de la fibra se pueden traspolar a la digestión del almidón, se puede predecir que la tasa de digestión del almidón está positivamente relacionado con la magnitud de la digestión, mientras que la tasa de pasaje está influenciada de manera negativa por la magnitud de la digestión (Mendoza y Ricalde, 1993; y Minson 1982).

La tasa y magnitud de la digestión también están influenciadas por la naturaleza física y química de la dieta. Por ejemplo, las pérdidas fecales contienen cerca de 13% de componentes fecales extras, 2% de componentes estructurales, y un 10-90% de componentes estructurales (dependiendo de la lignificación y estructura física del forraje). En términos

generales, los alimentos tales como los granos que contienen una proporción baja de carbohidratos estructurales, son altamente digeribles, mientras que la pajas, que contienen una alta proporción de componentes estructurales, son de baja digestibilidad (Church, 1988).

Con dietas a base de pajas se observa que más del 60% de la digestión se lleva a cabo en el rumen (Joany, 1994). El porcentaje de digestión de un alimento depende de dos situaciones importantes: (1) la cantidad de ingrediente consumido y (2) las propiedades intrínsecas del mismo.

El porcentaje de digestión es la interpretación de las curvas de degradación acumulativa, y se refiere a la cantidad de alimento que puede ser digerido por unidad de tiempo (Singh *et al.*, 1992). Los estudios de digestibilidad se pueden llevar a cabo por los métodos de digestibilidad verdadera aparente con el uso de marcadores y calculando la diferencia entre la cantidad de nutriente consumido y la cantidad excretada en las heces (Church 1988).

1.1.4.4.1. Utilización de marcadores para evaluar la digestibilidad de los nutrientes

Cualquier sustancia puede ser empleada como marcador inerte si satisface algunos criterios: no debe ser atacada por los microorganismos del rumen, no debe ser absorbida por el intestino y debe ser posible determinar su concentración sin interferir con otras sustancias presentes. Los marcadores no deben ser tóxicos (Czerkawsky, 1986).

Entre los principales marcadores empleados para caracterizar la fase líquida se encuentra el polietilenglicol (PEG) (Aguilera, 1988; Ellis *et al.*, 1979) y el cobalto-EDTA (Uden y Van Soest, 1980); mientras que para la fase sólida se usan complejos de Cr, Ru, Ce (Thewis *et*

al., 1979); y sesquióxido de cromo (Cr_2O_3) y lignina (Aguilera, 1988; Thewlis *et al.*, 1970; Wilkison y Prescott, 1970; Czerkowsky, 1986). El sesquióxido de cromo es usualmente utilizado envuelto en papel con la concentración exacta. (Czerkowsky, 1986).

Debido a que la fermentación ruminal presenta características tanto de un sistema de cerrado así como de un sistema abierto o continuo, en este último la masa fermentada, el flujo y los residuos alimenticios que abandonan el rumen son equivalentes a los que entran. Sin embargo, Hungate (1966) menciona que el rumen dista de un modelo de fermentación continuo porque el alimento consumido por el animal, el volumen, la tasa de excreción y el nivel a que sale el material del rumen no son constantes. Por lo tanto, a bajas tasas de dilución ruminal (principalmente con una alimentación alta en fibra), la fermentación ruminal generalmente se asemeja a un sistema cerrado y la eficiencia del rendimiento microbiano es relativamente bajo y constante. Por otra parte dietas con alto contenido en granos que presentan altas tasas de dilución la fermentación ruminal se asemeja a un sistema continuo con altas tasas de eficiencia energética para la síntesis de proteína microbiana. (Aguilera, 1988; Bergen *et al.*, 1979), por lo que un sistema de fermentación continuo puede ser el adecuado para describir la tasa de dilución o de recambio, el volumen, la tasa de flujo y el tiempo de retención, para dietas con cierto nivel de concentrado..

1.1.5. Respuestas al empleo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en dietas de rumiantes

Andrigheto *et al.*, (1993) ofrecieron a ovinos de la raza Lamon diferentes niveles de inclusión de levadura (0,20 y 40 g/d) en la dieta que consistía de cebada, remolacha y pasta de soya. Los resultados indicaron que el consumo de materia seca se incrementó ($p < 0.06$), en los tratamientos que recibieron la levadura (0=1370 g/d, 20=1661 g/d, y 40=1490g/d). Asimismo, el pH disminuyó ($p < .05$) en los tratamientos con levadura (6.44, 6.08 y 6.13 respectivamente) y la concentración de AGVs totales (mmol) se incrementó (97.7, 108.2 y 111.7, respectivamente $p < .05$). Sin embargo, no existieron diferencias en la digestibilidad ruminal de la FDA, o de la FDN ni en los valores de proteína cruda o materia orgánica.

Flachowsky *et al.* (1993) realizaron dos experimentos, con carneros castrados y cabras. En uno, ofrecieron a los animales ya fuera una dieta alta en concentrado (700 g de concentrado + 200 g de rastrojo de sorgo picado) o una dieta alta en forraje (700g rye grass henificado + 200 g de rastrojo de trigo picado). Dentro de cada tratamiento, adicionaron cuatro niveles de Yea-sacc 0, 0.5, 1 y 2 g /animal /día. En el segundo experimento se utilizaron carneros castrados alimentados con 1000 g de heno de rye grass + 200 g de concentrado y cabras que consumieron 750 g de rye grass + 150 g de concentrado más. Cada grupo de animales recibieron 0, .5, 1 y 2 g de levadura /animal/día en forma de Levaferm (*Aspergillus oryzae*). Encontraron que a mayor inclusión del *Saccharomyces* se disminuyó la digestibilidad *in situ* de la materia seca en la dieta alta en concentrado (experimento 1) con valores de 55.1, 47.1, 36.1 y 44.5% para los niveles mencionados anteriormente. Para las dietas altas en forraje los valores fueron de 58.7, 56.3, 55.0 y 54.1% respectivamente. El cultivo a base

de *Aspergillus oryzae* no produjo efecto alguno ($P > 0.05$) sobre la degradabilidad *in situ* de la materia seca.

Crosby (1995) realizó un estudio para evaluar el efecto de diferentes dosis de un cultivo de levadura a base de *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc¹⁰²⁶) en ovejas alimentadas con rastrojo de maíz, utilizando dosis de 0, 1, 3, 5 y 7 g / animal / d, suministrados por vía intrarruminal. Empleó catorce ovejas fistuladas tanto ruminal como duodenalmente y la dieta consistió en rastrojo de maíz (65%), sorgo (23.5%), melaza (10.2%) y urea (1.3%). No existió respuesta al cultivo de levadura (Yea-Sacc¹⁰²⁶) sobre la fermentación y digestibilidad ruminal debido a que no se encontró efecto ($p > 0.05$) sobre el pH ruminal, N-NH₃, tasa de flujo de la fracción líquida, volumen ruminal, concentración de ácidos grasos totales y digestibilidad total aparente de la materia seca, fracciones de fibra (FDA y FDN). Sin embargo, en la cuantificación de los protozoarios se obtuvo una respuesta cuadrática ($p < 0.0019$) con valores de 5.31, 9.6, 11.47, 8.92, 4.06 y 9.39 microorganismos/10⁴/ml, respectivamente, para los niveles ya mencionados.

Avendaño *et al.* (1995) realizaron un estudio con borregos criollos, los cuales fueron alojados en jaulas metabólicas, y asignando a los siguientes tratamientos T₁) = 65 % de rastrojo de maíz, 23.5% de grano de sorgo, 10.2 % de melaza, 1.3 % de urea; T₂) = T₁ + Yea-sacc; T₃) = 85 % de rastrojo de maíz, 10 % grano sorgo, 4.5 % melaza, 0.5 % urea; T₄) = T₃ + Yea-Sacc. En las dietas con 85% rastrojo de maíz disminuyó ($p < 0.05$) la digestibilidad aparente de MS en relación con las dietas a 65 de rastrojo (56.8 vs 61.8 %), la adición de *Saccharomyces cerevisiae* no tuvo efecto ($p > 0.05$). El pH se incrementó ($p < 0.01$) en las dietas con 85% de rastrojo de maíz (7.04 vs 6.85); para las dietas con 65%),

pero disminuyó ($P < .01$) en las dietas con Yea-Sacc (6.92 vs 6.98). La concentración de N NH_3 no se modificó ($p > .05$). En los animales que recibieron 85 % de rastrojo de maíz el consumo de materia seca (MS) disminuyó ($p < .01$) con respecto a los que recibieron 65% de rastrojo de maíz, (902 vs 1,094 g), la GDP (67 vs 101) y la deposición de la grasa de (2.2 vs 4.9 kg en la canal) fueron menores ($p < .01$). La adición de Yea-Sacc no causó efecto en dichas variables, por lo que se concluye que un nivel alto (85%) de rastrojo de maíz disminuye el valor nutritivo de dietas para borregos en crecimiento, efecto que no es aliviado al adicionar cultivos de levadura.

Drennan y Meloney (1993) realizaron una serie de experimentos con la finalidad de evaluar el efecto del cultivo de levadura sobre las características de la canal, ganancia de peso y la conversión alimenticia. En el experimento I, la inclusión de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en forma de Yea-Sacc ($5/10^6$ células /g) se proporcionó a razón de 0 y 10 g/ animal /d en toros de 315 kg de peso vivo (PV) , alimentados con ensilado de gramíneas *ad libitum* más 3.8 kg de cebada. No encontraron modificaciones sobre el consumo de alimento ni sobre las características de la canal, no obstante, el grupo tratado presentó un aumento ($P < .05$) en el promedio de la ganancia diaria (1.18 vs 1.11 kg /d), y se mejoró la eficiencia en la conversión alimenticia (6.92 vs 6.57 kg de MS consumida /kg de ganancia diaria), ($P > .05$): En el experimento II, proporcionaron 0 y 15 g/animal/d de la misma levadura a toros con un peso de 310 kg (PV), alimentados *ad libitum* con ensilado de gramíneas más 3.5 kg de concentrado que se incrementó a 4.5 kg en la última etapa. En el experimento III, se utilizaron 0 y 15 g/ animal/d en terneras de 271 kg de PV alimentadas con ensilado de gramíneas *ad libitum* más 0.86 kg de concentrado en base seca. En

ninguno de estos dos experimentos se encontraron efecto de la levadura ($P > 0.5$) sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, eficiencia en la conversión alimenticia o en las características de la canal.

Gedek *et al.* (1992) alimentaron vacas con una dieta compuesta por 15 % de heno, 25 % de ensilado de gramíneas, 20 % de ensilado de maíz y 40 % de concentrado (cebada y frijol de soya), con y sin la adición de levadura (Biosaf Sc 47 : 10 g de cultivo = 5×10^{10} UFC / vaca/d). En rumen, el contenido de células de levaduras viables en los animales tratados fue más alto ($P < 0.05$) que en el grupo control, con valores de 10^5 vs $1.6/10^2$ UFC/ml. respectivamente correspondiendo al número de células presentes en el alimento. Biosaf Sc 47 incrementó ($P < 0.05$) el conteo de bacterias gram⁺ en el contenido ruminal (2.0×10^5 vs 1.6×10^4 UFC /ml.) e incrementó ($P < 0.05$) el contenido de gram⁺ en las heces (1.1×10^4 vs 2.6×10^3 UFC/ml). Se concluyó que Biosaf Sc 47 estimula el crecimiento de bacterias amilolíticas a nivel ruminal.

Mir y Mir (1994) realizaron un estudio con la finalidad de evaluar el comportamiento de novillos en crecimiento y finalización, las características de la canal, digestibilidad del alimento y la degradabilidad ruminal, utilizando un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae* 5×10^9 organismos vivos / g del medio de crecimiento) a razón de 10 /g /novillo /d, en tres dietas: a) 75% de ensilado de alfalfa y 25% de cebada rolada; b) 96% de ensilado de maíz y 4% de pasta de soya; y c) 75% de cebada rolada y 25% de heno de alfalfa. A estas tres dietas se les adicionó (Y) o no (C) levadura. Encontraron que en el primer año la eficiencia alimenticia de la dieta con ensilado de maíz fue menor ($P > 0.05$) entre los novillos de ambos grupos con y sin levadura y no hubieron diferencias en las

características de la canal. La degradación del ensilado de alfalfa fue menor ($P < .05$) en el primer año para los novillos que recibieron Y (15.8 vs 12.2). La adición del cultivo de levadura no sugirió efecto ($P > .05$) sobre la utilización del alimento ni las características de la canal.

Huber *et al.* (1989) analizaron la respuesta del *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de leche en vacas en lactación, utilizando 10/g Yea-Sacc/animal/d. mezclado con 227g de alimento. La ración contenía ensilado de alfalfa, heno de alfalfa, semilla de algodón entera y concentrado. Las vacas que recibieron levadura, tuvieron una producción de leche más alta ($p < .05$) que las del grupo testigo (29.7 vs 28.7 kg/d). La leche corregida a grasa (3.5%) fue más alta ($p < .07$) con levadura (29.2 vs 28.4 kg/d), mientras que el conteo de células ($226/10^3$ vs $284/10^3$) y el porcentaje de proteína en la leche (2.85 vs 2.91%) fueron más bajos ($p < .01$ y $p < .07$) respectivamente que en el grupo de vacas testigo. No se encontraron diferencias en la temperatura rectal ni en la reproducción.

Plata *et al.* (1994) adicionaron *Saccharomyces cerevisiae* a razón de 0 y 10 g/animal/d en dietas con 40, 60 y 80 % de paja de avena en base seca, ofrecidas a novillos con 281 kg de PV. La digestibilidad *in situ* de la FDN (72 h de incubación) se incrementó ($P < .01$) linealmente (37.9, 58.2 y 67.6%) al aumentar el nivel de paja. La adición de levadura mostró una tendencia ($P < .08$) a incrementar la digestibilidad *in situ* donde existió una en relación al grupo testigo (48.6 vs 60.45%). La concentración de ácidos grasos volátiles no se vio afectada ($P > .05$); sin embargo, el porcentaje molar de acetato se incrementó linealmente ($P < .01$; con los niveles de paja 54.6%, 59.6% y 63.3%) al aumentar el nivel de paja no se afectó ($P > .05$) con la adición de levadura (60.3 vs 58.0%). El porcentaje molar

de propionato disminuyó (no obstante, la menor ($P < .05$) concentración de paja de avena (22.3%, 19.2% y 16.3%) sin afectarse ($P > .05$) por la adición de la levadura (20.7 vs 22.2%). La población de protozoarios (microorganismos/ml) se incrementó ($P < .01$) al aumentar los niveles de paja (205802, 413329 y 274415), y se incrementó ($P < .01$) por la adición de la levadura (254135 vs 341763). El consumo de materia seca disminuyó ($P < .05$) al aumentar los niveles de paja, mostrando una respuesta de tipo cuadrática (8.7, 9.1 y 7.5 kg/d); sin embargo, no se observó efecto ($P > .05$) por acción de la levadura.

Kumar *et al.* (1994) adicionaron 0 y 5 g/animal/d de *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc¹⁰²⁶), en una dieta con un alto contenido de concentrado ofrecida a seis búfalos jóvenes (*Bubalus bubalis*). La dieta consistió de .9 kg de rastrojo de trigo, 1.0 kg de trébol alejandrino (*Trifolium alexandrinum*) y 1.8 kg de concentrado/animal/d. La suplementación con levadura incrementó el pH para el grupo con levadura con respecto al grupo testigo (6.39 vs 6.50 respectivamente). La concentración de lactato fue menor en el fluido ruminal a las seis horas postalimentación. El número de bacterias totales, número de bacterias viables totales, celulolíticas, amilolíticas y número de protozoarios se incrementaron en el grupo con levadura. La concentración total de ácidos grasos volátiles, acetato y propionato, así como la proporción acetato:propionato en el grupo con cultivo de levaduras fue numéricamente mayor comparado con el grupo testigo, no obstante, no se señala la probabilidad del error tipo I.

Moloney y Drennan (1994) utilizaron Yea-sacc a razón de 0 y 10 g/animal/d, en 2 dietas para una para baja calidad de paja de cebada con dietas de baja calidad (B) a base de paja de cebada más 8 kg de una mezcla de cebada–pasta de soya, y otra de alta calidad (A): 2 kg de

paja de cebada mas 8 kg de cebada-pasta de soya. El pH ruminal, porcentaje de flujo de la materia seca, proporción molar de acetato y la proporción acetato:propionato disminuyeron ($P<.001$), mientras que la concentración de ácidos grasos, amoniaco, y nitrógeno bacteriano y la proporción molar de butirato e isoácidos se incrementaron ($P<.001$) en la dieta tipo A. La concentración de amonio ruminal no se afectó cuando se adicionó levadura a la dieta B, pero se redujo ($P<.05$) cuando se adicionó a la dieta A. En un segundo experimento la digestibilidades de la materia seca (MS), materia orgánica (MO) y PC ($P<.001$) y de la fibra detergente ácida (FDA) ($P<.05$) se incrementara en la dieta B comparado con la dieta A. La digestibilidad de la PC disminuyó ($P<.05$) por efecto del cultivo de levadura en la dieta B, pero no se modificó en la dieta A. Dichos autores concluyeron que la inclusión del cultivo tuvo una influencia muy pequeña sobre las variables de la fermentación ruminal y sobre la digestibilidad *in vivo*, aunque el efecto sobre el metabolismo del nitrógeno parece depender del contenido de nitrógeno presente en la dieta basal.

1.1.5.1. Cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y su efecto en los cambios en el pH

De Mot citado por Walli (1994) mencionó que las diversas variedades de *Saccharomyces cerevisiae* tuvieron diferente efecto sobre el pH. A este respecto existe controversia, ya que algunos investigadores señalan aumento en los valores de pH después de la suplementación del cultivo de levaduras, mientras que otros autores como Harrison *et al.* (1988) reportaron que con dietas de harina de cebada se produjo un descenso brusco del pH ruminal con la presencia de *Saccharomyces cerevisiae*; además, se redujeron significativamente los niveles

de ácido láctico, produciendo con esto una estabilización del medio ruminal en términos de pH y niveles de lactato ruminal y patrones de fermentación más estables tanto de acetato como de propionato.

1.1.5.2. Relación entre el cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la población de microorganismos

La respuesta de la población bacteriana ruminal, en particular de las bacterias celulolíticas al cultivo de levadura fue un incremento en la población por factores no bien identificados por (Wiedmeier *et al.*, 1987, Harrison *et al.*, 1988 y Frumholtz *et al.*, 1989), sin embargo, esta respuesta fue variable. Asimismo Fondevila *et al.* (1990), alimentando borregos con una dieta de paja de cebada y urea, además de *Aspergillus oryzae*, encontraron un incremento de las bacterias totales aunque las bacterias y protozoarios celulolíticos no fueron alteradas significativamente

Chademaña y Offer en 1990 demostraron que la inclusión de levadura incrementó la población celulolítica como resultado de mejorar y mantener la amortiguación del líquido ruminal, o bien por la remoción de componentes del alimento producto de la degradación de partículas del almidón.

Plata (1992) observó un incremento en el número de protozoarios debido a la inclusión de levadura, no obstante, este resultado se debió a la suma de ciertos factores nutricionales.

Carro *et al.* (1992), en un estudio realizado con diferentes tipos de dietas, en el cual utilizaron una relación forraje:concentrado de 30:70 hallaron un incremento de la población de protozoarios al incluir levadura. Sin embargo, al ofrecer dietas forraje: concentrado en

la proporción 50 : 50; y con dietas con una proporción mínima de concentrado encontraron una disminución en la población de protozoarios, y en forma particular, en el número de protozoarios de la subespecie holotricos.

1.1.5.3. Relación del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la concentración de ácidos grasos volátiles.

El efecto de la levadura en la concentración de ácidos grasos volátiles es variable. Los resultados presentados por Weidmeier *et al.* (1987) mencionan incremento en la relación acetato: propionato en el rumen de los animales que recibieron el cultivo de levadura.

Sin embargo, Chademana y Offer (1990) encontraron disminución en la relación acetato : propionato en ovinos que recibieron una dieta con un porcentaje alto de concentrado y un cultivo de levadura. Williams *et al.* (1990) observaron cambios en los patrones de fermentación ruminal como resultado de la inclusión del cultivo de levadura en la dieta, en los que el valor promedio en la proporción molar de AGV's fue menor cuando las dietas contenían cultivo de levaduras.

1.1.5.4 Relación del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

Trabajos realizados por Chademana y Offer (1990) donde utilizando concentraciones variables de forraje y concentrado (90 : 10, 65 : 35, y 40 : 60) demostraron que la adición del cultivo de levadura no afectó la concentración del nitrógeno amoniacal en diferentes dietas.

Semptey en 1991, al experimentar con vacas lecheras a las que les proporcionó una dieta de forraje:concentrado en la misma proporción (50%), con y sin cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶) no observó diferencia alguna en la concentración de N-NH₃ ruminal. Similar resultado indicaron Mutsvangwa *et al.* (1992) en toros a los que proporcionaron una dieta a base de cebada más cultivo de levadura. No obstante Erasmus *et al.* (1991) en vacas lecheras encontraron una disminución en la concentración de nitrógeno amoniacal en los animales que recibieron levadura (Yea-Sacc).

Dawson y Newman (1987) y también Carro *et al.* (1992) utilizando fermentadores artificiales (Rusitec), hallaron que la concentración de N-NH₃ disminuyó en los grupos que recibieron una dieta alta en concentrado con respecto al grupo testigo.

Mehrez *et al.* (1977) definieron que la concentración óptima de nitrógeno amoniacal en el fluido ruminal, fue aquella que resultó en una máxima tasa de fermentación para utilizarse en una máxima producción de proteína microbiana, por cada unidad de sustrato fermentado. Demostraron que la concentración de N-NH₃ requerida para una máxima síntesis de proteína microbiana por unidad de sustrato fermentado en estudios *in vitro* fue de 50-60 mg/l de fluido ruminal, lo que correspondió a 5-6 mg / dl de líquido ruminal, mientras que en estudios realizados en vivo la concentración de N-NH₃ varía de 88 a 289 mg / l, mencionando que la concentración mínima de N-NH₃ para una máxima tasa de fermentación es de 235 mg / l de fluido ruminal.

1.1.5.5. Relación del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la síntesis de proteína microbiana

Erasmus *et al.* (1991) mencionaron que el perfil de aminoácidos de la digesta duodenal estuvo influenciado principalmente por las fuentes de proteína no degradable (sobrepaso) a nivel ruminal. La proteína formada por células microbianas proporcionó entre 40 y 80% de los aminoácidos contenidos en la digesta a nivel duodenal, aunque la composición de aminoácidos de esta fracción fue difícil de alterar por medio de la dieta. Actualmente, la cantidad de proteína microbiana se puede modificar al estimular el crecimiento de bacterias ruminales.

Dawson y Newman (1987) indicaron que la levadura Yea-Sacc incrementó el flujo de nitrógeno no amoniacal hacia el intestino delgado en borregos. De forma similar se incrementó la concentración de proteína microbiana en los fermentadores artificiales.

Asimismo, Erasmus *et al.* (1992) utilizando dos dietas; (testigo-paja de trigo y harina de alfalfa) y testigo + 10 g del cultivo de levadura (Yea-Sacc) observaron un incremento de la síntesis de proteína microbiana y flujo de aminoácidos al duodeno en particular metionina, el cual se elevó de 41 a 58 g / día, con la dieta experimental

También Erasmus *et al.* (1992) en un segundo experimento encontraron un incremento de 42 g / día en el flujo de nitrógeno no amoniacal en duodeno en vacas a las que se les suplemento con Yea-Sacc. Observaron que la concentración de cuatro aminoácidos (metionina, cisteína, treonina y serina) fue mayor en las vacas que consumieron levadura, con respecto al grupo testigo.

Debido a que existen resultados variables con respecto al efecto del cultivo de levaduras sobre las diferentes variables ruminales al adicionarlo en la dieta o agregarlo en forma intrarruminal en animales rumiantes, se plantearon las siguientes hipótesis:

HIPOTESIS:

1) La adición de *Saccharomyces cerevisiae* a dosis comercial, en ovinos alimentados con elevada cantidad de rastrojo de maíz tendrá un efecto positivo sobre las diferentes variables del metabolismo ruminal.

2) La adición de *Saccharomyces cerevisiae* a dosis comercial mostrará cambios positivos sobre alguno de los géneros de la población de protozoarios

OBJETIVOS:

❁ Determinar el efecto de dos cultivos de levadura, Yea-Sacc y Levucell, administrados a dosis comerciales sobre el metabolismo ruminal: pH, nitrógeno amoniacal (N-NH₃), ácidos grasos volátiles (AGV's), tasa de flujo de la fracción líquida, la digestibilidad de la materia seca, de la materia orgánica, y de paredes celulares del forraje.

❁ Cuantificar la población de protozoarios (género /ml) en muestras de líquido ruminal.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Localización geográfica del área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la granja experimental del Programa de Ganadería en el Colegio de Postgraduados, ubicado en el kilómetro 35.5 de la carretera federal México- Texcoco, localizado geográficamente a los 98°53' longitud oeste y 19°20' latitud norte y a una altitud de 2250 msnm, con una precipitación media anual mde 700-800 mm, presentando un regimen de lluvias en verano y una temperatura media anual de 18°C. Las muestras obtenidas en la fase experimental se analizaron en los laboratorios del **Programa de Ganadería**, en el **Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica** de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y en el **Departamento de Biotecnología y Aminoácidos** del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

2.2. Metodología experimental

2.2.1. Características de los animales en estudio

Se utilizaron 9 ovejas adultas criollas con un peso promedio de 28.8 ± 3 kg a las cuales se les practicó previamente una cirugía para colocarles una cánula ruminal y una cánula duodenal. Los animales se alojaron en jaulas metabólicas de manera individual.

2.2.2. Alimentación de los animales

La dieta que se ofreció fue a base de rastrojo de maíz (65 %), sorgo (23.5 %), melaza (10.2 %) y urea (1.3 %) (valores expresados en base seca). En el Cuadro 2 se presenta la composición nutricional de la dieta ofrecida. Este alimento se ofreció *ad libitum* durante un período de adaptación de diez días, durante el cual los animales mostraron un consumo promedio de $.858 \pm .170$ kg/M.S./día; durante la fase de experimentación se restringió a 90% del nivel de consumo *ad libitum*, para evitar diferencias en la tasa de pasaje, consumo y en la eficiencia del crecimiento microbiano. El alimento se suministró dos veces al día (7:00 y 16:00 h), durante la fase de experimentación, el agua de bebida se suministró en forma diaria *ad libitum*.

2.2.3. Distribución de tratamientos

Los tratamientos que se evaluaron en la presente investigación fueron los siguientes:

T1- tres ovejas con dieta base sin cultivo de levadura.

T2 - tres hembras ovinas con dieta base + 3 g de cultivo de levadura cepa *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc¹⁰²⁶ 20×10^9 UFC / g de cultivo, Alltech's, Biotechnology Center Nicholasville, Ky.).

T3 - tres borregas con dieta base + 1 g de cultivo de levadura cepa *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell 10^8 UFC/ g de cultivo Agrimerica Northbrook, IL.).

2.2.4. Adición del cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

Los cultivos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* se proporcionaron en sobres de papel Whatman No.1 vía cánula ruminal, durante el período experimental por las mañanas (8:00 h), en dosis de 0, 1 y 3 g / día / animal, para los tratamientos T₁, T₂ y T₃, respectivamente, durante las fases de adaptación y de muestreo.

2.2.5. Obtención de líquido ruminal

Se colectaron muestras de líquido ruminal cada cuatro horas (Cuadro 3) de acuerdo a la metodología utilizada por Mc Cullough (1967). Al obtener el líquido ruminal se filtró con un cedazo de manta de cielo para eliminar el excedente de partículas, reuniendo 50 ml del líquido; se acidificó la muestra con ácido clorhídrico (1ml al 50% v/v) para evitar pérdidas de nitrógeno y se congeló a una temperatura de -4°C, para analizarse posteriormente.

Paralelamente se colectaron 5 ml de fluido ruminal, al cual se adicionaron 5 ml de una solución de yodo con la finalidad de fijar a los protozoarios y realizar posteriormente el conteo de los mismos. La solución de yodo se preparó mezclando 1.5 g de yoduro de potasio y 0.5 g de yodo resublimado, mas 1 ml de agua destilada para disolver los gránulos de yodo. Esta solución se aforó a 100 ml con agua destilada (Coleman, 1995 comunicación personal).

Cuadro 2 Composición nutricional de la dieta ofrecida.

Nutrientes	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Materia seca	82.57	100.00
Humedad	17.43	00.00
Proteína cruda	8.38	10.15
Extracto etereo	3.17	3.84
Cenizas	4.65	5.63
Fibra cruda	17.35	21.01
Extracto libre de nitrógeno	49.02	59.37
Energía digestible kcal/kg.	2888.12	3497.72
Energía metabolizable kcal/kg	2368.01	2867.83

⊕ Análisis realizado en el laboratorio del **Departamento de Nutrición animal y Bioquímica** de la F.M.V.Z. de la UNAM.

2.2.6. Obtención de muestras duodenales y de heces

Las muestras duodenales se colectaron cada ocho horas durante los primeros cuatro días y se agruparon según la técnica descrita por Stock *et al.* (1987) durante un período de cuatro días (Cuadro 3). Para cada tiempo de muestreo se obtuvieron muestras de 25 ml de líquido duodenal, y posteriormente se congelaron.

Las muestras de heces se conjuntaron en forma similar a la técnica descrita anteriormente, también durante un período de cuatro días (Cuadro 3). Las heces se obtuvieron de manera directa del ano de los animales, por palpación rectal, colectando aproximadamente 100 g de muestra / animal.

2.2.7. Variables evaluadas

2.2.7.1. Determinación de pH del líquido ruminal

Las lecturas del pH se realizaron al momento de obtener las muestras de líquido ruminal (Cuadro 3 muestras ruminales), con la ayuda de un potenciómetro portátil marca Orión. El potenciómetro se calibró con una solución buffer (pH de 7) y con una solución ácida (pH de 4), lavando el electrodo con agua destilada en cada medición y secándolo con papel absorbente. Se registraron las lecturas por hora de muestreo.

2.2.7.2. Conteo de la población de Protozoarios:

Durante el periodo de muestreo (Cuadro 2 muestras ruminales) se colectaron 5 ml de líquido ruminal de las diferentes horas en frascos que contenían solución de yodo sublimado para fijar a los protozoarios. Para la determinación de la población de protozoarios se utilizó un hemocitómetro marca Newbauer el cual presenta las siguientes especificaciones: consta de una plataforma pulida donde se encuentran dos zonas cuadrículadas cada una de ellas con nueve cuadrados principales, con una superficie de 1 mm². Además los cuadrados que forman las esquinas se subdividen en 16 cuadrados secundarios, y el cuadrado principal del centro tiene 25 cuadros secundarios, que a su vez se subdividen en 16 cuadros terciarios, sumando 400 cuadrados. Se realizaron 178 observaciones por muestra utilizando la técnica modificada descrita por Benjamin (1989) para cuantificar las células sanguíneas. Se utilizó un número promedio por muestra para calcular el número de protozoarios por mm². Así se obtuvo la concentración por ml de fluido ruminal (multiplicando el factor de dilución X protozoarios / mm² X 10⁴ (Williams y Coleman, 1991). Se realizó el siguiente cálculo:

de protozoarios /ml = (promedio de las observaciones/mm²) (factor de dilución) (10⁴).

2.2.7.3. **Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) (*Saccharomyces cerevisiae*)**

El conteo de unidades formadoras de colonias se realizó utilizando 1 g de cada uno de los cultivos (Yea-Sacc¹⁰²⁶ y Levucell) los cuales fueron mezclados con 10 ml de solución fisiológica salina estéril (SSF) al 8.5%, a un pH de 7; se homogenizó perfectamente y se transfirió 1 ml para hacer diluciones decimales: 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000 y 1/1000000, en tubos que contenían 9 ml de SSF. Se sembraron 3 gotas de 20 microlitros por duplicado en cajas de petri con Agar dextrosa Sabouraud (SDA, E Merck, D 6 100 Darmstadt Germany), con antibiótico (penicilina-estreptomicina 200 ppm) y se incubaron a 30 °C. Al cabo de 48 h se llevo a cabo el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de las diluciones en las que esto fue posible, obteniéndose el promedio y desviación estandar. Se ajustó la concentración al factor de dilución y se registró el número de UFC / ml (Miles y Mirsa, citado por Cruickshank *et al.*, 1975).

2.2.7.4. **Determinación de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en líquido ruminal**

La determinación de nitrógeno amoniacal se realizó de acuerdo con la técnica descrita por McCullough (1967). Al descongelar las muestras de líquido ruminal, se les añadió una solución de ácido metáfosfórico al 25% (w/v), en la proporción de 1 ml de este ácido se combinó por 4 ml de líquido ruminal. Las muestras se dejaron reposar cuatro horas en refrigeración y posteriormente se centrifugaron a una velocidad de 3500 rpm durante 25 min. El sobrenadante se transfirió a viales de 1.5 ml, almacenándose las muestras en refrigeración a una temperatura de 4°C. Se tomaron 20 µl del sobrenadante, los cuales se vertieron a tubos de 10 ml, adicionando 1 ml de solución de fenol y 1 ml de hipoclorito de

sodio alcalinizado con NaOH (5 g de NaOH y 10 ml de hipoclorito de sodio). Los tubos se incubaron a temperatura de 37°C durante 30 minutos y después se agregaron 5 ml de agua destilada. La absorbancia se registró en un espectrofotómetro de luz ultravioleta-visible (VARIAN modelo CARY 1-E) a 630 nm. Se utilizó un blanco de referencia que contenía 1 ml de fenol, 1 ml de hipoclorito de sodio y 5 ml de agua destilada. Se preparó una curva patrón para determinar la concentración final de las muestras, con 3.82 g de NH₄Cl previamente desecado a 105°C durante un hora, en 100 ml de agua destilada. Se tomaron alícuotas de 2.5, 5, 10, 15, 30, 45, 60 µl y se llevó a un aforo de 100 ml.

2.2.7.5. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles

Para la determinación de los ácidos grasos volátiles (AGV's) se utilizó la técnica de cromatografía de gases, descrita por Erwin *et al* (1961). Las muestras se prepararon con ácido metafosfórico al 25% para precipitar la proteína. La lectura se realizó con un cromatógrafo de gases de la marca VARIAN modelo 3 700, utilizando una columna de acero inoxidable de 6' X 118" empacada con chromosorb W DMCS 60-80 malla, con una temperatura de columna de 130°C, flujo de aire de 300ml/min, flujo de nitrógeno de 30 ml/min, flujo de hidrógeno de 20 ml/min y sensibilidad de 10⁻¹⁰ Amps/mv. Se inyectó 1 µl de muestra por duplicado.

Cuadro 3 Calendario de muestreo.

Hora	muestras duodenales y heces		muestras ruminales			muestras tasa de flujo	
	día 1	día 2	día 3	día 4	día 5	día 6	día 7
0:00	★				★		★
2:00		★				★	
4:00			★		★		
6:00				★		★	★
8:00	★				★		
10:00		★				★	★
12:00			★		★		★
14:00				★		★	
16:00	★				★		★
18:00		★				★	★
20:00			★		★		
22:00				★		★	★

2.2.7.6. Determinación de la tasa de pasaje fracción líquida

Utilizando la técnica de Uden *et al.* (1980), se realizó la determinación de la tasa de flujo de la fracción líquida con marcador externo Co-EDTA. Se adicionaron 50 ml en forma intrarruminal por una sola vez, a las 6:00 A. M. De acuerdo al calendario de muestreo (Cuadro 3 muestras de tasa de flujo) en el séptimo día, se colectaron 50 ml de líquido ruminal, se filtraron a través de un cedazo de manta de cielo y se vertieron a frascos con capacidad de 50 ml, los cuales fueron centrifugados a 20.000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se almacenó en frascos de 50 ml y se diluyó con agua a una proporción de 1:10 (líquido ruminal : agua). Se realizó la lectura de la concentración de cobalto en un espectrofotómetro de absorción atómica de flama de la marca PERKIN-ELMER MODELO 2380, utilizando un estandar de 1000 ppm de Merk pipeteando 0, .5, 1.5 y 3 ml de la solución estandar de cobalto. de la cual se obtuvieron 5, 15 y 30 ppm aforados con agua desionizada a 100 ml. El equipo se ajustó con una longitud de onda de 240.7 nm; se utilizó una abertura de la rejilla de 0.2 . La tasa de pasaje se calculó con la pendiente obtenida entre la regresión lineal del logaritmo natural de la concentración de cobalto y el tiempo. Una vez que se determinó el intercepto y la concentración de cobalto adicionada a los animales en unidad de miligramos, se obtuvo el volumen ruminal y la tasa de flujo de la fracción líquida.

2.2.7.7. Digestibilidad aparente de los nutrientes

La determinación de la digestibilidad aparente de la materia seca (MS) y materia orgánica (MO) de la dieta utilizada, se llevó a cabo de acuerdo con el AOAC (1984). La determinación de las fibras detergente neutro y ácido se determinó de acuerdo con la metodología de Van Soest *et al.* (1991). Se usaron 0.25 g de muestra duodenal y de heces, las cuales se incubaron en tubos de ensaye de 50 ml, se les agregó 25 ml de solución neutra o la misma cantidad de la solución ácido, según correspondiera, y se incubó a una temperatura de 90°C/60 min. Se filtró y se desecó a 50°C durante 24 h. El cálculo se llevó a cabo con la siguiente fórmula:

$$\%FDND = \frac{(A)(B) - (C)(D)}{(A)(B)} \times 100$$

Donde:

%FDND = Porcentaje de fibra detergente neutro digestible
A = Gramos de muestra antes de la incubación
B = Porcentaje de FDN del rastrojo de maíz
C = Gramos de muestra residual (después de la incubación)
D = Porcentaje de FDN del residual

2.2.7.8. Determinación de la digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta

Mediante la adición de óxido de cromo (Cr₂O₃) en forma intrarruminal en dosis de 1 g/oveja /día durante el período de adaptación y muestreo, se estimó la digestibilidad de los nutrientes así como el flujo de los mismos (Stock *et al.*, 1987). El óxido de cromo se administró envuelto en papel filtro Whatman No. 1, a las 7:00 h diariamente. Tanto las muestras de heces como de contenido duodenal se mezclaron y agruparon por animal/

período, para obtener un total de nueve muestras de excretas y de contenido de duodeno (Cuadro 3). Dichas muestras se desecaron en una estufa de marca FELISA modelo FF-293, se tomó una alícuota de 1 g y se procedió a calcinarlo en una mufla marca LINDBERG a una temperatura 600°C por dos horas. Al enfriarse, la muestra calcinada, se le añadieron 3 ml de una solución de sulfato de manganeso al 30 % (w/v) en un litro de ácido fosfórico, posteriormente se agregaron 4 ml de una solución de bromato de potasio al 4.5% y se procedió a calentar la muestra hasta la ebullición (cubriendo el crisol con un vidrio de reloj) durante 10 min, hasta el punto en que la efervescencia cesó. Se dejó enfriar, se filtró en un matraz aforado a 100 ml y se completó el volumen a 100 ml. Previamente, a los matraces se les adicionaron 10 ml de una solución de cloruro de calcio a 5000 ppm. Se agitaron vigorosamente una vez agregado los componentes y se filtró para proceder a realizar la lectura. Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica de flama de la marca PERKIN-ELMER modelo 2380. El equipo se ajustó a una longitud de onda de 357.9 nm, con una abertura de la rejilla de 0.7. Cabe mencionar que el procedimiento para determinar el contenido de cromo en las muestras tanto de duodeno como de heces se realizó según la técnica recomendada por Williams *et al.* (1962) para estimar la digestibilidad y flujo de nutrientes que fluyen hacia el duodeno.

2.2.7.9. Perfil y flujo de aminoácidos a nivel duodenal

Las muestras de contenido duodenal se mezclaron y deshidrataron por liofilización durante 24 h, para evitar la pérdida de algunos nutrientes. Se utilizó un equipo de la marca Heto modelo FD3. Posteriormente, las muestras se desgrasaron con una solución de hexano en

un aparato Soxhlet durante 10 horas, se hidrolizó 1 ml de cada muestra con 200 μ l de HCl 6N durante 20 h a 110°C. Posteriormente el HCl fué evaporado en un rotovapor, eliminándose la humedad a -4°C. El residuo fué disuelto con agua (1:10) filtrando a 0.22 μ m. Para la determinación del perfil de aminoácidos se utilizó la técnica descrita por Ladrón de Guevara et al. (1995), utilizando un sistema de cromatografía líquida de Beckman que combinó: A) un módulo programable de disolventes modelo 126, con una válvula de inyección Altex 210A, B) un sistema de control Nec PC 8300, C) un integrador (modelo 427) y D) un fluorómetro (modelo 121) de Gilson (filtro de excitación 360nm y filtro de emisión 450 nm); una columna Ultrasphere XL ODS (3 μ m) (237500), 70 mm X 4.6 mm I.D., protegida por una columna Ultrasphere XL ODS (3 μ m) (237520), ambas de Beckman.

Una solución estándar de aminoácidos (1 μ g /ml) fué disuelta en agua, excepto para el ácido glutámico, ácido aspártico y tirosina. Estos últimos fueron disueltos en ácido clorhídrico (20 μ l HCl 6N). La mezcla estándar de 16 aminoácidos fué preparada a una concentración de 80-150 picomol/ml y almacenada a 4°C , posteriormente esta mezcla estandar se diluyó a 1:10 v/v con una solución de ac. iodoacético, o diluída con agua si la cisteína no fue determinada. Utilizando 50 μ l de la muestra más 500 μ l del reactivo o-ftaldehído (OPA) de Beckman, en un tubo de Eppendorf a temperatura ambiental fue mezclado en un vórtex. Después de 120 min, se tomó una alícuota de 5 μ l para ser inyectada (3 a 7 picomoles de cada aminoácido).

2.3. Análisis estadístico

Para llevar a cabo el análisis de las variables se utilizó un análisis de varianza, para un diseño completamente aleatorizado, según el modelo lineal.

2.3.1. Modelo estadístico

Donde :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, r; \quad j = 1, 2, \dots, t$$

Y_{ij} = jésima observación del iésimo tratamiento

μ = Media general

T_i = efecto del iésimo tratamiento

E_{ij} = error aleatorio

Las medias de tratamientos se compararon por medio de contrastes diseñados ortogonalmente (T_1 vs T_2 y T_3 ; T_2 vs T_3).

- 1) T_1 - Dieta control
- 2) T_2 - Dieta control + levadura (Yea-Sacc)
- 3) T_3 - Dieta control+ levadura (Levucell)

Cuando las variables estudiadas se registraron a diferente hora de muestreo, se analizaron por el procedimiento de mediciones repetidas, según el manual del paquete estadístico SAS, Wilcox (1990).

III. RESULTADOS

3.1 Potencial de hidrógeno

El pH promedio del líquido ruminal disminuyó ($P < .05$) por acción del cultivo de levadura en comparación con el grupo testigo. El valor inferior lo presentó el grupo con tratamiento de Yea-Sacc (Cuadro 4).

Los contrastes testigo vs cultivos (test. vs cult.) y entre cultivos (YS vs Lev) indican que la levadura no afectó ($P > .05$) el pH del fluido ruminal, para las horas 6, 10, 14 y 18. Una disminución ($P < .01$) del pH en el líquido ruminal se presentó en las horas 2 y 22 del horario de muestreo en los contrastes analizados (Cuadro 4).

El pH promedio del líquido ruminal mostró una disminución ($P < .05$) por acción de la levadura (en ambos grupos) en comparación con el grupo testigo. El valor inferior lo presentó el grupo con tratamiento de Yea-Sacc (Cuadro 4). Entre levaduras no se observaron diferencias significativas ($P > .05$). La interacción tiempo por tratamiento no fue significativa ($P > .05$) en los distintos tratamientos analizados.

3.2. Protozoarios ruminales (microorganismos / 10^4 /ml)

3.2.1. Concentración de protozoarios Holotricos

El cultivo de levadura no afectó ($P > .05$) la concentración de Holotricos promedio en los tratamientos 1 y 2 (Yea-Sacc y Levucell).

En las diferentes horas de muestreo (2, 6, 10, 14, 18 y 22 h) la adición del cultivo *Saccharomyces cerevisiae* no presentó ($P > .05$) cambios significativos en la población de Holotricos en el contenido ruminal para los contrastes (test. vs cult. y YS vs Lev.). Tampoco hubo ($P > .05$) interacción tiempo por tratamiento (Cuadro 5).

3.2.2. Concentración de Entodimorfos

En el Cuadro 6 se muestra que el cultivo de levadura no alteró ($P > .05$) la concentración de Entodimorfos en el contenido ruminal (contrastos test. vs cult. y YS vs Lev.), en las diferentes horas de muestreo (2, 6, 10, 14, 18 y 22 h).

Asimismo, en dicho cuadro se muestra que en el contraste YS vs Lev., el primer cultivo (Yea-Sacc) produjo disminución en la concentración de estos organismos ($P < .05$) en la hora 6 con valores de (1500×10^4 y 805×10^4) y en la hora 10 con valores de 1370×10^4 y 1057×10^4 , respectivamente (Cuadro 6).

La concentración promedio de Entodimorfos no fue modificada ($P > .05$) por la inclusión de levadura. La interacción tiempo por tratamiento ($P > .05$) no manifestó significancia (Cuadro 6).

3.3.3 Concentración de protozoarios totales (Holotricos y Entodimorfos)

La adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no mostró efecto significativo ($P > .05$) sobre la población total de protozoarios (contrastos test. vs cult. y YS vs Lev.) en las horas de muestreo 2, 6, 10, 14, 18 y 22 (Cuadro 7). A la hora 6 de muestreo (Cuadro 7) se observó una diferencia significativa ($P < .05$) en el contraste entre levaduras (YS vs Lev.): la

población se incrementó con la adición de Yea-Sacc. La concentración promedio de protozoarios totales no se afectó ($P>.05$) por la inclusión de levadura para los tratamientos YS y Lev. La interacción tiempo por tratamiento no fue significativa ($P>.05$) para dicha variable (Cuadro 7).

3.3 Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

En el Cuadro 8 se puede observar que la adición de levadura no afectó ($P>.05$) la concentración de nitrógeno amoniacal del contenido ruminal (test. vs cult.), en las diferentes horas de muestreo.

En dicho Cuadro se observan tendencias de aumento en la concentración de nitrógeno amoniacal en los tres tratamientos a las 10 y 18 horas. En la concentración de nitrógeno amoniacal promedio total del líquido ruminal no se observó efecto ($P>.05$) de los cultivos de levadura con respecto al grupo testigo. La concentración de N-NH₃ promedio total, mostró una tendencia de disminución en los grupos que recibieron YS y Lev. La interacción tiempo por tratamiento no fue significativa ($P>.05$) en la variable analizada (Cuadro 8).

3.4. Acidos grasos volátiles a nivel ruminal

3.4.1. Concentración de acetato (mmoles)

La levadura no afectó ($P > .05$) la concentración de ácido acético (mmoles) en las horas de muestreo (2, 26, 14, 18 y 22) para los contrastes (test. vs cult. y YS vs Lev.). El cultivo de levadura solo afectó de manera significativa ($P < .05$) la concentración de ácido acético (mmoles) en la hora 10 de muestreo, para el contraste de test. vs cult. (Cuadro 9).

En dicho cuadro se observa que no hubo diferencia significativa ($P > .05$) en la concentración promedio de acetato (mmoles). Cabe mencionar que existió cierta tendencia hacia el incremento cuando se adicionó levadura. Asimismo, no se observó significancia ($P > .05$) en la interacción tiempo por tratamiento para los diferentes tratamientos analizados (Cuadro 9).

3.4.2. Concentración de propionato (mmoles)

Como se indica en el Cuadro 10 la adición de *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la concentración promedio (mmoles) de propionato para los tratamientos YS y Lev. No se encontró ($P > .05$) interacción tiempo por tratamiento. En las diferentes horas de muestreo, la adición del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la concentración (mmoles) de ácido propiónico en el líquido ruminal

3.4.3. Concentración de butirato (mmoles)

La concentración promedio (mmoles) del butirato en el líquido ruminal no manifestó ($P < .05$) diferencia significativa para los diferentes tratamientos (test. vs cult. y YS vs Lev.).

Asimismo, no se presentó ($P > .05$) interacción tiempo por tratamiento (Cuadro 10).

El cultivo de levadura no afectó ($P < .05$) de manera significativa la concentración de butirato en el contenido ruminal para las diferentes horas de muestreo (2, 6, 10, 14, 18 y 22) para los contrastes test. vs cult. y YS vs Lev.

3.4.4. Concentración (mmolar) de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato)

Como se observa en el Cuadro 12 el cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no cambió ($P > .05$) la concentración (mmoles) de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato) en las 2, 6, 14, 18 y 22 horas de muestreo para los contrastes test. vs cult. y YS vs Lev. En la hora 10 del muestreo la adición de levadura *Saccharomyces* incrementó ($P < .05$) la concentración de ácidos grasos volátiles para el contraste de test. vs cult. Como se observa en dicho cuadro, la adición de *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la concentración promedio (mmoles) de los ácidos grasos volátiles señalados; además no se encontró ($P > .05$) interacción tiempo por tratamiento.

3.4.5. Proporción molar de acetato

El cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la proporción molar promedio de ácido acético en el contenido ruminal para los contrastes test. vs cult. y YS vs Lev. En las diferentes horas de muestreo, la adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae*

incrementó ($P < .05$) el porcentaje molar del acetato en el rumen según se demostró en el contraste de test. vs cult (Cuadro 13). Además no existió interacción tiempo por tratamiento ($P > .05$).

3.4.6. Proporción molar de propionato

El cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la proporción molar promedio de ácido propiónico para los contrastes test. vs cult. y YS vs Lev. En las diferentes horas de muestreo, la adición de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (contrastos test. vs cult. y YS vs Lev.) no modificó ($P > .05$) la proporción molar de ácido propiónico (test. YS y Lev Cuadro 14). No se presentó interacción tiempo por tratamiento ($P > .05$).

3.4.7. Proporción molar de butirato

La inclusión de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la proporción molar promedio de butirato a nivel ruminal para los contrastes test. vs cult. y YS vs Lev (Cuadro 15). En las diferentes horas de muestreo, el cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* no varió ($P > .05$) la proporción molar de ácido butírico a nivel ruminal, para los tratamientos test. Yea-Sacc y Levucell (Cuadro 15). No se halló interacción tiempo por tratamiento ($P > .05$). Como puede apreciarse en el Cuadro 16 que tanto la proporción molar y la concentración milimolar de butirato no se afectó ($P > .05$) de manera significativa. Así mismo en dicho cuadro se puede apreciar que la proporción molar de los ácidos grasos volátiles no manifestó algún cambio significativo ($P > .05$).

3.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida Co-EDTA

3.5.1. Tasa de pasaje (%/h)

La tasa de pasaje expresada en porcentaje por hora (%/h) se muestra en el Cuadro 17. El cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P>.05$) a los diferentes contrastes de los diferentes tratamientos analizados, sin embargo, se puede señalar que existió una tendencia de aumento para el tratamiento de Yea-Sacc.

3.5.2. Volumen ruminal (l)

El cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no produjo cambios sobre el volumen ruminal y no se presentaron ($P>.05$) diferencias significativas entre las diferentes cepas de levaduras (Cuadro 19).

3.5.3. Consumo de alimento (MS)

El consumo de alimento no fue diferente debido a que estuvo restringido a 90% del consumo *ad libitum* ($P>.05$) en los contrastes (test vs cult.) y (YS vs Lev.). Los valores fueron los siguientes 811, 963 y 800 g de MS respectivamente para test, Yea-Sacc y Levucell, (Cuadro 17).

3.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta

3.6.1. Digestibilidad aparente de los nutrimentos

La adición de levadura no afectó ($P>.05$) la digestibilidad aparente total de la materia seca (MS), la digestibilidad ruminal de la MS o la cantidad de materia seca digerida en rumen (Cuadro 18). Además, no existió diferencia en el contraste (YS y Lev).

Asimismo, no existió efecto ($P>.05$) sobre la digestibilidad aparente de la materia orgánica o de las fracciones de la fibra (FDN y FDN), en ninguno de los contrastes analizados.

3.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno

No se encontró efecto ($P>.05$) por la adición de las levaduras en los flujos de nutrientes evaluados. En el flujo de materia seca a duodeno en los tratamientos (test., YS y Lev.) se obtuvieron valores de 0.030, 0.040 y 0.020 kg/h respectivamente. El flujo de la fracción de fibra detergente neutra (FDN) a duodeno no se afectó ($P>.05$), siendo los valores de 2.88, 3.80 y 2.34 kg/h, en el mismo orden de tratamientos. Tampoco se halló efecto ($P>.05$) sobre el flujo de la fracción fibra detergente ácida debido a la inclusión de levadura. Los valores fueron 15.65, 22.21 y 12.34 para los tratamientos analizados. El flujo de proteína cruda (PC) a duodeno, no mostró ($P>.05$) significancia por la adición del cultivo de levadura mostrando valores de 0.42, 0.40 y 0.66 kg/h. En la misma forma, el flujo de la proteína verdadera (PV) a duodeno, no se modificó ($P>.05$) por la acción del cultivo de levadura (Cuadro 19).

3.7. Perfil y Flujo de aminoácidos a duodeno

Los aminoácidos (g/100 g de MS) arginina y fenilalanina tuvieron una menor concentración (g/100 g de MS) en el tratamiento testigo ($P < .05$) con relación a los tratamientos que recibieron levadura *Saccharomyces cerevisiae*. (Cuadro 20). No se halló efecto ($P > .05$) sobre el resto del perfil de aminoácidos en los distintos tratamientos analizados (test, YS y Lev.), según se muestra en el mismo cuadro. Sin embargo, hubo cierta tendencia de aumento en el perfil de aminoácidos en los tratamientos con levaduras, siendo mayor en el grupo que recibió Levucell.

Los cultivos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no modificaron ($P > .05$) el flujo de aminoácidos (g/ día) hacia duodeno.(Cuadro 21).

IV DISCUSION

4.1 Potencial de hidrógeno

La adición del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Cuadro 4) provocó una disminución del pH ($P < .01$) en el fluido ruminal, resultados que concuerdan con lo reportado por Williams et al., (1991), Harrison et al. (1988), Mutsvangwa et al. (1992) y Avendaño et al. (1995). Así mismo Andrighetto et al. (1993), observaron un decremento del pH ($P < .05$), lo cual lo atribuyen a una mayor actividad microbiana.

Investigaciones realizadas por Kumar et al. (1995) reportan resultados que difieren a los de esta investigación. Ellos encontraron un incremento ($P < .01$) de las unidades del pH ruminal a las seis horas postalimentación con la adición de levadura, debido posiblemente al tipo de dieta ofrecida (paja de trigo, trébol y alta en concentrado). Asimismo Adams *et al.* (1981) reportan un ligero aumento del pH, indicando que posiblemente sea causa de la actividad buferante de los componentes de la dieta. Gray and Ryan (1988), alimentando ovinos con heno y ensilado obtuvieron una elevación del pH a razón de 0.1 de unidad, cuando proporcionaron 2.5 g/animal/día de levadura durante 7 días. Sin embargo estos resultados no manifiestan un fundamento estadístico al no mostrar el grado de probabilidad. Williams et al. (1991), reportaron un aumento del pH ruminal en vacas lecheras adultas alimentadas con cultivo de levaduras, argumentando que el incremento se atribuye a la concentración reducida de lactato ruminal. Por otro lado, Nisbet y Martin (1991) mencionan que el Yeast incrementa la utilización del lactato por bacterias ruminales capaces de fermentar lactato. Mediante un estudio *in vitro* observaron un desarrollo eficiente de *Selenomonas*

ruminantium por la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae*, ya que el cultivo de levadura utilizó el lactato como sustrato. El posible mecanismo de acción del cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la concentración del pH cuando es adicionado en la dieta de rumiantes, es que éste puede absorber los protones libres (iones hidrógeno) del medio ruminal. A pesar de que en la mayoría de los experimentos no se han detectado cambios en el pH ruminal al adicionar la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, algunos autores sugieren que este cultivo estabiliza la fermentación ruminal manteniendo un pH estable. Esto explica el desarrollo de los microorganismos ruminales, argumentando que las bacterias celulolíticas son muy sensibles a un descenso del pH ruminal lo cual inhibe su crecimiento (Kmet et al., 1993).

Por otra parte Williams (1991), Erasmus *et al.* (1992), Flachowsky *et al.* (1993), Gedek *et al.* (1993), Plata (1994), Zeleňák (1994) y Crosby (1995) presentan resultados donde el suministro del cultivo de microorganismos no provocó efecto ($P>.05$) sobre el pH ruminal.

4.2 Protozoarios ruminales (microorganismos /10⁴/ml)

4.2.1. Concentración de protozoarios holotricos

La adición del cultivo *Saccharomyces cerevisiae* no produjo ($P>.05$) cambios significativos en la población de holotricos en el contenido ruminal, lo cual concuerda con lo reportado por Crosby (1995). Como puede observarse en el Cuadro 5, la concentración de protozoarios holotricos se incrementa después del tiempo de alimentación, posteriormente se presenta una disminución, y nuevamente se eleva en el período

prealimentación. Estas variaciones en la población se producen por cambios en la dilución del contenido ruminal, provocada por el agua ingerida y la cantidad de saliva producida, así como por la migración de los ciliados (Williams y Coleman, 1991). Por otra parte, el incremento inicial después de la alimentación ha sido atribuido a la migración de los holotricos hacia la pared reticular cuando los carbohidratos están disponibles (Dennis *et al.*, 1983).

4.2.2. Concentración de protozoarios entodimorfos

La inclusión del cultivo de levadura no alteró ($P > .05$) la concentración de entodimorfos en el contenido ruminal (Cuadro 6). Resultados similares son reportados por Crosby (1995). Dennis *et al.* (1983), usando novillos a los que alimentaron con tres tipos de dietas variando la relación forraje : concentrado (70:30, 50:50 y 30:70), obtuvieron un incremento de la población de Entodinos ($P < .05$) por efecto del nivel de inclusión del concentrado, ya que las dietas con alto porcentaje de inclusión de concentrado mostraron un incremento en la población.

Generalmente los entodimorfos disminuyen después del período de alimentación y posteriormente se incrementa. Dichas fluctuaciones en el número total de protozoarios se deben al alimento, agua y saliva. Asimismo, la frecuencia de alimentación influye en la población de protozoarios en relación al tiempo después de alimentación (Dennis *et al.*, 1983). Por otro lado, Slyter *et al.* (1971) mencionan que el número de protozoarios se incrementa cuando son adicionados carbohidratos a dietas que contengan urea como única fuente de nitrógeno. Entre los protozoarios, los Entodinos son los más afectados por

diferencias dietarias, debido a que estos dependen de almidones para obtener energía (Dennis *et al.*, 1983).

4.2.3. Concentración de protozoarios totales (Holotricos y Entodinos)

La adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no mostró efecto significativo ($P > .05$) sobre la población total de protozoarios (Cuadro 7), lo cual no concuerda con lo reportado por Plata *et al.* (1993), quienes obtuvieron una respuesta de incremento de la población de protozoarios para el nivel de 60% de inclusión de paja y una disminución de la población de ciliados con niveles menores de paja (40%), lo cual está asociado con condiciones de acidificación ruminal (Hungate, 1966). Crosby, (1995) encontró cambios en la población total de protozoarios, lo cual fue producto del aumento en la población de Entodinos. Por otra parte, Kumar *et al.* (1995) señalaron un incremento ($< .01$) en la población de protozoarios del fluido ruminal a becerros búfalos a los cuales se les adicionó 5g de Yeast en la dieta.

Al ocurrir un cambio de alimentación en rumiantes, por ejemplo de una dieta alta en forraje a una dieta alta de grano, la población ruminal sufre un cambio dramático. Bajo condiciones de alimentación a libre acceso, con granos de rápida fermentación la concentración de la población de protozoarios comúnmente se reduce a niveles extremos.

4.3 Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

La inclusión del cultivo de levaduras a base de *Saccharomyces cerevisiae* no produjo efecto ($P > .05$) sobre la concentración de nitrógeno amoniacal (Cuadro 8). Resultados similares fueron reportados por Adams *et al.* (1981), quienes alimentando novillos con dietas altas en concentrado no encontraron efecto sobre la concentración de nitrógeno. De igual manera Chademana (1990) menciona que la inclusión del cultivo no produjo efecto significativo ($P < .05$) sobre la concentración de nitrógeno amoniacal y que la relación forraje: concentrado afectó ($P < .05$) de manera significativa la concentración amoniacal. Asimismo Gedek *et al.* (1993), Wiedmeier *et al.* (1987), Zeleňák (1994), Avendaño *et al.* (1995) y Crosby (1995) señalan que el cultivo de levaduras no afectó de manera significativa la concentración amoniacal. Por otra parte, diferentes resultados mencionados por Harrison *et al.* (1988) indican que vacas consumiendo Yea-sacc presentaron una disminución de la concentración de nitrógeno amoniacal ($P = .15$).

La razón para la variabilidad en la respuesta hacia el cultivo es la naturaleza de las dietas utilizadas, particularmente sus diferentes contenidos de carbohidratos fácilmente fermentables. La concentración de amoniaco a nivel ruminal depende del suministro de compuestos nitrogenados degradables en rumen para el desarrollo microbiano y en consecuencia para la síntesis proteica.

Existe controversia acerca de cómo determinar la concentración adecuada de nitrógeno amoniacal y así hacer más eficiente el desarrollo microbiano. Satter and Slyter (1974) y Rogers *et al.* (1986) sugieren que la concentración de amoniaco a nivel ruminal de 90 mg/ l

puede ser la adecuada para el desarrollo microbiano y síntesis de proteína. Sin embargo Mehrez *et al.* (1977), mencionan que una concentración de 235 mg/ l es el requerimiento para un desarrollo máximo de tasa de fermentación.

4.4. Acidos grasos volátiles a nivel ruminal

4.4.1. Concentración de acetato (mmoles)

El suministro del cultivo de levadura (Cuadro 9), no mostró efecto ($P > .05$) sobre la concentración de ácido acético (mmoles) en el líquido ruminal en esta investigación. Dichos resultados son diferentes a los observados por Plata *et al.* (1994) quienes encontraron que la adición del cultivo produjo una disminución ($P < .08$), en la concentración de acetato. Asimismo Dawson *et al.* (1990) reportaron un incremento de la concentración de acetato por acción de la levadura.

Sin embargo también se han publicado resultados diferentes a este respecto. Por ejemplo, Mutsvangwa *et al.* (1992) citan que existió un incremento ($P < .05$) significativo a las 15 h por efecto del suministro de levadura. Asimismo, Sempsey, (1991) muestra resultados de incremento de la concentración de acetato ($P < .1$) cuando se adicionaron 10g Yea-Sacc¹⁰²⁶ a vacas con una dieta en 50% de concentrado y 50% de forraje. De igual manera, Dawson *et al.* (1990), reportaron un incremento ($P < .10$) en la concentración de acetato por acción de la levadura Lacto-Sacc.

4.4.2. Concentración de propionato (mmoles)

La adición del cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P>.05$) la concentración en mmoles de ácido propiónico en el líquido ruminal (Cuadro 10). Crosby, (1995) no observó diferencias ($P>.05$), en la concentración de propionato. Asimismo Carro *et al.* (1992) mencionan que no existió influencia significativa ($P<.05$) al incluir levadura Yea-Sacc.

Resultados diferentes a lo observado en esta investigación son mencionados por Kumar *et al.* (1994) quienes encontraron un incremento ($P<.01$) en la concentración del propionato. De igual manera, Adams *et al.* (1981) obtuvieron un incremento en la concentración de propionato ($P<.01$ y $P<.10$, respectivamente) por la inclusión de levadura en la dieta.

Existen diferencias dietarias entre los experimentos donde se observaron cambios en el propionato y en este estudio.

4.4.3. Concentración de butirato (mmoles)

El cultivo de levadura no afectó ($P<.05$) de manera significativa la concentración de butirato en el contenido ruminal (Cuadro 11). Resultados similares fueron observados por Mutsvangwa *et al.* (1992), Plata *et al.* (1994) y Newbold *et al.* (1995) y Crosby, (1995) quienes no encontraron cambios significativos ($P<.05$) en la concentración de butirato.

4.4.4. Concentración (mmolar) de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato)

El cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no produjo cambios ($P > .05$) en la concentración milimolar de ácidos grasos volátiles (Cuadro 12). Estos resultados son similares a los reportados por Crosby (1995), Chademana *et al.* (1990), Plata *et al.* (1994), Newbold *et al.* (1988) y Gedek *et al.* (1993) quienes mencionan que la concentración de AGV's totales no se vió afectada ($P > .05$) por la inclusión de levadura..

No obstante, existen reresultados de autores como Moloney y Drennan (1994) que mencionan que la inclusión del cultivo de levadura incrementó la concentración total de AGV's ($P < .05$) 4 horas después de ofrecer un segundo alimento, en el estudio que desarrollaron para evaluar la influencia de la dieta basal sobre el efecto del cultivo de levadura en la fermentación ruminal y digestibilidad en novillos.

Zeļeñak *et al.* (1994) señalaron una disminución ($P < .001$) de la concentración de los AGV's con una dieta a base de 50% heno y 50% de cebada; sin embargo, con una dieta 65% heno y 35% cebada observaron un decremento de la concentración de los, AGV's después de la suplementación con Yea-Sacc. Por todo lo anterior, resulta difícil considerar un efecto estable de la levadura. Además, debemos tener presente que las AGV's se producen y se absorben en función de la concentración y pH ruminal.

Resultados diferentes fueron observados por Andrighetto *et al.* (1993) quienes encontraron un incremento ($P < .05$) en la concentración total de AGV's al alimentar ovinos con una dieta a base de remolacha y pasta de soya. Estos autores argumentaron que un consumo alto de levadura puede derivar en un incremento de palatabilidad, lo cual resulta en un

estimulación de la actividad fermentativa en el rumen, particularmente de los microorganismos celulolíticos. Moloney y Drennan, (1994) también observaron incrementos ($P < .001$) de la concentración total de AGV's con dietas bajas en fibra y altas en proteína.

4.4.5. Proporción molar de acetato

El cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ($P > .05$) la proporción molar de ácido acético en el contenido ruminal (Cuadro 13). Resultados similares a los reportados por Crosby (1995), Plata *et al.* (1994) Gedek *et al.* (1993), Moloney y Drennan (1994) y Zeleñak *et al.* (1994).

A este respecto, Wallace (1993) menciona que el contenido normal de AGV's en el líquido ruminal es de alrededor de 100-150 μ moles/ml (60% de acetato, 20% de propionato, 15% de butirato y 5% de ácidos menores como isobutirato, valerato e isovalerato). Estos valores son similares a los resultados hallados para los porcentajes molares de los AGV's en esta investigación (Cuadro 16).

Plata y Mendoza (1993) mencionan que la ausencia de cambios en la producción total de AGV's, por acción de las levaduras se debe al resultado de la absorción de los mismos, o bien a otros factores dietarios o por diferentes niveles de consumo.

4.4.6 Proporción molar de propionato

No se observó respuesta alguna por efecto de la acción de la levadura sobre el porcentaje molar del propionato (Cuadro 14). Esto se asemeja a lo reportado por diversos autores

como Moloney and Drennan (1994) quienes probaron la influencia de diferentes dietas (altas en fibra y bajas en proteína; bajas en fibra y altas en proteína más un cultivo de levadura) sin encontrar diferencia ($P < .05$) alguna por efecto del Yea-Sacc. Dichos resultados son similares a los encontrados por Chademana y Offer (1990), Andrighetto *et al.* (1994) y Crosby (1995).

Sin embargo, Plata *et al.* (1994) obtuvieron un incremento ($P < .06$) en la proporción molar de propionato por la inclusión de Yea-Sacc con dietas con paja de avena. De igual forma, Mutsvangwa *et al.* reportaron un incremento en el porcentaje molar del propionato se elevó ($P < .05$) como consecuencia de la adición de la levadura después de 12 h de incubación. Por otra parte Quigley *et al.* (1992) encontraron una reducción ($P < .001$) en la proporción molar de propionato cuando se adicionó el cultivo de levadura.

Wallace (1993) menciona que la concentración de propionato bajo condiciones de alimentación con dietas altas en forraje es de 10-15%, mientras que con dietas altas en granos es de 20 -25%, lo cual difiere de los resultados de esta investigación (Cuadro 14).

4.4.7. Proporción molar de butirato

No se encontró efecto de la levadura sobre la proporción molar de butirato, lo cual concuerda con los hallazgos mencionados por Adams *et al.* (1981), Andrighetto *et al.* (1993), Moloney y Drennan (1994), Plata *et al.* (1994) y Crosby (1995). La concentración de butirato encontrada en este estudio (Cuadro 15) es semejante a lo reportado por Wallace (1993).

Los resultados encontrados en esta investigación son similares a los observados por diferentes autores como Andrighetto *et al.* (1993), Adams *et al.* (1981); Crosby (1995), Moloney y Drennan (1994) y Plata *et al.* (1994) quienes no hallaron ningún efecto de la levadura sobre la proporción molar de los AGV's (Cuadro 16).

4.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida Co-EDTA

4.5.1. Tasa de pasaje (%/h)

La tasa de pasaje de la fracción líquida no se afectó por la inclusión de la levadura (Cuadro 19). Estos resultados coinciden con lo reportado por Weidmeier *et al.* (1987) no observaron diferencias en la tasa de pasaje de la fracción líquida al utilizar un cultivo de levadura a base de *Aspergillus oryzae*. Newbold *et al.* (1995) no encontraron diferencias en la tasa de pasaje de la fracción líquida, sin embargo se observó una tendencia de incremento en el grupo que recibió levadura. Asimismo, Chademana *et al.* (1990) quienes alimentaron ovinos con dietas con niveles alto, medio y bajo concentrado no hallaron respuesta ($P < .05$) a la adición de levadura para la tasa de pasaje de la fracción líquida ($P < .05$). De igual manera, Moloney y Drennan, (1994) al utilizar diferentes dietas para alimentar novillos, no encontraron diferencias por efecto de la adición del cultivo sobre la tasa de pasaje fracción líquida. Erasmus *et al.* (1992) no hallaron influencia por acción de la levadura.

Los resultados anteriormente señalados indican que la ausencia de respuesta en la tasa de pasaje fracción líquida por acción de la levadura se puede deber al tipo de dieta empleada, al nivel de consumo al tipo de patrón de fermentación.

4.5.2. Volumen ruminal

El volumen ruminal no presentó ($P>.05$) cambios significativos por acción de la levadura. Estos resultados coinciden con los reportes elaborados por Adams *et al.* (1981) Crosby (1995) y Moloney y Drennan (1994) quienes observaron que el volumen ruminal no se afectó por la naturaleza de la dieta, ni por la inclusión del cultivo de levadura.

Malcolm y Kiesling (1990) observaron que el volumen ruminal disminuyó ($P>.10$) en novillos alimentados con semilla de algodón ; sin embargo, no se alteró por la adición del Yea-Sacc.

Con relación a los valores del volumen ruminal en esta investigación, se puede suponer que debido a factores como flujo de saliva y agua Czerkawsky (1986); se observan valores por debajo de lo reportado por Coleman (1986) y Czerkawsky (1986).

4.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta

4.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes

El cultivo de levaduras no afectó las digestibilidades totales y ruminales (Cuadro 20), lo cual concuerda con lo observado por Andrighetto *et al.*, (1993), Moloney y Drennan (1994), Mir y Mir (1994), Crosby, (1995) y Avendaño (1995).

Resultados diferentes fueron observados por Zelenak *et al* (1994), quienes mencionan que la digestibilidad de la materia seca y de fibra detergente neutro (FDN) disminuyó ($P < .05$) por acción del Yea-Sacc utilizando una técnica de simulación ruminal (Rusitec). Resultados encontrados son reportados por Plata *et al.* (1993) mencionando un incremento en la digestibilidad de la FDN en dietas basadas en paja de avena.

4.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno

El flujo de los nutrientes evaluados en esta investigación, no fue afectado por las levaduras (Cuadro 21). Resultados similares fueron encontrados por Crosby (1995), quien no encontró respuesta a la adición de la levadura al flujo duodenal de MS y de nitrógeno total.

4.7. Perfil y Flujo de aminoácidos a duodeno

La levadura a base de *S. cerevisiae* alteró el perfil de algunos aminoácidos. En estos aminoácidos (histidina, treonina, arginina, fenilalanina) los resultados concuerdan con los reportes de Erasmus *et al.* (1992). Con respecto al flujo de aminoácidos no existió efecto (Cuadro 18), lo cual es diferente a lo mencionado por Erasmus *et al.* (1992).

4.8. Consumo de materia seca

No se observó efecto por la adición de la levadura (Cuadro 19). Resultados similares fueron observados por Moloney y Drennan (1993), Plata *et al.* (1994) y Avendaño *et al.* (1995), quienes encontraron que el consumo de materia seca no se modificó ($P > .05$) por la inclusión del *Saccharomyces cerevisiae*.

Resultados diferentes fueron reportados por Andrighetto *et al.* (1993) quienes observaron un incremento del consumo de materia seca ($P < .06$) en el grupo que recibió el suplemento de levadura en la dieta.

En esta investigación la ausencia de diferencias en el consumo principalmente fue debida a que se proporcionó alimentación restringida al 90% del consumo voluntario.

V CONCLUSIONES

El pH ruminal disminuyó en el grupo que recibió la levadura en forma de Yea-Sacc¹⁰²⁶ con respecto al grupo testigo.

La concentración de nitrógeno amoniacal no se modificó por acción de la levadura.

La población de protozoarios, tanto de holotricos como de entodinos no se vió alterada por efecto de la adición de levadura

La proporción molar de los ácidos grasos volátiles no se alteró por acción del *Sacchaomyces cerevisiae* por lo que se supone que el patrón de fermentación no fue alterado, considerando que la concentración y proporción de los ácidos grasos volátiles refleja el balance entre la producción, absorción y flujo de paso através del rumen.

La digestibilidad aparente de algunos nutrientes de la dieta utilizada en este estudio (materia seca, materia orgánica, fracciones de fibra detergente ácida y neutra) así como los diferentes flujos analizados (MS, FDN, FDA, PB, y PV; perfil y flujo de aminoácidos) no se alteraron por los cultivos de levaduras empleados

VI RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se recomienda la realización de trabajos de investigación posteriores con la inclusión de diferentes relaciones de forraje: concentrado en la dieta de rumiantes, así como considerar una mayor concentración de unidades formadoras de colonias (UFC/g) para evaluar el impacto a nivel de la microbiota ruminal y sobre el metabolismo del rumen. Además, se recomienda estudiar la viabilidad de las cepas del *Saccharomyces cerevisiae*, tanto en vida de anaquel, como a nivel de ambiente ruminal, para manifestar el efecto de alterar la digestibilidad de algunos nutrientes contenidos en la dieta de los rumiantes alimentados a base de forrajes de baja calidad nutricional.

Con relación a la evaluación de la digestibilidad ruminal mediante la utilización de marcadores externos como el óxido de cromo (Cr_2O_3), flujo de nutrientes hacia duodeno, tasa de pasaje y volumen ruminal a través de Co-EDTA se recomienda que se considere una mayor frecuencia de alimentación para lograr flujos duodenales con mayor continuidad y evitar la variación en este flujo.

Por consiguiente el empleo de levaduras a base de *Saccharomyces cerevisiae* en dietas de rumiantes con un alto contenido de forrajes no manifestó tener ningún efecto, para alterar la población de protozoarios así como tampoco modificó el metabolismo ruminal de los animales.

VII LITERATURA CONSULTADA

- Abe, M.; Iriki, T.; Tobe, N. And Shibui, H. 1981. Secuestration of holotrich protozoa in the reticulo-rumen of cattle. Appl. Environ. Microbol. 41: 758-765.
- Adams, D.C.; Galyean M.L.; Kiesling H.E., Wallace J.D. and Finker M.D. 1981. Influence of viable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feedlot performance of growing steers and digestibility in lambs. J. Anim. Sci. 53 (3): 780-789.
- Aguilera B. A. 1988. Evaluación del efecto de la suplementacion de rastrojo amoniato sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos pelibuey. Tesis de Maestría. FES-C, U.N.A.M., México, D.F.
- Andrighetto, I.; Bailoni, L.; Cozzi G. and Berzaghi, P. 1993. Effects of yeast culture addition on digestion in sheep fed a high concentrate diet. Small Ruminant Research. 12:27-34.
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 14th. Washington, D.C.
- Arambel, M.J. and Rung-Syin, T. 1987. Evaluation of Saccharomyces cerevisiae growth in the rumen ecosystem. Memories. 19th Biennial conference on rumen function. 17-19.
- Avendaño, B.H; González, M.S.S; Garcia-Bojalil C.; Mendoza M.G.D. y Bárcena , G.R. 1995. Efecto del nivel de rastrojo de maíz y de un cultivo de levadura (Saccharomyces cerevisiae; Yea-Sacc¹⁰²⁶) en el valor nutritivo de dietas para borregos en crecimiento. Memorias VII congreso nacional AMENA, VERACRUZ.
- Ayala, O.J. 1992. Efecto de la adición de Saccharomyces cerevisiae y de la mezcla de melaza-urea en el valor nutricional de la paja de cartamo (Carthamus tinctoricus) en ovinos. Tesis de Maestría. Centro de ganadería Colegio de Postgraduados, México.
- Bauchop, T. 1979. Rumen anaerobic fungi of cattle and sheep. Appl. Environ. Microbiol. 38:148-158.
- Bauchop, T. 1980. Scanning electron microscopy in the study of microbial digestion of plant fragments in the gut. In: D.C. Elwood, J.N. Hedger, M. J. Latham, J.M: Lynch, and J.H. Slater (Ed) Contemporary microbial Ecology. Academic press, New York. pp 101.
- Bauchop, T. 1981. The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. Agric. Environ. 6:339.
- Benjamin, M. N. 1984. Manual de patología clínica Veterinaria. Editorial Limusa S. A. de C.V. México.
- Bergen, W.G. 1979. Factors affecting growth yields of microorganisms in the rumen. Trop. Anim. Prod. 4:13-20.

- Beveridge, R.I. and Richards, G.N. 1975. Investigation of the digestion of cell wall polysaccharides of spear grass and cotton cellulose by viscometry and X-ray diffraction techniques. Carbohydr. Res. 43: 163-172.
- Bird, S.H. and Leng, R.A. 1978. Effect The effects of defaunation of the rumen on the growth of cattle on low-protein high-energy diets. British J. Nutr. 42: 163-167.
- Bonhome, A. 1990. Rumen ciliates their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. Anim. Feed Sci. Tech. 30:203-266.
- Carro, M.D.; Lebzien, P. and Rohr, K. 1992. Influence of yeast culture on the vitro fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates. Anim. Feed Sci. Tecnol. 37: 209-220.
- Cartwright, Ch. P.; Juroszek, J.R.; Beavan, M.J.; Ruby, F.M.S.; Demorais, S.M.F. and Rose, A.H. 1986. Ethanol dissipates the proton- motive force a the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Gen. Microbol. 132: 369-377.
- Castañeda, F.E y Monroy, A.V. 1984. Métodos de procesamiento de subproductos agrícolas para elevar su valor nutricional. Memorias del Seminario Utilización de subproductos industriales en la alimentación de rumiantes. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Chademana, I. and Offer, N.W. 1990. The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. Anim. Prod. 50:483-489.
- Chalupa, W. 1977. Manipulating rumen fermentation. J. Anim. Sci. 45:585.
- Cheng, K.-J.; C.W. Forsberg, H.; Minato, and J.W. Costerton. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. In: T. Tsuda, Y. Sasaki, and R. Kawashima (Ed) Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. Academic Press, Toronto. p. 595.
- Cheng, K. J.; C.S. Stewart, D.; Dinsdale and J.W. Costerton. 1984. Electron microscopy of the bacteria involved in the digestion of plant cell walls. Anim. Feed Sci. Technol. 10:93.
- Chu. M.I.; Hartig, A.; Freese, E., and Freese, E. 1981. Adaptation of glucose grow *Saccharomyces cerevisiae* to gluconeogenic growth and sporulation. J. Gen. Microbiol. 125: 421-430.
- Church. C.D. 1988. The ruminant Animal. Eds. Prentice Hall Nj. USA. pp.280-304.
- Clarke, R.T.J. 1964. Ciliates of the rumen of domestic cattle (*Bos taurus L.*) N. Z. J. Agric. Res. 7: 248-257.
- Clarke, R.T.J. 1965. Diurnal variations in the number of ciliate protozoa in cattle, N.Z. J. Agric. Res. 8: 1-9.

- Coleman, G. S. 1969. The metabolism of starch, maltose, glucose and some other sugars by the rumen ciliate *Entodinium caudatum*. J. Gen. Microb. 57: 303-332.
- Coleman, G. S. 1975. The inter-relationships between rumen ciliate protozoa and bacteria. Digestion and metabolism in the Ruminant. University of New England. Armidale, Eds. Mc Donald I.W. and Warner, A.C. Australia. pp. 149-165.
- Coleman, G. S. 1985. Possible causes of the death rate of ciliate protozoa in the rumen. J. Agric. Sci. 105: 39-43.
- Coleman, G. S. 1986a. The metabolism of rumen ciliate protozoa. Microbiology reviews. 39: 321-344.
- Coleman, G. S. 1986b. The amylase activity of 14 species of Entodiniomorphid protozoa and the distribution of amylase in rumen digesta fractions of sheep containing no protozoa or one of seven different protozoal populations. J. Agric. Sci. Camb. 107:709.
- Coleman, G. S. 1988. Protozoal -bacterial interaction in the rumen The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Eds. Proceedings of an international seminar held at the University of New England, Armidale, Australia. pp.13-27.
- Coleman, G. S. and Hall, F.J. 1969. Electron microscopy of the rumen ciliate *Entodinium e caudatum caudatum* and *Polyplastrum multivesiculatum in vitro*. J. Gen. Microb. 75: 509-521.
- Coleman, G. S. and Laurie, J.I. 1974. The utilization of *Bacillus megaterium* and release of a litic enzyme by three *Epidinium spp.* isolated from the rumen. J. Gen. Microb. 85: 257-264.
- Coleman, G. S. and Sandford; D.C. 1979a. The engulfment and digestion of mixed rumen bacteria and individual bacterial species by single and mixed species of rumen ciliate protozoa grown *in vivo*. J. Agric. Sci. 92: 729-742.
- Coleman, G. S. and Sandford; D.C. 1979b. The uptake and metabolism of bacteria amino acids and nucleic acid components by the rumen ciliate. *Eudiplodinium magii*. J. Appl. Bact. 47: 409-419.
- Cottle, D.J.; Nolan, J.V. and Leng, R.A. 1978. Turnover of protozoa and bacteria in the rumen of sheep. Proc. Austr. Soc. Anim. Prod. 12: 138.
- Cottle, D.J. 1980. The synthesis, turnover and outflow of animal microorganisms. Ph Thesis. University of New England, Armidale, Australia.
- Crosby, Ma. M. G. 1995. Efecto de la dosis de un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y en la digestibilidad ruminal de la fibra en borregos. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados, Programa de Ganadería Montecillo, Edo de México.
- Czerkawski, J.W. 1986. An introduction to rumen studies. Eds. Pergamon Press England, U.K. pp 31-49.

- Cruickshank R.; Duguid, J.P.; Marmion, B.P.; Swain, R.H.A. 1975 Medical microbiology. Vol. 2. The practice of medical microbiology twelfth edition. Ed Churchill Livingstone. Edinburgh, London and New York. pp 306-307.
- Dawson, K.A. 1987. Mode of action of the yeast culture, Yea-sacc, in the rumen: a natural fermentation modifier In: T.P: Lyons (Ed). Biotechnology in the Feed Industry. Alltech technical Publications, Nicholasville, K.Y. pp. 119-126.
- Dawson, K.A. 1989. Modification of rumen function and animal production using live microbial cultures as feed supplements. Proceedings California Animal Nutrition Conference, centre Plaza, Holiday inn, Fresno. California. pp 25-43.
- Dawson, K.A. 1993. Current and future role of yeast culture in animal production: A Review of Research over the last Seven Years. In: E. Lyons Ed. Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's Ninth Annual Symposium. Nicholasville, KY. USA. pp 269-291
- Dawson, K.A.; Newman, K.E. and Boling J.A. 1990. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. J. Anim. Sci. 68:3392-3398.
- Dawson, K.A. and Newman, K.E. 1987. Fermentation in rumen stimulating continuous cultures receiving probiotic supplements. J. Anim. Sci. 66(suppl.1): 500.
- Dehority, B.A. 1970. Occurrence of the ciliate protozoa *Butschlia parva* Schuberg in the rumen of the ovine. Appl. Microb. 19: 179-181.
- Dehority, B.A. 1974. Rumen ciliate fauna of Alaskan Moose (*Alces americana*), Musk-Ox (*Ovibos moschatus*) and Dall Mountain sheep (*Ovis dalli*). J. Protozoology. 21: 26-32.
- Dehority, B.A. 1986. Rumen ciliate fauna of some Brazilian cattle: occurrence of several ciliates new to the rumen including the cycloposthid, *parentodinium africanum*. J. Protozoology. 33: 416-421.
- Dehority, B.A. and Males, J.R. 1974. Rumen fluid osmolality:evaluation of its influence upon the occurrence and numbers of holotrich protozoa in sheep. J. Anim. Sci. 38: 865-870.
- Dehority, B.A. and Purser, D.B. 1970. Factors affecting the establishment and numbers of holotrich protozoa in the ovine rumen. J. Anim. Sci. 30: 445-449.
- Dehority, B.A. and Tirabasso, P. A. 1989. Factors affecting the migration and sequestration of rumen in the family *Isotrichidae*. J. Gen. Microb. 135: 539-548..
- Dennis, S.M.; Arambel, M.J.; Bartley, E.E. and Dayton, A.E. 1983. Effect of energy concentration and source of nitrogen on numbers and types of rumen protozoa J. Dairy Sci. 66: 1248-1254.
- Demeyer, D.I. and Van Nevel, C.J. 1979. Effect of defaunation on the metabolism of rumen microorganisms. British J. Nutr. 42: 515-524.

- Dildey, D. 1988. Getting paid for milk quality: Improving milk composition. Alltech's fourth symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, KY, USA. pp. 45-65.
- Dirksen, G. 1970. Acidosis: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Ed. Phillipson. Oriel Press. pp. 613-629.
- Drennan, M. J.; Moloney, A. P. 1993. Effect of yeast culture on growth of beef cattle fed on grass silage plus barley-based concentrates. Irish Journal of Agricultural and Food Research. 32(2): 125-132.
- Eadie, J.M.; Hyldegaard-Jensen, J.; Mann, S.O.; Reid, R.D. and Whitelaw, F.G. 1970. Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen in cattle given different quantities of a pelleted barley ration. British J. Nutr. 24: 157-177.
- Eadie, J.M. and Hobson, P.N. 1962. Effect of the presence or absence of rumen ciliate protozoa on the rumen bacterial count in lambs. Nature London 193: 503-505.
- Ellis, W.C.; Matis, J.H. and Overline Ascano, C. 1979. Quantitating ruminal turnover. Fed. Proc. 38: 2702-2706.
- Erasmus, L.J. 1991. Effect of Yea-Sacc¹⁰²⁶ yeast culture on microbial protein synthesis in the rumen nitrogen flow to the duodenum of dairy cattle. In: E. Lyons Ed. Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's Seven Annual Symposium. Nicholasville KY, USA. pp. 301-304.
- Erasmus, L.J. y Bota, P.M. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal flow in dairy cows. J. Dairy Sci. 75: 3056-3065.
- Erwin, E. S.; Marco, G.J. and Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44: 1768-1776.
- Fallon, R.J. and Harte, F. 1987. The effect of yeast culture inclusion in the concentrate diet on calf performance. J. Dairy Sci. 70: 2051-2062.
- Flachowsky, G; Tiroke, K and Matthey, M. 1993. Influence of yeast (Saccharomyces cerevisiae as Yea-Sacc or Levaferm) on in sacco dry matter degradability and ruminal parameters of variously fed small ruminants. Archives of Animal Nutrition. 42(2): 159-169.
- Fondevila, M.; Newbold, C.J.; Hotten, P.M. and Ørskov, E.R. 1990. A note on the effect of Aspergillus oryzae fermentation extract on the rumen fermentation of sheep given straw. Anim. Prod. 51: 422-425.
- Fuller, R. 1986. Probiotics. J. App. Bact. Symposium Suppl. 1s-7s.
- Frumholtz, P.P.; Newbold, C.J.; and Wallace, R.J. 1989. Influence of Aspergillus oryzae fermentation extract on the fermentation of basal ration in the rumen stimulation technique (Rusitec). J. Agric. Sci. Cambr. 113: 169-172.
- Gedek, B.; Enders, C.; Ahrens, F. and Roques, C. 1993. The effect of Saccharomyces cerevisiae (BIOSAF Sc 47) on ruminal flora and rumen fermentation pattern in dairy cows. Ann Zootech. 42: 175.

- Gray, W.R., and Ryan J.P. 1988. A study of the yeast culture on ruminal fermentation in sheep. Alltech's fourth annual symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, KY, USA. pp. 129-150.
- Guerzoni, E. and Succi, G., 1972. Identification of a peptide, stimulant for acetic bacteria, produced by a strain of Saccharomyces cerevisiae. Ann. Microbiol. 22:167-173.
- Han, S.S. 1984. Rumen ciliate protozoal fauna of the native cattle in Korea. J. Jpn. Zootechnol. Sci. 55: 279-286.
- Harrison, D.G.; Beever; D:E: and Osbourn, D. F. 1979. The contribution of protozoa to the protein entering the duodenum of sheep. British J. Nutr. 41: 521-527.
- Harrison, G.A.; Hemken, R.W.; Dawson, K.A.; Harmon, R.J. Newman. K.E. and Morehead, M.C. 1987. Yeast culture supplements in diets of lactating cows. J. Dairy Sci. 70 (suppl. 1): 218.
- Harrison, G.A.; Hemken, R.W.; Dawson, K.A.; Harmon, R.J. and Barker, K.B. 1988. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. J. Dairy Sci. 71:2967-2975.
- Harrison and Mc Allan. 1980. Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen. Ruckebusch, Y& Thivend, P. Digestive physiology and metabolism in ruminants. Eds Press. Ltd. U.K. pp. 205-226.
- Hien, N.H. and Fleet, G.H. 1983a. Variation of (1-3) beta glucanases in Saccharomyces cerevisiae during vegetative growth, conjugation and sporulation. J. of Bacteriol. 156 (3): 1214-1220.
- Hien, N.H. and Fleet, G.H. 1983b. Separation and characterization of six (1-3) beta glucanases from Saccharomyces cerevisiae. J. of Bacteriol. 156. 3: 1204-1213.
- Hino, T.; Kametaka, and M. Kandatsu, M. 1973. The cultivation of rumen oligotrich protozoa. I. Factors influencing the life of Entodinia. J. Gen. Microbiol. 19:305.
- Hobson, P. N. 1972. Physiological characteristics of rumen microbes in relation to diet and fermentation patterns. Proc. Nutr. Soc. 31:135.
- Hough J. and Maddox, I., 1970. Yeast autolysis. Process Biochem. 5(5):50-52.
- Huber, J. T. 1987. Fungal additives for lactating cows. Department of Animal Sci. University of Arizona, USA.
- Hungate, R. E. 1966. The Rumen and its Microbes. Ed. Academic Press, N. Y.
- Imai, S. C.H.; Chang, C.H.; Wang, J.S.; Ogimoto, K and Fujita , J. 1981. Rumen ciliate protozoal fauna of the water buffalo (Bubalus bubalis) in Taiwan. Bulletin of the Nippon Vet. Zootech. Coll. 29: 77-81.
- Imai, S. C.H.; Shimizu, M. Toguchi.; Ishii, T. and Fujita , J. 1982. Rumen ciliate protozoal fauna of water buffalo Bubalus bubalis (Linnaeus) in Okinawa. Japan Nippon Vet. Zootechnol. Coll. 31: 70-74.

- Jackson, M. G. 1977. Review article. The alkali treatment of straws. Anim. Feed Sci. Tech. 2: 105-130.
- Jones, C. and Thomas, C. 1987. Maintenance of strain specificity and bile tolerance when producing. In: T. P. Lyons Ed. Biotechnology in the Feed Industry. Alltech's Biotechnology center. Nicholasville, KY. USA.
- Jouany, J. P. 1988. Effects of diet on populations of rumen protozoa in relation to fibre digestion. In: Nolan, J. V., Leng, R. A. and Demeyer, D. I. Armidale Eds. the Roles of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion.: Penambul Books pp. 59-74.
- Jouany, J.P. 1994. Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. Ann Zootech. 43:49-62.
- Klopfenstein, J.T.; Roth, L.; Fernandez, R.S. and Lewis, M. 1991. Rastrojo de maíz en los sistemas de producción de carne. Memoria del Curso Internacional Manejo nutricional de bovinos en corrales de engorda. Centro de Ganadería. Colegio de Postgraduados, Montecillo México.
- Kmet, V.; Flint, H.J. and Wallace, R.J. 1993. Probiotics and manipulation of rumen development and function. Arch. Anim. Nutr. 44: 1-10.
- Kumar, V.K.U.; Sareen, V.K. and Singh, S. 1994. Efect of Saccharomyces cerevisiae yeast culture supplements on ruminal metabolism in buffalo calves given a high concentrate diet. Brit Soc Anim Sci. 59:209-215.
- Kurihara, Y.; Eadie, J.M.; Hobson, P.N. and Mann, S.O. 1968. Relationship between bacteria and ciliate protozoa in the sheep rumen. J. Gen. Microbiol. 51: 267-288.
- Kurihara, Y.; Takechi, T. and Shibata, F. 1978. Relationship between bacteria and ciliate protozoa in the rumen of sheep feed on a purified diet. J. Agric. Sci. 90: 373-381.
- Ladrón de Guevera, O; Padilla, P. ; García, L. ; Pino J.M. y Ramos-Elorduy, J. . 1995. Amino acid determination in some edible Mexican insects. Amino Acids, 9:161-173.
- Leng, R.A.; Gill, M.; Keempton, T.J.; Rowe, J.B.; Nolan, J.V.; Staciw S.J. and Preston, T.R. 1981 Kinetics of large ciliate protozoa in the rumen of cattle given sugar cane diets. British J. Nutr. 46: 371-384.
- Leng, R.A. 1982. Dynamics of protozoa in the rumen of sheep. British J. Nutr. 48: 399-415.
- Leng, R.A. and Nolan, J.W. 1984 Nitrogen metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 67: 1072-1089.
- Leng, R.A. 1988. Dynamics of protozoa in the rumen. Eds. Proceedings of an international seminar held at the University of New England, Armidale, Australia. pp.51-58.
- Malcolm, K.J. and Kiesling, H.E. 1990. Effects of whole cottonseed and live yeast culture on ruminal fermentation and fluid passage rate in steers. J. Anim. Sci. 68: 1965-1970.
- Martin, C.; Williams, A.G. and Michalet-Doreau, B. 1994. Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. J. Anim. Sci. 72: 2962-2968.

- Mathison, G.W. and Milligan, L.P. 1971. Nitrogen metabolism in sheep. Br. J. Nutr. 25:351.
- McAllister, T.A.; Rode, L.M.; Major, D.J.; Cheng, K.J. and Buchanan S. J.G. 1990. The effects of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. Can. J. Anim. Sci. 70:571.
- McAllister, T.A.; Bae, H.D.; Jones, G.A. and Cheng, K.J. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. J. Anim. Sci. 72:3004-3018.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. Clin. Chem. Acta. 17:297.
- Mehrez, A.Z.; Orskov, E.R. and McDonal. Y. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. Br. J. Nutr. 38:437-443.
- Mendoza, M. G. D. 1991. Site and extent of starch digestion in ruminantes feed high grain diets. I. Role of ruminal protozoa. II. Mixtures of high moisture corn and dry rolled sorghum III. Duodenal infusion of Casein. Doctoral Dissertation, University of Nebraska, Lincoln.
- Mendoza, M. G. D. y R. Ricalde Velasco, 1993. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano. Universidad Autónoma Metropolitana. Capítulo nueve. Uso de aditivos alimenticios. pp. 55-59.
- Michalowsky, T. 1975. Effect of different diets on the diurnal concentrations of ciliate protozoa in the rumen of water buffalo. J. Agri. Sci. 85: 145-150.
- Michalowsky, T. 1977. Diurnal changes in the concentration of rumen ciliates and in the occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalus*) fed once daily. Appl. Environ. Microbiol. 33: 802-804.
- Michalowsky, T and Muszynski, P. 1978. Diurnal variations in number of ciliate protozoa in the rumen of sheep fed once and twice daily. J. Agri. Sci. 90: 1-5.
- Minson, J.D. 1982. Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. Nutr. Abstr. Rev. series B. 52: 591-615.
- Mir, Z. and Mir, P.S. 1994. Effect of the addition of live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and Carcass Quality of Steers Fed High-Forage or High-Grain Diets and on Feed Digestibility and In Situ Degradability. J. Anim. Sci. 72:537-545.
- Moloney, A.P. and Drennan, M. J. 1994. The influence of the basal diet on the effects of yeast culture on ruminal fermentation and digestibility in steers. Anim Feed Sci. and Technol. 50:55-73.
- Mould, D. L. and Thomas, G.J. 1958. The enzymic degradation of starch by Holotrich protozoa from sheep rumen. Biochem. J. 69:327.

- Morris, G.J.; Winters, L.; Coulson, E.; and Clarke, J.K. 1983. Effect of osmotic stress on the ultrastructure and viability of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. J. Gen. Microb. 129: 2023-2034.
- Murphy, M.R.; Drone, P.E. and Woodford, S.T. 1985. Factors stimulating migration of holotrich protozoa into the rumen Appl. Environ. Microb. 42: 1329-1331.
- Mutsvangwa, T.; Edwards, I. E.; Topps, J.H. and Paterson, G.F.M. 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. Anim. Prod. 55:35-40.
- Newbold, C.J. 1990. Probiotics as feed additives in ruminants diets. Memories. 51 st. Minnesota Nutrition Conference September 18-19. Bloom Minn: USA pp. 102-118.
- Newbold, C.J.; Williams, P.E.V.; McKain, N.; Walker, A. and Wallace, R.J. 1990. The effects of yeast culture on yeast numbers and fermentation in the rumen of sheep. Proc. Nutr. Soc. 49:47A (abstr).
- Nisbet, D.J., Martin, S.A. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. J. Anim. Sci. 69: 4628-4633.
- Nolan, J.V. and Leng, R.A. 1972. Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. British J. Nutr. 27: 177-194.
- Nolan, J.V. and Stachiw, S. 1979. Fermentation and nitrogen dynamics inn Merino sheep given a low-quality-roughage diet. British J. Nutr. 42: 63-80.
- Nolan, J.V.; Leng, R.A., and Demeyer, D.I. 1988. The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Eds. Proceedings of an international seminar held at the University of New England, Armidale, Australia.
- Ogimoto, K.; Imai, S.; and Fujita, T. 1983. Bacterial flora, protozoal fauna and volatile fatty acids in the rumen of watter buffalo (*Bubalus bubalis*) in tropical Asia. S. Afr. J. Anim. Sci. 13: 59-61.
- Orpin, C. G. 1983/84. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. Anim. Feed Sci. and Technol. 10:121-143.
- Orpin, C. G. and Letcher, A.J. 1978. Some factors controlling the attachment of the rumen Holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *I. prostoma* to plant particles in vitro. J. Gen. Microbol. 106:33-40.
- Orpin, C. G. and Letcher, A.J. 1983/1984. Effect of absence of ciliate protozoa on rumen fluid volume, flow rate and bacterial populations in sheep. Anim. Feed Sci. and Technol. 10: 145-153.
- ØrsKov, E. R. 1977. Capacity for digestion and effects of composition of absorbed nutrients on animal metabolism. J. Anim. Sci. 46:600.
- ØrsKov, E. R. 1988. Nutrición proteica de los rumiantes. Ed. Acribia S.A. España pp 45-93.

- Pérez-Gavilán, E. J.P.; Viniegra, G.G. y Roso Camacho. 1976. Evaluación bromatológica de suplementos proteicos para ganado bovino. I. Evaluación de la solubilidad de los compuestos nitrogenados. Veterinaria, México. 7:8.
- Pilgrim, A.F.; Gray, F.V.; Weller, R.A., and Belling, C.B. 1970. Synthesis of microbial protein from ammonia in the sheep's rumen and proportion of dietary nitrogen into microbial nitrogen. British J. Nutr. 24: 589-598.
- Plata, P.F. 1992. Efecto de un probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación ruminal, digestibilidad in situ y el consumo en bovinos alimentados con tres niveles de paja de avena. Tesis Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo de México.
- Plata, P.F. y Mendoza, M.G. 1993. Efectos principales de los probióticos en los rumiantes. Memorias del Curso internacional de nutrición de rumiantes. Centro de Ganadería. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Plata, P.F. Mendoza M.G., Barcena-Gama; y González M.S. 1994. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steer fed oat straw based diets. Anim. Feed Sci. and Technol. 49:203-210.
- Punia, B. S.; Leibholz, J.; Faichney, G.J. 1992. Rate of production of protozoa in the rumen and the flow of protozoal nitrogen to the duodenum in sheep and cattle given a pelleted diet of lucerne hay and barley. J. Agric. Sci. 118: 229.
- Purser, D.B. 1961. A diurnal cycle for holotrich protozoa of the rumen. Nature London 190: 831-832.
- Quigley, III J.D.; Wallis, L.B.; Dowlen, H.H. and Heitmann, R.N. 1992. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. J. Dairy Sci. 75: 3531-3538.
- Riquelme, V.E. 1984. Suplementación y efectos asociativos en dietas basadas en subproductos agrícolas. Memorias del Seminario Utilización de subproductos industriales en la alimentación de rumiantes. Centro de Ganadería. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Rodríguez, G.F. y Llamas L.G. 1990. Digestibilidad, balance de nutrimentos, y patrones de fermentación ruminal. In: R.A. Castellanos, L.G. Llamas y S.A.Shima, Eds. Manual de técnicas de investigación en rumiología. Sistemas de Educación Continua en Producción Animal en México, A.C. México, D.F. pp. 95-126.
- Rogers, J.A.; Conrad, H.R.; Dehority, B.A. and Grubb, J.A. 1986. Microbial numbers, rumen fermentation and nitrogen utilization of steers using wet and dried brewers grains. J. Dairy Sci. 59:745-753.
- Rose, A. H. 1987a. Yeast culture a microorganism for all species a theoretical look at its mode of action. Proceedings, Alltech's third annual symposium, Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, Kentucky, U.S.A.
- Rose, A. H. 1987b. Responses to the chemical environment. In: A. H. Rose and J. S. Harrison Ed. The Yeast. Vol. 2. Academic Press. London and New York. pp 5-40.

- Salmon, M.J.; Piñon, P. and Gancedo, C. 1989. Isolation and characterization of mutants of *Scacharomyces cerevisiae* able sporulate in the presence of glucose. J. Gen. Microb. 135: 203-209.
- Satter, L.D. and Slyter, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. British J. Nutr. 32: 199-208.
- Satter, L.D. and Roffler, R.E. 1977. Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation. In: H. Williams y L:Dyfed Eds. Recent advances in animal nutrition. Butterworths. London-Boston.p 25-49.
- Sempte, F. 1991 Effect of Yea-sacc¹⁰²⁶ on degradability of feedstuffs for ruminants. In: T. P. Lyons Eds. Biotechnology in the Feed Industry. Seventh annual Symposium. Alltech's Technical Publications. Nicholasville. K. Y. U.S.A.pp. 313-319.
- Sempte, F. and A. Devisscher. 1991. A french approach to optimizing rumen utilization of forage. In: T. P. Lyons Eds. Biotechnology in the Feed Industry. Alltech's Technical Publications. Nicholasville. K. Y. U.S.A.
- Shimada, Y.A. 1991. Metabolismo de los carbohidratos. In: Pérez D.M. Ed. Manual sobre ganado productor de leche. Ed DIANA México. pp 44-63.
- Slyter, L.L., Kern, D.L., Weaver, J.M., Oltjen, R.R. and Wilson, R.L. 1971. Influence of starch and nitrogen sources on ruminal microorganisms of steers fed high fibre purified diets. J. Nutr. 101: 847-853.
- Stock, R.A.; D.R. Brink, R.A.; Britton, F.K.; Goedeken, M.H.; Sindt, K.K.; Kreikemeier, M.L.; Bauer and K.K. Smith. 1987. Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers. J. Anim. Sci. 65:290-302.
- Stumm, C.K.; Gijzen, H.J. and Vogel, G.D. 1982. Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. British J. Nutr. 45: 95-99.
- Tamminga, S. 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants J. Anim. Sci. 49: 1625.(Abstr.)
- Tapia, M.N. and Herrera-Saldama, R.1989. The effect of four fungal compounds as probiotics on in vitro dry matter disappearance of different feedstuffs. J. Anim. Sci. 67 (Suppl. L):52 1(Abstr.).
- Teather, R.M.; Mahadevan, S.; Erfle, J.D.and Sauer; F.D. 1984. Negative correlation between protozoal and bacterial levels in rumen samples and its relation to the determination of dietary effects on the rumen bacteria and protozoa. Appl. Environ. Microbol. 47: 566-570.
- Tejada, de H I. 1983. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes usados en la alimentación animal. Patronato de apoyo a la investigación y experimentación pecuaria en México, A.C. México.
- Thewis, A.; Lefrancosis, E.; Thielemans, M.F.; Thill, N. and Andre, M. 1979. Rate of passage of digesta in sheep. Ann. Rech. Vet 10: 163-165.

- Thomas, P.C. and Rook, J.A.F. 1977. Manipulation of rumen fermentation. Recent advances in animal nutrition. William, H.y Dyfed L. pp. 83-109.
- Uden, P.; Edlucc, P.E. and Van Soest, P.J. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. J. Sci. Food. Agr. **31**: 625-632.
- Ushida, K.; Jouany, J.P. 1985. Effect of protozoa on rumen protein degradation in sheep. Repr. Nutr. Develop. **25**: 1075-1081.
- Ushida K., Kayouli C, De Smet S., Jouany J.P. 1990. Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed ammonia-treated straw-based diets with or without maize. Br. J. Nutr. **64**:765-775.
- Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. 1977. Determination of rumen microbial growth in vitro from ³²P-labelled phosphate incorporation. British J. Nutr. **38**: 101-114.
- Valdez, O.A. y Nuñez, H.G. 1984. El uso de los esquilmos agrícolas para la alimentación animal en la zona centro de México. Memoria del Seminario. Utilización de subproductos agroindustriales en la alimentación de rumiantes. Centro de Ganadería Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Valdez, R.E.; Alvarez, F.J.; Ferreiro, H.M.; Guerra, F.; López, J.; Priego, A.; Blackburn, T.H.; Leng, R.A. and Preston, t.r. 1977. Rumen function in cattle given sugar cane. Trop. Anim. Prod. **2**: 260-272.
- Van Soest P.J.; Robertson, J.B. and Lewis B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. J. Dairy Sci. **74**:3583-3597.
- Walli, T.K. 1994. Role of yeast culture in rumen ecosystem an animal performance. Int. J. Anim. Sci. **2**:117-121.
- Wallace, R.J. 1993. Microbiología del rumen. Memorias del Curso intenacional de nutrición de rumiantes. Centro de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Wallace, R.J. 1994. Ruminant Microbiology, Biotechnology, and Ruminant nutrition: Progress and problems. J. Anim. Sci. **72**: 2992-3003.
- Warner, A.C. 1962. Some factors influencing the rumen microbial population. J. Gen. Microbol. **28**: 129-146
- Warner, A.C. 1966. Diurnal changes in the concentrations of microorganisms in the rumens of sheep fed limited diets once daily. J. Gen. Microbol. **45**: 213-235.
- Weller, R.A. and Pilgrim, A.F. 1974 Pasage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of the sheep and from a continuous in vitro fermentation system. British J. Nutr. **32**: 341-351.

- Whitelaw, F.G.; Eadie, J.M.; Mann, S.O. and Reid, R.S. 1972. Some effects of rumen ciliate protozoa in cattle given restricted amounts of barley diet. British J. Nutr. 27: 425-437.
- Wiedmeier, R.D.; Arambel, M.J. and Welters, J.L. 1987. Effect of yeast culture and Aspergillus oryzae fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70: 2063-2068.
- Wilcox, C.J.; W.W. Thalcher and F.G. Martin. 1990. Stastical analysis of repeated measurements in physiology experiments. In: Proc Final Research Coordination Meeting of the FAO/IAEA/ARCA1 III Regional Network for Improving the Reproductive Management of Meat and Milk Producing Livestock in Latin America with the Aid of Radioimmunoassay Int. Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. pp 141-155.
- Wilkinson, J.M. and Prescott, H.D. 1970. The use of chromic oxide in the measurement of individual feed intake in cattle fed on silage and barley. Anim. Prod. 12: 71-80.
- Williams, A.G. 1986. Rumen holotrich ciliate protozoa. Microbiol. Rev. 50: 25-49.
- Williams, A.G.; Ellis, A.B. and Coleman, G.S. 1986. Subcellular distribution of polysaccharide depolymerase and glycoside hydrolase enzymes in rumen ciliate protozoa. Current Microbiol. 13: 139-147.
- Williams, P.E.V. 1988. Understanding the biochemical mode of action of yeast culture. In: T.P. Lyons Eds. Alltech's fourth annual symposium of Biotechnology in the feed Industry. Nicholasville, K.Y. pp. 79-99.
- Williams, P.E.V. 1989. The mode of action of yeast culture ruminants diets: review of the effect on rumen fermentation patterns. In: T. P. Lyons Eds. Alltech's 5th Annual symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, K.Y.
- Williams, A.G. and Coleman, G.S. 1988. The rumen protozoa. In: P.N. Hobson (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Sci. London and New York. pp 77-128.
- Williams, A.G. and Coleman, G.S. 1991. The rumen protozoa. Brock/Springer, Series in contemporary Bioscience. pp 86 y 97.
- Williams, C.H.; David, D.J. and Iismaa, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic spectrophotometry. J. Agric. Sci. 59:381-385.
- Williams, P.E.V. and Newbold, C.J. 1990. Rumen probiosis: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: D.J.A. Cole and W. Haresing. Recent advances in animal nutrition. Butterworths, London 211-225.
- Williams, P.E.V.; Walker, A. and MacRae, J.C. 1990. Rumen probiosis: the effects of addition of yeast culture (viable yeast Saccharomyces cerevisiae plus growth medium) on duodenal protein flow in wether sheep. Proc. Nutr. Soc. 49:128 (Abstr.).

- Williams, A.G. and Susan E. Withers. 1991. Effect of ciliate protozoa on the activity of polysaccharide degrading enzymes and fibre breakdown in the rumen ecosystem. J. Appl. Bacteriol 70:149-155.
- Wohlt, J.E.; Finkelstein, A.D.; and Chung, C.H. 1991. Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility, and performance by dairy cattle during early lactation. J. Dairy Sci. 74: 1395-1400.
- Wren, W.B. 1987. Probiotics. Large Animal Veterinarian November/ December.
- Zelenák, I.; D.Jalc, V. Kmet' and P. Siroka. 1994. Influence of diet and yeast supplement on in vitro ruminal characteristics. Anim. Feed Sci. and Technol. 49:211-221.

VIII APENDICE DE CUADROS

Cuadro 4. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE EL pH RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	6.91	6.46	6.65	.04	.002	.11
6	7.22	7.04	6.95	.06	.15	.63
10	6.85	6.62	6.66	.17	.03	.73
14	6.94	6.62	6.82	.04	.02	.05
18	6.62	6.45	6.46	.17	.11	.89
22	6.34	5.89	6.12	.04	.007	.08
Promedio	6.81	6.51	6.61	.04 ⁶	.002	.22

Interacción tiempo - tratamiento: .33

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 5. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE NITROGENO AMONICAL (N- NH₃ mg/dl). DE OVINOS ALIMENTADOS CON UN DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	5.38	2.69	7.44	1.62	.93	.25
6	9.86	6.02	6.78	1.05	.13	.77
10	16.15	22.95	16.64	2.06	.42	.23
14	9.59	1.89	6.43	2.06	.24	.39
18	21.55	24.20	24.32	2.24	.58	.98
22	3.41	3.21	2.69	.62	.73	.74
Promedio	11.01	10.16	10.71	1.72 ⁶	.59	.65

Interacción tiempo - tratamiento: .59

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 6. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS HOLOTRICHOS (CONC. 10⁴/ ML.) DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	5.33	13.33	3.66	.02	.60	.17
6	4.00	33.00	6.33	.06	.27	.11
10	16.00	61.66	37.33	.13	.26	.47
14	6.33	96.66	8.66	.02	.66	.89
18	10.33	20.66	81.00	.21	.38	.27
22	7.00	13.00	3.00	.21	.83	.07
Promedio	8.67	39.22	23.33	.79 ⁶	.23	.90

Interacción tiempo -tratamiento: .27

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 7. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS ENTODINOMORFOS (CONC. 10^4 / ML.) DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTRTOJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	981	1222	797	152	.93	.53
6	826	1500	805	130	.26	.05
10	697	1370	1057	129	.08	.05
14	1091	829	634	225	.47	.64
18	715	870	967	129	.47	.63
22	753	929	765	85	.61	.41
Promedio	843	1120	838	148 ⁶	.38	1.18

Interacción tiempo - tratamiento: .32

1) horas durante el día.

2) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

3) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

4) EEM-error estandar de la media

5) CL-cultivo de levadura

6) error estandar de la media combinada

7) Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 8. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA POBLACIÓN TOTAL DE PROTOZOARIOS (CONC. 10⁴/ML.) DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	986	1236	801	1.53	.92	.27
6	830	1533	811	1.34	.25	.04
10	713	1432	1095	1.34	.07	.32
14	1097	838	643	2.28	.47	.73
18	725	890	1048	1.39	.42	.65
22	760	776	755	.99	.98	.93
Promedio	852	1118	859	1.53 ⁶	.34	.93

Interacción tiempo - tratamiento: .20

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levuceil 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 9. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN MILIMOLAR DE ÁCIDO ACÉTICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	55.37	56.61	67.83	3.3	.34	.87
6	57.48	57.41	61.93	2.86	.72	.93
10	47.60	54.22	67.06	2.75	.04	.34
14	67.65	55.68	63.22	3.13	.23	.14
18	52.87	70.35	64.77	3.76	.44	.41
22	53.22	60.88	57.93	3.71	.44	.41
Promedio	55.70	59.19	63.79	3.27 ⁶	.08	.35

Interacción tiempo -tratamiento: .30

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 10. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN MILIMOLAR DE ÁCIDO PROPIÓNICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	14.40	17.44	22.13	1.35	.08	.37
6	20.11	17.60	18.25	1.57	.52	.52
10	14.54	17.97	20.11	1.49	.17	.36
14	21.04	18.53	20.45	1.28	.57	.43
18	20.08	23.34	19.43	1.55	.69	.40
22	15.07	18.87	20.05	1.46	.17	.30
Pomedio	17.54	18.96	20.07	1.45 ⁶	.19	.41

Interacción tiempo -tratamiento: .49

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 11. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN MILIMOLAR DE ÁCIDO BUTÍRICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	10.17	9.60	11.35	.41	.73	.58
6	9.17	9.27	11.14	.48	.33	.93
10	8.13	8.20	11.63	.18	.08	.95
14	10.21	10.24	9.98	.50	.92	.98
18	10.30	11.44	10.05	.83	.83	.58
22	9.22	9.77	9.60	.61	.71	.58
Promedio	9.53	9.75	10.63	.56 ⁶	.18	.69

Interacción tiempo -tratamiento: .48

¹⁾ horas durante el día.

²⁾ YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³⁾ Lev cultivo de levadura Levacell 1g/día

⁴⁾ EEM-error estandar de la media

⁵⁾ CL-cultivo de levadura

⁶⁾ error estandar de la media combinada

⁷⁾ Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 12. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN MILIMOLAR DE ACIDOS GRASOS VOLATILES (ACÉTICO, PROPIÓNICO Y BUTÍRICO) DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	79.93	83.65	101.31	4.68	.22	.75
6	86.76	84.29	91.31	4.53	.91	.82
10	70.27	80.39	90.80	3.78	.03	.29
14	98.90	84.45	93.65	4.47	.31	.20
18	83.25	105.14	94.25	5.70	.19	.13
22	77.49	89.52	87.58	5.36	.34	.37
Promedio	82.76	87.90	93.15	4.79 ⁶	.10	.38

Interacción tiempo - tratamiento: .34

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 13. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA PROPORCIÓN MOLAR DE ÁCIDO ACÉTICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	69.23	67.79	66.80	.88	.32	.51
6	66.60	68.21	67.69	.63	.33	.31
10	67.88	66.88	68.07	1.33	.88	.76
14	68.54	66.12	67.29	.70	.23	.18
18	63.59	66.98	68.77	.75	.01	.08
22	67.63	68.47	66.27	1.03	.90	.74
Promedio	67.24	67.40	67.48	.92 ⁶	.76	.82

Interacción tiempo -tratamiento: .54

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 14. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA PROPORCIÓN MOLAR DE ÁCIDO PROPIÓNICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	17.79	20.50	21.58	.74	.07	.18
6	22.81	20.73	19.81	.81	.16	.31
10	20.40	22.93	20.02	1.61	.75	.53
14	21.10	21.75	21.83	.72	.66	.72
18	23.53	22.08	20.55	.27	.14	.39
22	20.12	20.52	22.80	.40	.47	.87
Promedio	21.33	21.42	21.09	.98 ⁶	.70	.59

Interacción tiempo -tratamiento: .63

¹) horas durante el día.

²) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴) EEM-error estandar de la media

⁵) CL-cultivo de levadura

⁶) error estandar de la media combinada

⁷) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 15. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA PROPORCIÓN MOLAR DE ÁCIDO BUTÍRICO EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Tiempo ¹	Testigo	Y S ²	Lev ³	E E M ⁴	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁵	YS vs Lev.
2	12.78	11.71	11.62	.50	.31	.39
6	10.59	11.06	12.50	.49	.27	.69
10	11.72	10.19	11.91	.47	.51	.20
14	10.30	12.13	10.88	.41	.21	.10
18	12.88	10.93	10.67	.78	.23	.32
22	12.25	11.00	10.93	.50	.24	.32
Promedio	11.76	11.17	11.42	.54 ⁶	.22	.18

Interacción tiempo -tratamiento: .47

¹⁾ horas durante el día.

²⁾ YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

³⁾ Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

⁴⁾ EEM-error estandar de la media

⁵⁾ CL-cultivo de levadura

⁶⁾ error estandar de la media combinada

⁷⁾ Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 16. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA PROPORCIÓN MOLAR Y LA CONCENTRACIÓN MILIMOLAR DE ÁCIDOS GRASOS VOLATILES EN LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Variable	Testigo	Y S ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁴	YS vs Lev.
Acético %	66.57	67.40	67.48	.92	.76	.82
Propiónico %	21.33	21.42	21.09	.98	.70	.59
Butírico %	11.76	11.17	1.42	.54	.22	.18
Acético (mmoles)	55.70	59.19	63.79	3.27	.08	.35
Propiónico (mmoles)	17.54	18.96	20.07	1.45	.19	.41
Butírico (mmoles)	9.53	9.75	10.63	.56	.18	.69
Suma	82.76	87.90	94.49	4.79 ⁶	.10	.38

¹ YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

² Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

³ EEM-error estandar de la media

⁴ CL-cultivo de levadura

⁶ error estandar de la media combinada

⁵ Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 17. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE EL PERFIL DE AMINOÁCIDOS (G/100G DE MATERIA SECA) A NIVEL DUODENAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Aminoácidos	Testigo	Y S ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁴	YS vs Lev.
Ac. Aspártico	1.35	1.40	1.55	.030	0.11	0.49
Ac. Glutámico	1.84	1.88	1.72	.120	0.86	0.92
Serina	0.85	0.89	1.36	.150	0.43	0.92
Histidina	0.22	0.23	0.26	.005	0.07	0.02
Glicina	0.65	0.66	0.79	.023	0.21	0.83
Treonina	0.72	0.73	0.89	.015	0.05	0.80
Arginina	0.47	0.54	0.58	.008	0.007	0.02
Alanina	1.27	1.22	1.38	.022	0.52	0.47
Tirosina	0.61	0.68	0.72	.020	0.06	0.16
Metionina	1.11	2.05	1.26	.180	0.23	0.99
Valina	0.89	0.95	1.05	.024	0.11	0.42
Fenilalanina	0.65	0.70	0.95	.013	0.04	0.16
Isoleucina	0.85	0.88	0.97	.015	0.08	0.55
Leucina	1.14	1.21	1.30	.030	0.15	0.39
Lisina	0.76	0.81	0.89	.030	0.22	0.50
Total	13.37	14.82	15.45	0.32	0.06	0.14

¹ YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

² Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

³ EEM-error estandar de la media

⁴ CL-cultivo de levadura

⁵ Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 18. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE EL FLUJO DE AMINOÁCIDOS (G/DÍA) EN LA DIGESTA DUODENAL DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Aminoácidos	Testigo	Y S ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁴	YS vs Lev.
Ac. Aspártico	10.34	15.24	8.72	2.27	0.75	0.43
Ac. Glutámico	14.37	20.59	10.19	3.47	0.90	0.50
Serina	6.51	9.61	7.45	1.57	0.58	0.46
Histidina	1.68	2.54	1.51	0.41	0.72	0.45
Glicina	4.84	7.24	4.37	1.10	0.70	0.42
Treonina	5.51	8.11	5.02	1.30	0.72	0.46
Arginina	3.61	5.87	3.30	0.88	0.63	0.36
Alanina	9.82	13.63	7.96	2.2	0.84	0.52
Tirosina	4.66	7.33	4.10	1.07	0.67	0.36
Metionina	9.01	24.32	7.44	3.85	0.45	0.18
Valina	6.87	10.34	6.03	1.54	0.71	0.41
Fenilalanina	4.99	7.68	4.37	1.17	0.70	0.40
Isoleucina	6.53	9.57	5.62	1.48	0.75	0.45
Leucina	8.76	13.49	7.59	2.16	0.72	0.42
Lisina	5.53	9.05	5.04	1.37	0.63	0.36
Total	103.02	164.53	88.63	25.31	0.68	0.38

¹ YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

² Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

³ EEM-error estandar de la media

⁴ CL-cultivo de levadura

⁵ Probabilidad de error tipo I

CUADRO. 19 EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA TASA DE PASAJE FRACCIÓN LÍQUIDA RUMINAL, VOLUMEN RUMINAL Y CONSUMO DE MS DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Variable	Testigo	Y S ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test. vs cult. ⁴	YS vs Lev.
Tasa de pasaje %/h	8.03	10.93	9.61	1.12	.38	.33
Volumen ruminal (l)	.44	.35	.36	.04	.46	.51
Consumo de MS	.811	.963	.800	.06	.59	.32

¹) YS cultivo de levadura Yea Sacc. 3g/día

²) Lev cultivo de levadura Levucell 1g/día

³) EEM-error estandar de la media

⁴) CL-cultivo de levadura.

⁵) Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 20. EFECTO DE DOS CULTIVOS D LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA DIGESTIBILIDAD TOTAL APARENTE DE LA MATERIA SECA (DTAMS), RUMINAL DE LA MATERIA SECA (DARMS), MATERIA SECA DIGERIDA A NIVEL RUMINAL (DAMSR), DIGESTIBILIDAD APARENTE POR NUTRIENTE DE LA MATERIA SECA (DANMS), MATERIA ORGÁNICA (DANMO), DE LA FRACCIÓN DETERGENTE NEUTRA (DANFDN) Y DE LA FRACCIÓN DETERGENTE ÁCIDA.

Variable	Testigo	YS ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test. vs Cult. ⁴	YS vs Lev
DTAMS	46.64	55.92	55.55	2.91	.19	.24
DARMS	4.22	-6.28	25.41	14.02	.86	.77
MSDR	22.30	-86.00	225.7	124.49	.86	.73
DANMS	67.55	63.75	65.80	2.18	.57	.50
DANMO	57.03	56.19	58.92	1.11	.71	.57
DANFDN	60.01	57.84	59.77	1.46	.71	.57
DANFDA	29.09	25.74	29.66	1.97	.75	.51

¹⁾ YS- cultivo de levadura Yea-sacc 3g/d.

²⁾ Lev.- cultivo de levadura Levucell 1g/d.

³⁾ EEM error estandar de la media.

⁴⁾ Cult. cultivo de levadura

⁵⁾ Probabilidad de error tipo 1.

CUADRO 21. EFECTO DE DOS CULTIVOS DE LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae* A DOSIS COMERCIAL SOBRE LA TASA DE FLUJO DE LA FRACCIÓN LÍQUIDA, VOLUMEN RUMINAL, FLUJO DUODENAL DE LA MATERIA SECA (FDMS), FIBRA DETERGENTE NEUTRA (FDFDN), FIBRA DETERGENTE ACIDA (FDFDA), PROTEÍNA BRUTA (FDPB), PROTEÍNA VERDADERA(FDPV)DE OVINOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ.

Variable	Testigo	YS ¹	Lev ²	E E M ³	Contrastes	
					Test.vs Cult. ⁴	YS vs Lev
Tasa de flujo	8.03	10.93	9.61	1.12	.38	.33
Vol. ruminal	0.44	0.35	0.36	.05	.46	.51
FDMS	0.03	0.04	0.02	.005	.89	.41
F D F D N	2.88	3.80	2.34	.48	.86	.47
F D F A D	15.65	22.21	12.34	3.12	.81	.42
F D P B	.42	.40	.66	.11	.64	.95
F D P V	4.63	8.02	4.00	1.02	.55	.22

¹⁾ YS- cultivo de levadura Yea-sacc 3g/d.

²⁾ Lev.- cultivo de levadura Levucell 1g/d

³⁾ EEM error estandar de la media.

⁴⁾ Cult. cultivo de levadura°

⁵⁾ Probabilidad de error tipo I.

Biografía

Sergio C. Angeles Campos nació en la ciudad de México, a los siete días de Octubre de mil novecientos cincuenta siete. Realizó sus estudios de educación Primaria, Secundaria y Preparatoria en la misma ciudad. Ingresó a la Universidad Nacional Autónoma de México en el año de 1976, para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista en 1984. A partir, de 1981 ingreso a laborar en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia hasta el año de 1990. Durante este año realizó un viaje de estudios al país de España para asistir a un curso Internacional sobre Producción animal. En el año de 1991 ingreso al programa de estudios de Posgrado de la FMVZ para cursar la maestría en Producción Animal ; Nutrición Animal.