

01673



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

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

EFFECTO DE LA ADICION DE SACCHAROMYCES  
CEREVISIAE SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE LA  
FIBRA Y EL METABOLISMO RUMINAL EN DIETAS  
PARA OVINOS BASADAS EN PUNTA DE CAÑA

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL:

N U T R I C I O N

P R E S E N T A D A P O R

JOSE LUIS ARCOS GARCIA



ASESORES: M.C. FRANCISCO A. CASTREJON PINEDA  
PhD. GERMAN D. MENDOZA MARTINEZ

MEXICO, D. F.

1997

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **DEDICATORIA**

**A mi esposa: Edith González Solano**

**A mis hijos (as): Iraida, Areli y José Alberto**

Gracias a ellos por su paciencia en sobrellevar las innumerables horas que no les dedique por estar de tiempo exclusivo en mi preparación profesional.

**A mi tía: Rosaura Torrescano A.**

Por el gran apoyo que recibí por parte de ella

**A mis padres: José Arcos A. y Emma García S.**

## AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Rufino García Suazo, quien me apoyó incondicionalmente a través de la Central Campesina de Guerrero.

Al CONACYT y a PAPIIT por el financiamiento de la carrera y del proyecto de investigación

Al MVZ José Luis Cordero por la cirugía realizada en los animales de estudio y la introducción de las cánulas ruminal y duodenal.

A la Q. Ma. Antonieta Aguirre, al MC Ma. M. Crosby, Andrés Toledo B., Antonio Yáñez Ramírez y Jaime Ballinas Flores por la ayuda prestada en la asistencia técnica del laboratorio.

Al Departamento de Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, muy especialmente al Dr. Pérez Gavilán E. P. y Norma Hilda V.

Con gran aprecio y admiración a mis asesores de Tesis: Fco. Castrejón P. y Germán Mendoza M.

A Ma. Luisa Meza Arcos, Sergio Angeles y Luis Corona por su bella amistad.

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 ésta tesis esté disponible para cualquier tipo de intercambio bibliotecario

ATENTAMENTE



---

JOSE LUIS ARCOS GARCIA

## CONTENIDO

	Pag
LISTA DE CUADROS .....	i
LISTA DE CUADROS DEL APENDICE.....	ii
RESUMEN.....	iv
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. Revisión de literatura.....	3
1.1.1. Características sobresalientes de la caña de azúcar.....	3
1.1.2. Características de la punta de caña de azúcar.....	3
1.1.3. Producción de punta de caña y su efecto sobre la producción pecuaria.....	4
1.1.4. Cultivos microbianos (Probióticos).....	4
1.1.5. Principales características de las levaduras <u>Saccharomyces cerevisiae</u> .....	5
1.1.6. Condiciones de crecimiento de las levaduras <u>Saccharomyces cerevisiae</u> .....	5
1.1.7. Posibles mecanismos de acción de la levadura <u>Saccharomyces cerevisiae</u> en el rumen .....	6
1.1.8. Población de microorganismos ruminales.....	8
1.1.9. Patrón de fermentación ruminal.....	12
1.1.10. pH ruminal.....	15
1.1.11. Nitrógeno amoniacal.....	16
1.1.12. Digestibilidad ruminal.....	18
1.1.13. Utilización de marcadores para evaluar la digestibilidad.....	19
1.1.14. Respuestas al uso de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> en la dieta de rumiantes.....	20
1.2. Justificación.....	33

1.3. Objetivos.....	35
1.4. Hipótesis.....	35
II. MATERIAL Y METODOS.....	36
2.1. Ubicación geográfica del área de estudio.....	36
2.2. Descripción de los animales.....	36
2.3. Dieta experimental.....	37
2.4. Distribución de tratamientos y periodos.....	37
2.5. Metodología.....	38
2.5.1. Alimentación de los animales.....	38
2.5.2. Conteo de UFC y adición de las levaduras ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ).....	39
2.5.3. Adición del marcador óxido de cromo (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ).....	40
2.5.4. Colección de muestras.....	40
2.5.4.1. Líquido ruminal.....	40
2.5.4.2. Líquido duodenal y heces.....	41
2.5.4.3. Muestreo para la determinación de la tasa de pasaje de la fracción líquida.....	41
2.5.4.4. Digestibilidad <i>in situ</i> .....	42
2.6. Variables evaluadas.....	42
2.6.1. Potencial de hidrógeno (pH).....	42
2.6.2. Concentración de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal.....	43
2.6.3. Nitrógeno amoniacal en líquido ruminal.....	43
2.6.4. Población de protozoarios ruminales.....	44
2.6.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida .....	44

2.6.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta utilizando $\text{Cr}_2\text{O}_3$ .....	45
2.6.6.1. Digestibilidad aparente de los nutrientes.....	46
2.6.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno.....	47
2.6.8. Digestibilidad <i>in situ</i> de la punta de caña.....	48
2.6.8.1. Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca.....	48
2.6.8.2. Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro.....	48
2.7. Análisis de varianza.....	49
2.8. Modelo estadístico.....	49
III. RESULTADOS .....	51
3.1. Potencial de hidrógeno.....	51
3.2. Acidos grasos volátiles en rumen.....	51
3.2.1. Concentración de acetato (mmol).....	51
3.2.2. Concentración de propionato (mmol).....	52
3.2.3. Concentración de butirato (mmol).....	53
3.2.4. Concentración (mmol) de los ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).....	53
3.2.5. Proporción molar de acetato.....	54
3.2.6. Proporción molar de propionato.....	55
3.2.7. Proporción molar de butirato.....	55
3.3. Nitrógeno amoniacal.....	55
3.4. Protozoarios ruminales (organismos x $10^4$ por ml).....	56



3.4.1. Concentración de Holotricos.....	56
3.4.2. Concentración de Entodinomorfos.....	57
3.4.3. Concentración de protozoarios totales (Entodinos y Holotricos).....	57
3.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida .....	58
3.5.1. Tasa de flujo ruminal (%/h).....	58
3.5.2. Volumen ruminal.....	58
3.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta .....	59
3.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes .....	58
3.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno.....	59
3.7. Perfil y Flujo de amoniácidos a duodeno.....	59
3.8. Digestibilidad <i>in situ</i> de la punta de caña.....	59
3.8.1. Digestibilidad de la materia seca.....	59
3.8.2. Digestibilidad de la fibra detergente neutro.....	60
3.9. Consumo de alimento.....	61
IV DISCUSION.....	62
4.1. Potencial de hidrógeno.....	62
4.2. Acidos grasos volátiles en rumen.....	63
4.2.1. Acetato .....	63
4.2.2. Propionato .....	64
4.2.3. Butirato .....	65
4.2.4. Acidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).....	66
4.3. Nitrógeno amoniacal.....	67

4.4. Protozoarios ruminales (organismos x 10 <sup>4</sup> ).....	67
4.4.1. Concentración de Holotricos.....	67
4.4.2. Concentración de Entodimorfidos.....	68
4.4.3. Concentración de protozoarios totales (Entodimorfidos y Holotricos).....	68
4.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida .....	68
4.5.1. Tasa de flujo (%/h).....	68
4.5.2. Volumen ruminal.....	69
4.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta .....	69
4.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes .....	69
4.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno.....	70
4.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno.....	71
4.8. Digestibilidad <i>in situ</i> de la punta de caña.....	71
4.8.1. Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca de la punta de caña.....	71
4.8.2. Digestibilidad de la fibra detergente neutro de la punta de caña.....	88
4.9. Consumo de alimento.....	73
V CONCLUSIONES.....	74
VI RECOMENDACIONES.....	76
VII LITERATURA CITADA.....	77
VIII APENDICE.....	88

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la dieta experimental.....	37
Cuadro 2. Programa de muestreo en rumen de duodeno y heces.....	38
Cuadro 3. Distribución de tratamientos.....	49

## LISTA DE CUADROS DEL APENDICE

CUADRO 4.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre el pH ruminal	89
CUADRO 5.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de ácido acético (mmol) en el rumen	90
CUADRO 6.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de ácido propiónico (mmol) en el rumen	91
CUADRO 7.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de ácido butírico (mmol) en el rumen	92
CUADRO 8.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (mmol) en el rumen	93
CUADRO 9.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la proporción molar de ácido acético en el rumen	94
CUADRO 10.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la proporción molar de ácido propiónico en el rumen	95
CUADRO 11.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la proporción molar de ácido butírico en el rumen	96
CUADRO 12.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de nitrógeno amoniacal (mg/dl) en el rumen	97
CUADRO 13.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de Holotricos (microorganismos x 10 <sup>4</sup> ) en el rumen	98
CUADRO 14.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de Entodinomorfos (microorganismos x 10 <sup>4</sup> ) en el rumen	99
CUADRO 15.	Efecto de la adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la concentración de protozoarios totales (microorganismos x 10 <sup>4</sup> ) en el rumen	100

CUADRO 16. Adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre el consumo (g) de materia seca (CMS), volumen (L) ruminal (VOLR) y la tasa (TP) de pasaje (%/h)	101
CUADRO 17. Adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la digestibilidad (%) aparente (DA): total de la materia seca (DATMS), ruminal de la MS (DARMS), MS Ruminal (DAMSR), digestibilidad aparente por nutrimento (DAN): materia seca (DANMS), materia orgánica (DANMO), fibra detergente neutro (DANFDN), y fibra detergente ácido (DANFDA)	102
CUADRO 18. Adición de levadura <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre el flujo (kg/h) a duodeno (FD): de la materia seca (FDMS), fibra detergente neutra FDFDN), fibra detergente ácida (FDFDA), proteína bruta (FDPB) y proteína verdadera (FDPV)	103
CUADRO 19. Adición de levadura <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la digestibilidad <i>in situ</i> (%)	104
CUADRO 20. Adición de levadura <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la degradabilidad <i>in situ</i> (%) de la fibra detergente neutro	105
CUADRO 21. Adición de <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la digestibilidad <i>in situ</i> (%) de la MS	106
CUADRO 22. Efecto de la adición de levadura <u>Saccharomyces cerevisiae</u> sobre la degradabilidad <i>in situ</i> (%) de la fibra detergente neutro	107
CUADRO 23. Análisis de correlación múltiple	108

## RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la adición de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) en dietas para ovinos a base de punta de caña sobre algunos parámetros ruminales, flujo de nutrientes a duodeno, digestibilidad ruminal y con cromo de la dieta experimental y la digestibilidad *in situ* de la punta de caña. Se utilizaron 3 borregas adultas de la raza Suffolk, con un peso vivo de 30 kg con cánula ruminal y duodenal, alojadas en jaulas metabólicas individuales. La dieta experimental (DE) consistió en base seca de punta de caña (50%), sorgo (21%), salvado de trigo (15%), melaza (12%) y urea (2%). Las levaduras y el óxido de cromo se administraron vía cánula ruminal a las 8:00 h diariamente. Se utilizó un diseño de cuadro latino simple 3 x 3, las variables se analizaron por el procedimiento de mediciones repetidas y se compararon mediante contrastes ortogonales testigo vs levaduras (T vs LS) y Yea-Sacc vs Levucell (Y-S vs LEV). Los tratamientos estudiados fueron T: DE, Y-S: DE + 3 g de Yea-Sacc<sup>1026</sup> y Lev; DE + 1 g de Levucell. Los resultados muestran disminución ( $P < .05$ ) en pH en los contrastes estudiados. El acetato se incrementó ( $P < .05$ ) en ambos contrastes, propionato no se modificó ( $P > .05$ ), butírico se incrementó ( $P < .05$ ) T vs LS, los AGVs se incrementaron ( $P < .05$ ) T vs LS y fue menor ( $P < .05$ ) en Y-S vs lev; la concentración de  $N-NH_3$  (mg/dl) se incrementó ( $P < .05$ ) en Y-S vs lev; no se modificaron ( $P > .05$ ) los siguientes parámetros: protozoarios ( $1 \times 10^4$ /ml), proporción molar de AGVs, digestibilidad y flujo de nutrientes a duodeno de la MS, MO, FDN, FDA de la dieta, el patrón y flujo de aminoácidos a duodeno y la digestibilidad *in situ* de la punta de caña. Se concluye que la adición de levaduras no produce ninguna alteración benéfica sobre los parámetros ruminales.

## ABSTRACT

A metabolism trial was conducted to evaluate two direct-fed microbial cultures with Saccharomyces cerevisiae, on ruminal fermentation and digestibility of diets based on sugar cane tops. Additives were dosed intraruminally. Three ewes Suffolk with ruminal cannula (30 kg BW) were used in a Latin Square Design, where treatments were control group (DE), 3 g/d of Yea-Sacc<sup>1026</sup> (Y-S,  $1 \times 10^8$  CFU/g) and 1 g of Levucell (Lev,  $20 \times 10^9$  CFU/g). Diet was based on sugar cane tops (50%), sorghum grain (21%), molasses (12%), urea (2%) and wheat bran (15%). Ruminal pH was greater ( $P < .05$ ) with control culture (DE, 6.05), being lower ( $P < .05$ ) for Y-S than Lev (5.85 vs 5.96). Total VFA concentration was greater with yeast cultures (Lev, 107.6 mM; Y-S, 105.5 mM) than the control (DE, 97.3 mM), however no effects were detected in VFA molar proportion, protozoa population, total tract digestibility and aminoacid pattern in duodenal contents was not affected by treatments. In situ DM and NDF degradation was not affected by treatments. Both direct-fed microbial cultures with Saccharomyces cerevisiae, did not improve either fermentation or digestion in sheep fed a sugar cane tops based diet.

## I INTRODUCCION

En México la producción pecuaria se encuentra ante el reto y la necesidad de aplicar un mayor desarrollo tecnológico en el uso eficiente de los forrajes y algunos esquilmos agrícolas, con la finalidad de maximizar la eficiencia de utilización de estos por el ganado. En diferentes regiones del país, los esquilmos agrícolas han sido una fuente importante de nutrimentos para satisfacer las necesidades de alimentación de los animales y por consiguiente de la población, la cual es cada vez más grande y exigente. Al mismo tiempo se enfrenta a un mercado de competencia, en donde el que se estanca en el desarrollo tecnológico queda fuera de el mercado.

Desde hace varias décadas, los países productores de azúcar de la región Latinoamericana, han realizado numerosas investigaciones en el ámbito nutricional, con las cuales actualmente es posible sustentar, particularmente en las regiones tropicales gran parte de la alimentación del ganado vacuno, porcino y avícola (Noa, 1991).

Las investigaciones realizadas por Muñoz *et al.*, (1969) citados por Noa (1991), mencionan que suministrando caña a rumiantes se observa un pobre consumo de materia seca e indicadores ruminales muy desfavorables, caracterizados por una población bacteriana baja, un aumento considerable del tiempo necesario para reducir la fibra en el rumen a partículas inferiores a 1.18 mm y por consecuencia, baja digestibilidad y pasaje ruminal.



La baja calidad nutricional de la punta de caña se puede corregir parcialmente utilizando procesos físicos y/o químicos con la finalidad de incrementar la digestibilidad de la fibra (Llamas *et al.*, 1986; Cameron *et al.*, 1991); mediante procesos de suplementación de energía, nitrógeno y minerales (Egan, 1986), por medio de tratamiento biológico (Williams y Newbold, 1990; Ayala, 1992). Con respecto a estos últimos, los cultivos de levadura incrementan la digestibilidad de las dietas con alto contenido de fibra (Plata y Mendoza, 1993).

La investigación desarrollada en los últimos años, con rastrojo de maíz y paja de avena revelan que algunos cultivos de microorganismos por ejemplo Saccharomyces cerevisiae aumentan la digestibilidad de la fibra y probablemente la disponibilidad de nutrimentos de las pajas y rastrojos (Plata *et al.*, 1994). Los efectos benéficos de los cultivos de levadura Saccharomyces cerevisiae se han asociado con la capacidad para alterar la fermentación ruminal, aunque en este sentido existe controversia en los resultados encontrados. La modificación en el metabolismo ruminal y el incremento de la digestibilidad de la fibra, al parecer son pequeños y pueden deberse a la interacción de factores como el tipo de dieta. Por otra parte no existen estudios acerca del efecto que se obtiene al tratar los subproductos de la caña, con Saccharomyces cerevisiae, por tal motivo se realizó la presente investigación.

## 1.1 Revisión de literatura

### 1.1.1. Características sobresalientes de la caña de azúcar

Armas y González (1966) y Urquiaga *et al.* (1989) mencionan que las características más importantes de la caña de azúcar son las siguientes: a) El periodo de cosecha se realiza en la época de mayor escasez de alimento, b) Es una fuente renovable de energía, en el sentido que permite a los procesos industriales considerarlos autoenergéticos, c) se adapta a una gran variedad de suelos y condiciones climáticas, d) sus requerimientos de nitrógeno son muy bajos en comparación con otras gramíneas, ya que fija a través de la rizoosfera entre 130 a 200 kg de nitrógeno/ha, e) es un cultivo perenne que bien manejado puede permanecer con una alta productividad durante más de ocho años y f) su valor nutritivo tiene poca variación con la edad después de los ocho meses de rebrote.

### 1.1.2. Características de la punta de caña de azúcar

García-Trujillo y Pedroso, (1989) citados por Noa (1991) clasifican a la punta de caña como alimento de baja calidad nutricional, y además mencionan como características que limitan su uso en la alimentación de rumiantes a las siguientes: a) bajo contenido de proteína bruta (1.8 a 2.1%); b) alto contenido de fibra bruta (38 a 41%); c) bajo contenido de fósforo (0.05 a 0.18%) y d) baja digestibilidad de la materia seca (26 a 38%).

### 1.1.3. Producción de punta de caña y su efecto sobre la producción pecuaria

En México se estimó en 1994 que la producción de caña de azúcar fué de 35 541 199.386 Ton., obteniéndose 2 452 342.76 Ton de punta de caña, de las cuales el estado de Morelos produjo el 47.73% de ésta última (Noa, 1991 e INEGI, 1994). Debido al clima y a las características topográficas del estado, que determinan escasez de forraje durante 8 meses, y de acuerdo a la cantidad de población de bovinos, caprinos y ovinos, según el último censo ganadero, se estima que la punta de caña se utiliza para satisfacer una parte de la demanda de forraje (10%), por lo tanto, el incremento en la disponibilidad de los nutrimentos de la punta de caña repercute rápidamente en la producción Pecuaria Nacional.

### 1.1.4. Cultivos microbianos (Probióticos)

A los cultivos microbianos originalmente se les designaba como probióticos, sin embargo en 1989 la Administración de Farmacos y Alimentos acordó que no era adecuado el nombre de probiótico y por lo tanto se modificó la nomenclatura a "cultivos microbianos proporcionados directamente" o "cultivos microbianos" (González, 1995).

Los cultivos microbianos son productos formados por una mezcla de microorganismos (hongos y levaduras), enzimas, vitaminas, medios de cultivo y factores no identificados relacionados a la levadura, que tienen efectos benéficos en la fermentación ruminal. Los efectos del cultivo de levaduras en los rumiantes no son fijos, lo cual se debe a la combinación de distintos factores inherentes a las levaduras

(nucleótidos, aminoácidos y vitaminas) que son proporcionados a los microorganismos ruminales por medio del proceso de lisis bacteriana (Hough y Maddox, 1970; Guerzoni y Succi, 1972; Mendoza y Ricalde 1993; Tapia, 1989; Fuller, 1986; Fallon y Harle, 1987; Williams, 1988; Newbold, 1990 y Dawson, 1989).

#### **1.1.5. Principales características de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae***

Hubert (1987), Jones y Thomas (1987) mencionan que los cultivos de levadura presentan varias características importantes: 1) No presentan patogenicidad ni toxicidad, 2) no se absorben en el tracto digestivo, 3) no dejan residuos en los tejidos animales, 4) se utilizan en pequeñas cantidades, 5) proliferan *in vivo* e *in vitro*, 6) promueven el crecimiento de bacterias celulolíticas, 7) son estables a temperaturas elevadas y 8) no causan mutación.

#### **1.1.6. Condiciones de crecimiento de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae***

Las levaduras requieren para su óptimo crecimiento un medio ambiente acuoso, un pH con valores entre 3.5 a 5.0, posiblemente debido a que la actividad de las proteínas plasmáticas de las levaduras en los límites de su membrana se da en éstos valores de pH (Rose, 1987a). Las levaduras mantienen su actividad metabólica bajo condiciones anaeróbicas y resisten el estrés físico asociado con el secado, calentamiento y exposición al pH ácido (Dawson, 1989).

Se ha demostrado que Saccharomyces cerevisiae presenta crecimiento limitado bajo condiciones anaeróbicas (Andreasen y Stier, 1953) por tal motivo no es común que desarrolle crecimiento a nivel ruminal, sin embargo se ha observado cierto grado de viabilidad ruminal (Dawson *et al.*, 1990 y Hession *et al.*, 1992), además el crecimiento de las levaduras se ve afectado por la presencia de ácidos grasos insaturados, tales como el colesterol y el ácido nicotínico (Rose, 1987b).

Dawson y Newman (1987), Arambel y Rung-Syyn (1987) concluyeron que el cultivo de levaduras es incapaz de mantener una población productiva dentro del ecosistema ruminal. Williams *et al.* (1990) indican que los hongos no comensales no pueden mantener una población viable en el rumen y son incapaces de establecerse permanentemente.

#### 1.1.7. Posibles mecanismos de acción de la levadura Saccharomyces cerevisiae en el rumen

Dawson (1987), Dildey (1988) y Williams (1989), propusieron que posiblemente los mecanismos de acción de las levaduras pueden atribuirse a lo siguiente: 1) cambios en la flora bacteriana por competencia y estimulación del crecimiento (aumento de la actividad celulolítica), 2) modulación del medio ambiente ruminal (evitando fluctuaciones en el pH ruminal), 3) reducción de la actividad de las bacterias metanogénicas, 4) optimización de la absorción de minerales, 5) son fuente de nutrientes y productos esenciales

(aminoácidos, vitaminas y enzimas) y 6) incremento en metabolitos como ácidos grasos volátiles (AGVs) a causa de una mayor actividad bacteriana.

Además Dawson (1993) propuso que los efectos de los cultivos microbianos involucran: 1) estimulación del crecimiento de bacterias ruminales, 2) disminución de la concentración del nitrógeno amoniacal, 3) alteración de la síntesis microbiana, 4) modifican el perfil de aminoácidos en el flujo duodenal, 5) incrementan el consumo de los animales, 6) incrementan la degradabilidad de la fibra, 7) alteran la concentración de ácidos grasos volátiles, 8) reducen la producción de metano, 9) disminuyen la concentración de ácido láctico, 10) modulan el pH ruminal y 11) incrementan la proteína sobrepasante.

Las características de la levadura Saccharomyces cerevisiae permiten eliminar el oxígeno del medio ambiente ruminal, con lo que se facilita el crecimiento de bacterias anaeróbicas estrictas, es decir de bacterias celulolíticas (Rose, 1987a), modulan el medio ambiente del rumen e intestino (Sempley y DeVisscher, 1991; McLeod *et al.*, 1991); incrementan la digestibilidad, así como la relación acético-propiónico (Plata y Mendoza, 1993).

Se ha indicado que el cultivo de levaduras Saccharomyces cerevisiae impulsa al parecer la degradación de la pared celular, lo cual se debe en gran parte al incremento de bacterias celulolíticas (Fallon y Harle, 1987; Wiedmeier *et al.*, 1987; Galloway *et al.*,

1991 y Dawson, 1992). En cultivos puros las levaduras Saccharomyces cerevisiae se reproducen mitóticamente, pero los medios con alto contenido de fibra estimulan su esporulación (Feese *et al.*, 1982, Citado por Plata y Mendoza, 1993). 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).

#### 1.1.8. Población de microorganismos ruminales

La falta de una suplementación exacta de proteína y energía para el crecimiento microbial, debida a las diferencias en las proporciones de la fermentación de los componentes alimenticios, resulta en un crecimiento y condiciones en el rumen ineficientes, lo que puede inhibir la actividad bacteriana (Williams, 1989). Las poblaciones microbianas que viven en anaerobiosis en el rumen son protozoarios ( $10^6$ /ml), bacterias ( $10^{10}$ /ml) y hongos ( $10^4$ /ml) (Jouany, 1994). Se necesita una permanencia prolongada del alimento dentro del rumen para los organismos de crecimiento lento tales como los hongos y protozoarios ruminales (McAllister *et al.*, 1994). Los tiempos de multiplicación varían de 5-14 h para los protozoarios (Williams y Coleman, 1988) y de 24-30 h para los hongos (Bauchop, 1981 y Joblin, 1981). Regularmente la estrategia de las bacterias ruminales para superar la barrera física (cutícula) que opone resistencia a la adhesión de los microorganismos a los forrajes y granos (Bauchop, 1980; Akin, 1989; McAllister *et al.*, 1990), es introducirse a través de los estomas, lenticelas y las áreas dañadas de las plantas (Chesson y Forsberg, 1988; Cheng *et al.*, 1991). Por otra parte la digestión de los

hongos ruminales se lleva a cabo sobre las áreas vulnerables de los tejidos de las plantas, sin embargo cuando confrontan con tejido recalcitrante, su hifa posee la extraordinaria capacidad de penetrar directamente la cutícula (Akin y Rigsby, 1987; Ho *et al.*; 1988), lo que contribuye a disminuir substancialmente la tensión protectora de los tejidos y puede proporcionar sitios adicionales para el acceso de las bacterias, por medio de su adhesión a los tejidos de las plantas (Akin *et al.*, 1983).

Los Holotricos son capaces de penetrar profundamente dentro de los tejidos de las plantas y causarle cierto deterioro y adherirse por medio de un organelo específico de ataque (Orpin y Letcher, 1978). Los Entodinomorfos se asocian a la planta, ingieren pequeñas partículas o las engloban y se adhieren a fragmentos grandes (Bauchop, 1979).

En dietas con un alto contenido en carbohidratos fácilmente fermentables, la concentración más alta de protozoarios se observa inmediatamente después de la alimentación, y posteriormente disminuye por un breve periodo de tiempo, debido principalmente a la dilución del contenido ruminal por la ingestión de agua y la secreción salival, incrementándose nuevamente justo antes de la siguiente comida. El fenómeno de migración de los protozoarios está asociado a los periodos de consumo de alimento y los postprandiales, la población de Entodinomorfos disminuye aproximadamente 16 horas



después del consumo de alimento y se incrementa antes del mismo, mientras que el número de Holotricos se incrementa antes del consumo y comienza a disminuir tan pronto los animales ingieren su alimento (Williams y Coleman, 1991). Al incrementar la frecuencia de alimentación, se incrementa la concentración de protozoarios, debido a que en el medio ruminal existe un flujo más constante de sustrato para los microorganismos ruminales, este efecto provoca disminución en las variaciones diurnas en las poblaciones de bacterias y protozoarios ciliados.

Los Holotricos presentan la propiedad de asimilar azúcares solubles y transformar una parte de éstos en polisacáridos de reserva, que almacenan en una estructura similar al almidón; presumiblemente mediante este mecanismo se disminuyen los riesgos de acidosis en animales que consumen niveles altos en glúcidos de fácil digestión (Hungate, 1966).

En forma diferente a los Holotricos, los Entodinomorfos metabolizan el ácido láctico y disminuyen el pico de acidosis causado por el exceso de carbohidratos fácilmente fermentables (almidón o azúcares), lo cual además es un ejemplo del efecto amortiguador de los protozoarios (Jouany, 1994).

Coleman (1986) encontró que varias especies de protozoarios ruminales poseen alfa amilasa, y que uno de los que presentan mayor actividad amilolítica de este tipo es el

Entodinium caudatum. Así mismo se encontró alfa y beta amilasas en Holotricos (Mould y Thomas, 1958).

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 con 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).

Jouany, (1988) menciona que los protozoarios actúan de tres maneras en la digestión de los componentes de la pared celular: 1) participan directamente en la digestión, principalmente durante las primeras horas del consumo, por el incremento en la tasa de degradación de las fracciones resistentes al ataque de bacterias, 2) incrementan el tiempo de retención de los alimentos en el rumen, con lo cual se incrementa el tiempo de contacto entre los microorganismos y el sustrato, sostienen una fermentación más uniforme entre los intervalos de alimentación y 3) estabilizan las condiciones físico-químicas del rumen, lo que favorece el desarrollo de la flora celulolítica.

Por su parte (Bonhome, 1990) menciona que los protozoarios están involucrados en los siguientes factores: 1) actúan como estabilizadores en la fermentación ruminal, 2) controlan el nivel disponible de sustrato, sosteniendo una fermentación más uniforme entre los intervalos de alimentación, 3) actúan como fuentes continuas de proteína a nivel ruminal, por la conversión de proteína bacteriana a protozoaria, con la aparente retención de proteína en el rumen, 4) aparentemente incrementan la tasa de degradación ruminal de materia orgánica (MO) y la fibra detergente neutro (FDN) e incrementan la tasa de recambio del líquido ruminal y 5) tienen un efecto destoxicador al reducir nitratos y nitritos siendo esta actividad mayor que el de las bacterias.

### **1.1.9. Patrón de fermentación ruminal**

Dos aspectos importantes de la fermentación del rumen común a todos los sistemas, son las condiciones para una eficiente actividad celulolítica y por otra parte las

necesidades para una síntesis óptima de proteína microbial. Sin embargo, la importancia relativa de estos dos procesos varía de acuerdo a las características del alimento y a los sistemas de producción (Williams, 1989).

En dietas con alto contenido de forraje, el patrón de ácidos grasos volátiles (AGVs) en la fermentación ruminal fluctúa entre 65:25:10 a 70:20:10 (acetato: propionato: butirato, en porcentaje molar), por otra parte cuando la cantidad de concentrado en la ración se eleva por encima de 70%, las proporciones de AGVs varían entre 45:40:15 a 50:40:10 (Shimada, 1991). Dietas compuestas únicamente de forrajes dan una mezcla en proporción molar de 65-74% acético, 15-20% propiónico y 8-16% butírico (Thomas y Rook, 1977); sin embargo forrajes de alta calidad y una molienda fina pueden causar reducción en la proporción de acético e incremento en propiónico, butírico o ambos.

Debe considerarse que las concentraciones de AGVs en el fluido ruminal, no necesariamente reflejan su tasa de producción y absorción. En experimentos en los que se han estudiado dietas bajas y altas en concentrado, se ha observado que aún cuando la concentración de ácido acético se reduce con el nivel alto de concentrado, su nivel de producción no cambia considerablemente, esto es posible ya que al mismo tiempo que se incrementa la producción de propionato, se incrementa considerablemente la tasa de absorción de todos los ácidos grasos (Rodríguez y Llamas, 1990). No se ha dilucidado completamente el eslabón entre la concentración de AGVs a nivel ruminal y la composición química de la dieta, debido a que la concentración de la mezcla de AGVs

producidos no solamente refleja la composición de los sustratos fermentados sino que también la actividad metabólica de los microorganismos ruminales. La composición y metabolismo de la población microbiana no solo depende de la composición química de la dieta, también se ve influenciada por un amplio rango de factores dietarios y no dietarios, los cuales son difíciles de predecir.

La producción de AGVs se relaciona con la producción de  $\text{CH}_4$  en el rumen, y debe mantenerse el balance fermentativo en todo momento; tanto el metano como el propionato sirven como captadores del exceso de equivalentes reductores que se producen a nivel ruminal (Rodríguez y Llamas, 1990). Durante el proceso de absorción de los AGVs a través de la pared ruminal, el acetato no sufre cambios aparentes; parte del propionato se transforma a lactato y el butirato se convierte casi totalmente en cuerpos cetónicos (Shimada, 1991).

El incremento de propionato en rumen produce como consecuencia una mayor eficiencia energética, y una reducción en la pérdida calórica, disminución en el empleo de aminoácidos para gluconeogénesis e incremento en la síntesis de proteína corporal. Una parte de los ácidos grasos volátiles son empleados *in situ* como sustratos para la síntesis de otros ácidos grasos volátiles, o en la formación de proteína microbiana, siendo este hecho más importante en el caso de acetato (Shimada, 1991). La desaparición de los protozoarios está generalmente asociada con una disminución en la proporción de butirato e incremento de propionato o acetato (Jouany, 1994).

Los ácidos valérico, isovalérico e isobutírico, son considerados "esqueletos de carbono", productos de la degradación de aminoácidos, y se consideran nutrimentos para el crecimiento de los microorganismos ruminales (Rodríguez y Llamas, 1990).

#### 1.1.10. pH ruminal

El pH ruminal refuerza el balance entre la capacidad amortiguadora y la acidéz de la fermentación. Al incrementarse la acidéz, se estrechan las relaciones acetato-propionato, al incrementarse el pH se amplían las relaciones acetato-propionato (Hobson, 1972).

Aún cuando no puede definirse un pH óptimo en el medio ruminal, los microorganismos presentan cierto intervalo en el cual se reproducen mejor y su metabolismo es más eficiente, los protozoarios manifiestan su principal desarrollo a pH cercano a 6.5 y son severamente afectados en pH superiores a 8 e inferiores a 5.5, siéndo este último uno de los factores que más afectan su población (Hungate, 1966; Hino *et al.* 1973). La disminución en el pH del rumen reduce la viabilidad de las bacterias celulolíticas y por lo tanto se reduce la actividad sobre los carbohidratos estructurales (Williams, *et al.*, 1983). Cheng *et al.*, (1984) concluyeron que en condiciones ruminales de pH bajo, el ataque bacteriano a las paredes celulares es difícil y por lo tanto se reduce su digestión. Se considera que un pH ruminal superior a 6.2 es el óptimo para obtener una buena digestión de celulosa (Rodríguez y Llamas, 1990).

### 1.1.1.1. Nitrógeno amoniacal

La digestión de las proteínas está relacionada con su solubilidad dentro del rumen, cuando la solubilidad es menor, disminuye la liberación de amoniaco, y por lo tanto, la síntesis de proteína microbiana se ve limitada por la deficiencia de este compuesto (Pérez-Gavilán, *et al.*, 1976).

Distintas fuentes de nitrógeno contribuyen a la producción de amoniaco ruminal: el nitrógeno no proteico (NNP) de la dieta, nitrógeno salival y posiblemente pequeñas cantidades de urea que penetran al rumen a través de sus paredes, todas estas son convertidas casi totalmente a amoniaco; dependiendo del tipo de dieta suministrada a los rumiantes, los microorganismos ruminales, convierten a amoniaco el 60-90% de nitrógeno diario consumido, y del 50-70 % del nitrógeno bacteriano puede ser derivado del amonio de la dieta (Satter y Roffler, 1977; Mathison y Milligan, 1971; Tamminga, 1979). El metabolismo del nitrógeno parece depender del contenido de nitrógeno de la dieta basal (Moloney y Drennan, 1994).

La concentración óptima de nitrógeno amoniacal ( $N-NH_3$ ) en rumen, es aquella que resulta en la máxima tasa de fermentación o la máxima tasa de producción de proteína microbiana por unidad de sustrato fermentado (Mehrez *et al.*, 1977), en estudios realizados *in vitro* se encontró que la concentración de amoniaco requerida para una máxima síntesis de proteína de origen microbiano por unidad de sustrato fermentado, es de 5 a 6 mg/dl en rumen, sin embargo en estudios *in vivo* se encontró una variación de

8.8 a 28.9 mg/dl de amoniaco en el líquido ruminal. Las bacterias tienen un crecimiento satisfactorio cuando la concentración de nitrógeno amoniacal es de 5 mg/dl en el fluido ruminal, esta es la cantidad mínima de amoniaco necesario para soportar un crecimiento microbial máximo (Satter y Roffler, 1977); la concentración de nitrógeno amoniacal ruminal puede variar de 0.8 a 56.1 mg/100ml de fluido ruminal, incrementándose con el porcentaje de proteína degradable. Rogers *et al.* (1986) mencionan que la concentración de amoniaco en rumen más adecuada para el crecimiento y la síntesis de proteína microbial es de 9.0 mg/dl.

Chalupa (1977) menciona que el contenido de proteína de las bacterias es mayor que para los protozoarios (55 vs 38%) sin embargo, la mayor digestibilidad se observa en los protozoarios (66 vs 88%), lo que provoca que el contenido de proteína digestible sea equivalente (36.3 vs 33.4%), así como el valor biológico (77 vs 78%). En contraposición la utilización neta de la proteína de los protozoarios es superior (55 vs 67).

El contenido duodenal formado por muestras obtenidas a diferentes horas durante el día, presenta una concentración de nitrógeno que es difícil de evaluar, debido a que las poblaciones de microorganismos son variables y además a otros factores como la digestibilidad de la ración, la proporción de aminoácidos a ácidos nucleicos y la composición de los aminoácidos de la dieta. Las células microbiales proveen el 40-80 % de los aminoácidos que llegan al duodeno (Erasmus, 1991).



### 1.1.12. Digestibilidad ruminal

El análisis de la digestibilidad de los alimentos es de gran importancia, ya que existen diferentes moléculas que son fácilmente absorbibles y otras que son resistentes a la degradación (Minson, 1982). En dietas a base de pajas más del 60% de la digestión se lleva a cabo en el rumen (Jouany, 1994). El porcentaje de digestión de un ingrediente depende de dos factores importantes: 1) la cantidad de ingrediente y 2) las propiedades intrínsecas del mismo. La tasa de digestión es la interpretación de las curvas de la degradación acumulativa y se refiere a la cantidad de alimento que puede ser digerido por unidad de tiempo (Singh *et al.*, 1992). Las pruebas de digestibilidad se pueden realizar por varios métodos: digestibilidad verdadera, aparente, con marcadores, por diferencia (Church y Pond, 1987). Ushida *et al.*, (1990) mencionan que los efectos positivos de los protozoarios sobre la digestión de la pared celular son más marcados en dietas suplementadas con almidón, con cierta disminución en la digestión de los carbohidratos de la pared celular. Los protozoarios tienen mayor efecto sobre la digestión de la hemicelulosa en comparación con la celulosa (+53 para hemicelulosa vs +23 % celulosa). La cantidad de FDN en el forraje no está directamente relacionada al contenido de FDN degradable en rumen, los factores físicos y químicos que limitan la digestión de la pared celular de los forrajes pueden ser diferentes a los asociados con los granos.

El efecto del forraje sobre la tasa de pasaje puede ser benéfico en raciones con alto contenido de concentrados, cuando los granos presentan una fermentación rápida, ya que

se puede reducir la producción de ácidos y los riesgos de acidosis; por otro lado los cambios en la tasa de pasaje pueden ser perjudiciales en los granos de fermentación lenta reduciendo con ello la digestibilidad ruminal (Stock, 1988).

#### 1.1.13. Utilización de marcadores para evaluar la digestibilidad

Entre los principales marcadores usados para caracterizar a la fase líquida se encuentra el polietilenglicol (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  $Cr_2O_3$  (Aguilera, 1988; Thewis *et al.*, 1979 y Wilkinson y Prescott, 1970). Los marcadores pueden administrarse continuamente a una tasa constante y/o en una sola dosis, sin embargo, se debe considerar que la fermentación ruminal tiene características tanto de un sistema cerrado como uno continuo; en un sistema continuo la masa fermentada, el flujo y los residuos alimenticios que abandonan el rumen son equivalente a los que entran. El rumen varía del modelo de fermentación continuo, ya que el alimento consumido por el animal, el volumen, la tasa de secreción y la tasa a la cual sale el material del rumen no son constantes (Hungate, 1966). Así se tiene que a bajas tasas de dilución ruminal (principalmente con una alimentación alta en fibra), la fermentación ruminal generalmente se asemeja a un cultivo cerrado y la eficiencia del rendimiento celular es relativamente baja y constante. Por otro lado, con granos que presentan altas tasas de dilución, la fermentación ruminal se asemeja a un cultivo continuo, la cual presenta como característica altas tasas de eficiencia energética para la síntesis de proteína microbiana (Aguilera, 1988; y Bergen *et*

al., 1979), por lo tanto un sistema de fermentación continuo puede ser adecuado en describir la tasa de dilución o de recambio, el volumen, la tasa de flujo y el tiempo de retención. Coleman 1986 mencionan que el volumen ruminal es equivalente a 5 litros en ovinos.

#### 1.1.14. Respuestas al uso de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de rumiantes

Andrighetto *et al.*, (1993) llevaron a cabo un experimento con el objetivo de investigar los efectos de la adición del cultivo de levaduras sobre el consumo de alimento, fermentación ruminal, digestibilidad y tasa de pasaje de sólidos y líquidos; se utilizaron ovinos en tres categorías: seis carneros castrados, tres ovejas y tres morruecos. Los componentes principales de las dietas fueron cebada, pulpa seca de remolacha azucarera y harina de soya. Presentaron un contenido de proteína de 22.4% y FDN 26.7%. Cada grupo recibió la dieta basal suplementada con: 20 (Y20) y 40 (Y40) g/cabeza/d de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, comparando las respuestas con el grupo testigo (Y0). Encontraron que el consumo de materia seca se incrementó ( $P < .06$ ) en los tratamientos con levadura, con valores de 1370, 1661 y 1490 para los tratamientos Y0, Y20 y Y40, respectivamente. En el mismo orden de tratamientos, el pH ruminal disminuyó ( $P < .05$ ) en los tratamientos con levadura (6.44, 6.08 y 6.13 respectivamente). La concentración de ácidos grasos volátiles totales (mmol) aumentó ( $P < .05$ ) con la dosis: 97.7, 108 y 111.7, para 0, 20 y 40 g/d respectivamente; las proporciones de ácido acético y propiónico no se afectaron ( $P > .05$ ). No hubo diferencias en digestibilidad ruminal de la FDA, FDN, proteína y MO.

Drennan y Moloney (1993) llevaron a cabo una serie de experimentos con el objetivo 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 adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*, Yea-Sacc  $5 \times 10^6$  organismos/g) fue a razón de 0 y 10 g/cabeza/d, en toros de 315 kg de peso vivo (PV) alimentados con ensilado de gramíneas *ad libitum* más 3.8 kg de cebada. Reportaron que no se produjeron modificaciones sobre el consumo de alimento o las características de la canal, sin embargo, incrementó ( $P < .05$ ) el promedio de ganancia diaria (1.18 vs 1.11 kg/d) y se mejoró la eficiencia de la conversión alimenticia (6.92 vs 6.57 kg de MS consumida/kg de ganancia diaria). En el experimento II proporcionaron 0 y 15 g/cabeza/d de la misma levadura a toros de 310 kg de PV, alimentados con ensilado de gramíneas *ad libitum* más 3.5 kg de concentrado que incrementaron a 4.5 kg en la última etapa. En el experimento III utilizaron 0 y 15 g/cabeza/d de la misma levadura en terneras de 271 kg de PV alimentadas con ensilado de gramíneas *ad libitum* más 0.86 kg de concentrado en base seca. En los últimos experimentos no se encontró efecto ( $P > .05$ ) de la levadura sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, eficiencia de la conversión alimenticia o las características de la canal.

Flachowsky *et al.* (1993) realizaron dos experimentos, el primero con tres carneros castrados y cabras, alimentados con una dieta rica en concentrado: (concentrado 700 g, rastrojo de trigo picado 200 g), o dieta con forraje: (ryegrass secado artificialmente 700 g, rastrojo de trigo picado 200 g) adicionada con Yea-Sac en 0, 1, 2, y 4 g/cabeza/d. En el segundo experimento utilizaron carneros castrados alimentados con ryegrass secado

artificialmente (1000 g) y concentrado (200 g); y tres cabras consumiéndolo ryegrass (750 g) y concentrado (150 g); además de esta dieta recibieron 0, 0.5, 1 y 2 g /cabeza/d del cultivo Levaferm (*Aspergillus oryzae*). El objetivo fue determinar los cambios en la digestibilidad de la fibra por efecto del aditivo. Se incubaron bolsas de nylon con rastrojo de trigo tratado con amonio y gramíneas secadas artificialmente en el experimento 1; en el experimento 2 rastrojo de trigo y gramíneas secadas artificialmente, con tiempos de incubación de 6, 12, 24, 48 y 72 h. Encontraron que a mayor cantidad de Yea-Sacc disminuyó ( $P < .05$ ) la degradabilidad *in situ* de la MS en las dietas ricas en concentrado (experimento 1) con valores de 55.1, 47.1, 46.1 y 44.5% para los tratamientos con 0, 1, 2 y 4 g de levadura, en relación a las dietas de forrajes los valores fueron 58.7, 56.3, 55.0 y 54.1%. Levaferm no influyó ( $P > .05$ ) la degradabilidad *in situ* de la MS (media global de los tiempos de incubación de 24, 48 y 72 h) con valores de 64.0, 64.9, 64.9 y 64.2% para ovinos, y de 63.0, 63.2, 63.2 y 61.6% en cabras para los tratamientos con levadura 0, 0.5, 1 y 2 g/cabeza/d. Así mismo en ambos experimentos el pH ruminal, concentración de ácidos grasos volátiles y concentración molar de los ácidos grasos en el fluido ruminal no fueron afectados ( $P > .05$ ) por la adición de la levadura.

En otra investigación Gedek *et al.* (1993) alimentaron vacas con una dieta compuesta de 15% de heno, 25% de ensilado de gramíneas, 20% de ensilado de maíz y 40% de concentrado (cebada y frijol soya), con y sin la adición de levadura (BIOSAF Sc 47; 10

g de cultivo =  $5 \times 10^{10}$  UFC/vaca/d). El objetivo fue medir algunos parámetros ruminales. La media no mostró diferencias en los parámetros de la fermentación: pH=6.30, amoniac=8.7 mmol/l, concentración de AGV= 107 mmol/l; los porcentajes relativos de acético, propiónico y butírico fueron de 65.1, 20.0 y 11.3 respectivamente. En rumen el contenido de células de levaduras viables en los animales tratados fue más alto ( $P < .05$ ) que para los no tratados, con valores de  $10^5$  vs  $1.6 \times 10^2$  UFC/ml, correspondiendo a el número de células presentes en el alimento. BIOSAF Sc 47 incrementó ( $P < .05$ ) el conteo de bacterias gram- en el contenido ruminal ( $2.0 \times 10^5$  vs  $1.6 \times 10^4$  UFC/ML) e incrementó ( $P < .05$ ) el contenido de gram- en las heces ( $1.1 \times 10^4$  vs  $2.6 \times 10^3$  UFC/ML). Concluyeron que BIOSAF Sc 47 estimula el crecimiento de bacterias amilolíticas a nivel ruminal.

Mpofu y Ndlovu, (1994) diseñaron un experimento *in vitro* utilizando líquido ruminal de novillos Hereford con peso vivo promedio de 650 kg, el objetivo de este estudio fue probar la eficacia de los aditivos microbianos, específicamente al hongo de la pudrición blanca (*Armillaria heimii*) y el cultivo de levaduras (*S. cerevisiae*) para mejorar la utilización de la fibra de los forrajes en rumiantes, las dietas experimentales fueron: 1) heno de pradera picada (principalmente *Hyparrhenia filipéndula*), 2) heno de gramínea rhodes Katambora (*Chloris gayana*), 3) heno de pradera suplementada con harina de soya y 4) heno de leguminosa (*Phaseolus vulgaris*). El contenido de FDN fue de 79.0, 68.3, 55.9 y 70.7% respectivamente. Los tratamientos consistieron de: 1) dieta basal sin

suplementos microbianos, ii)dieta basal más 20 mg de granulos de levadura ( $5 \times 10^9$  UFC/g, cepa 1026), iii) dieta basal más 20 mg de extracto de la fermentación de la pudrición blanca y iv) dieta basal más 10 mg de granulos de levadura más 10 mg de extracto de la pudrición blanca. La digestibilidad *in vitro* de la FDN incrementó ( $P < .05$ ) en los tratamientos microbianos. La combinación de la levadura y extracto mostró los valores más altos 59.6% para heno; 78.2% para heno-soya; 70.3% para heno de Katambora y 72.2% para heno de leguminosa, comparados con los grupos testigo (30.5, 69.2, 43.8 y 47.9% respectivamente). El tratamiento fungal incrementó ( $P < .05$ ) la degradabilidad de la FDN en relación al tratamiento con levaduras: 50.9% vs 45.8% para heno de praderas; 75.2% vs 73.7% para heno de praderas más soya; 63.6% vs 57.5% para heno de katambora y 64.4% vs 58.0% para heno de leguminosas. En otro estudio *in vivo* utilizaron 16 carneros castrados en cuatro tratamientos: i) heno de pradera, ii) heno de pradera más granulos de levadura, iii) heno de pradera más extracto de fermentación de la pudrición blanca y iv) heno de pradera más la combinación de granulos de levadura y extracto de la fermentación de la pudrición blanca. Los tratamientos microbianos incrementaron ( $P < .05$ ) el consumo de MS, energía metabolizable y DFDN del heno de pradera con valores respectivos de 0.786 kg/d, 4.47 MJ/d y 43.8% en levaduras; 0.748 kg/d, 4.64 MJ/d y 49.2% en hongos; y 0.889 kg/d, 6.69 MJ/d y 58.05% en la combinación. El testigo presentó valores de 0.742 kg/d, 3.55 MJ/d y 37.4% respectivamente. La combinación de levadura y el hongo mejoran la digestibilidad del forraje.

Mir y Mir, (1994) 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, utilizaron un cultivo de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*,  $5 \times 10^9$  organismos vivos/g del medio de crecimiento), 10 g/novillo/d, en tres dietas: 1) 75% de ensilado de alfalfa y 25% de cebada; 2) 96% de ensilado de maíz y 4% de pasta de soya y 3) 75% de cebada rolada seca y 25% de heno de alfalfa; estas tres dietas fueron adicionadas (Y) o sin adicionar (C) levadura; Encontraron que en el primer año la eficiencia alimenticia de la dieta con ensilado de maíz fue más baja ( $P < .05$ ) para el grupo testigo en relación con la suplementación con Y (5.9 vs 6.8). No se observaron diferencias ( $P > .05$ ) entre los novillos de los grupos C y Y en ninguna de 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 de levaduras no presentó efecto ( $P > .05$ ) positivo sobre la utilización del alimento ni en las características de la canal.

Zeleňák *et al.* (1994) estudiaron el efecto de la suplementación de Yea-Sacc (Yea-Sacc<sup>1026</sup>, 108 células vivas/g), adicionado a los fermentadores RUSITEC 0.5 g/L sobre los productos de la fermentación ruminal. En el experimento 1, las dietas evaluadas fueron: 1) 80% heno de madera y 20% de cebada, 2) 50% heno de madera y 50% de cebada, y 3) 65% de heno de madera, 20% de cebada y 15% de aserrín. Se demostró que la suplementación de Yea-Sacc en las dietas 1 y 2, incrementó ( $P < .01$ ) la



digestibilidad de la hemicelulosa. En la dieta 3 la adición de levadura disminuyó ( $p < .05$ ) la digestibilidad de la materia seca, FDN, FDA, hemicelulosa y celulosa. La síntesis microbiana se incrementó con la dieta 1 y 3. No se observaron diferencias significativas en pH, nitrógeno amoniacal y producción de gas.

Crosby (1995) evaluó el efecto de diferentes dosis de levadura Yea-Sacc<sup>1026</sup> (*Saccharomyces cerevisiae*) en dietas a base de rastro de maíz, utilizó dosis de 0, 1, 3, 5 y 7 g/animal/día, suministrados por vía intraruminal, se utilizaron 14 borregos fistulados en rumen y duodeno con un peso vivo de 35 kg. La dieta utilizada fue integrada por maíz (65%), sorgo (23.5%), melaza (10.2%) y urea (1.3%); se evaluó algunos parámetros ruminales. Concluyendo que no existe respuesta al cultivo de levadura (Yea-Sacc<sup>1026</sup>) sobre la fermentación y digestibilidad ruminales debido a que no encontró efecto ( $P > .05$ ) sobre el pH ruminal, N-NH<sub>3</sub>, tasa de fracción de flujo, volumen ruminal, concentración de ácidos grasos totales, y la digestibilidad total aparente de la materia seca, FDA, FDN, sin embargo, en el conteo de organismos obtuvo una respuesta cuadrática ( $P < .001$ ) en los tratamientos con 0, 1, 3, 5 y 7 con valores de 5.31, 9.6, 11.47, 8.92, 4.06 y 9.39 protozoarios  $\times 10^4$ /ml respectivamente. Posiblemente existan algunos factores que no han sido completamente identificados, que causan modificación en los ciliados ruminales.

Huber *et al.*, (1989) investigaron la respuesta en producción de leche por efecto de *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc) en vacas en lactación, utilizaron 10 g de Yea-

Sacc por día, mezclado con 227 g de alimento. La ración total contenía ensilado de alfalfa, heno de alfalfa, semilla de algodón entera y concentrado. En todas las vacas que recibieron levadura (ajustado por análisis de covariable por la producción de leche antes del tratamiento). La producción de leche fue más alta ( $P < .05$ ) que para en el testigo (29.7 vs 28.7 kg/día). La leche corregida a grasa (3.5%) fue más alta ( $P < .07$ ) con levadura (29.2 vs 28.4 kg/día), mientras que el conteo de células ( $226 \times 10^3$  vs  $284 \times 10^3$ ) y el porcentaje de proteína en la leche (2.85 vs 2.91%) fueron más bajos ( $P < .01$ ) y ( $P < .07$ ) que en el grupo de vacas testigo.

Plata *et al.* (1994) estudiaron al cultivo de levaduras Saccharomyces cerevisiae adicionada en 0 o 10 g/anim/d en dietas con 40, 60 y 80 % de paja de avena en base seca. Se utilizaron novillos con un PV de 251 kg. Encontraron que al incrementar el nivel de paja de avena, la digestibilidad *in situ* de la FDN (72 h de incubación) se incrementó ( $P < .01$ ) linealmente (37.9, 58.2 y 67.6%), existió una tendencia a incrementar ( $P < .08$ ) la digestibilidad *in situ* con la adición de Levadura en relación al grupo testigo (48.6 vs 60.45 %). La concentración de ácidos grasos volátiles no se afectó ( $P > .05$ ) por los tratamientos; sin embargo el porcentaje molar de acetato se incrementó ( $P < .01$ ) con los niveles de paja (54.6%, 59.6% y 63.3%) y no se afectó ( $P > .05$ ) con la adición de levadura (60.3 vs 58.0%), el porcentaje molar de propionato fue menor ( $P < .01$ ) en los niveles de paja de avena (22.3%, 19.2% y 16.2%) sin afectarse ( $P > .05$ ) por la adición de la levadura (20.7 vs 22.2%). La población de protozoarios organismos/ml se incrementó ( $P < .01$ ) con los

niveles de paja de avena (205802, 413329 y 274415), y se incrementó ( $P < .01$ ) por la adición de la levadura (254135 vs 341763). El consumo de materia seca mostró respuesta cuadrática ( $P < .05$ ) a los niveles de paja de avena (8.7, 9.1 y 7.5 kg/d), Sin embargo no se afectó ( $P > .05$ ) por la suplementación de levadura.

Kumar *et al.* (1994) evaluaron el efecto de la inclusión de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc<sup>1026</sup>), sobre algunos parámetros de la fermentación ruminal y la digestibilidad *in situ*; adicionado en 0 y 5 g/animal/d, en una dieta con un alto contenido en concentrado a seis búfalos jóvenes (*Bubalus bubalis*). La dieta consistió en 0.90 kg de rastrojo de trigo, 1.0 kg de trébol de alejandría (*Trifolium alexandrinum*) y 1.8 kg de concentrado/animal al día. 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 total, bacterias viables total, celulolíticas, amilolíticas y protozoarios se incrementaron en el grupo con levadura. La concentración de ácidos grasos volátiles total, acetato y propionato y la proporción acetato-propionato en el grupo con cultivo de levaduras, fue numéricamente más alto comparado con el grupo testigo. Sin embargo en este estudio no se muestra la probabilidad de error tipo I.

Moloney y Drennan (1994) estudiaron el efecto de la inclusión del cultivo de levaduras (Yea-Sacc) a la dieta, ofreciendo 0 o 10 g/anim al día: utilizando dietas de baja calidad (B): 4 kg de paja de cebada más 8 kg de cebada-pasta de soya; y dietas de

alta calidad (A): 2 kg de paja de cebada más 8 kg de cebada-pasta de soya. El pH ruminal, porcentaje de flujo, proporción molar de acetato y la proporción de acetato a propionato disminuyeron ( $P < .001$ ) y la concentración total de ácidos grasos, amoniaco, nitrógeno bacterial y la proporción molar de butirato e isoácidos se incrementaron ( $P < .001$ ) en la dieta A. La concentración de amonio ruminal no se afectó cuando se incluyó levadura en la dieta B pero se redujo ( $P < .05$ ) cuando se adicionó a la dieta H. En un segundo experimento la digestibilidad de la MS, MO y PC se incrementaron ( $P < .001$ ); y la FDA se incrementó ( $P < .05$ ) en la dieta B comparada con la dieta A. La digestibilidad de la PC disminuyó ( $P < .05$ ) por efecto del cultivo de levaduras en la dieta B, pero no se modificó en la dieta A. Concluyeron que la inclusión del cultivo de levaduras, tuvo una influencia muy pequeña sobre los parámetros de la fermentación ruminal y en la digestibilidad *in vivo*, pero su efecto sobre el metabolismo del nitrógeno pareció depender del contenido de nitrógeno de la dieta basal.

Avendaño *et al.* (1995) realizaron un estudio con borregos criollos en crecimiento alojados en jaulas metabólicas, a los que proporcionaron de la siguientes manera: T1) 65% de rastrojo de maíz, 23.5% de grano de sorgo, 10.2% de melaza, 1.3 % de urea, sin levadura; T2) T1 + (Yea-Sacc 5 g/animal); T3) 85% de rastrojo de maíz, 10% de grano de sorgo, 4.5% de melaza, 0.5% urea, sin levadura y T4) T3 + (Yea-Sacc 5 g/animal). Utilizaron un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial de tratamientos  $2 \times 2$ , (65 u 85% rastrojo de maíz y 0 o 5 g Yea-Sacc/borrego/d). En dietas con 85 % de

rastrajo disminuyó ( $P < .05$ ) la digestibilidad aparente de MS (56.8 vs 61.8%), en tanto que Yea-Sacc no mostró efecto ( $P > .05$ ). El pH ruminal se incrementó ( $P < .01$ ) en borregos con dietas de 85% de rastrojo (7.04 vs 6.85) pero disminuyó ( $P < .01$ ) en los que recibieron Yea-Sacc (6.92 vs 6.98); la concentración de  $N-NH_3$  no se modificó ( $P > .05$ ). En los borregos alimentados con 85% de rastrojo disminuyó ( $P < .01$ ) el CMS (902 vs 1,094 g), la GDP (67 vs 101g), y la deposición de grasa (2.2 vs 4.9 kg en la canal). La adición de Yea-Sacc no causó ( $P > .05$ ) cambios en estas variables. Por lo que concluyeron que un nivel alto (85%) de rastrojo de maíz disminuye el valor nutritivo de dietas para borregos en crecimiento, y que no hay efecto al agregar un cultivo de levaduras (Yea-Sacc).

Corona *et al.*, (1995) realizaron un experimento con el objetivo de evaluar dos cultivos microbianos a base de Saccharomyces cerevisiae: (Yea-Sacc<sup>1026</sup> "YS" y Levucell "LC") en concentraciones similares  $3 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias/g sobre la degradación *in situ* de la materia seca (DMS) y la fibra detergente neutro (DFDN). Se asignaron 11 borregas fistuladas ruminalmente (29 kg PV) asignadas en un diseño completamente al azar con tres tratamientos T1: dieta base (DB), T2: DB + 3 g/d YS ( $1 \times 10^8$  UFC/g) y T3: DB + 0.015 g/d LC ( $20 \times 10^9$  UFC/g), administrados intraruminalmente. La dieta estuvo compuestas en base seca de Rastrojo de maíz (65.5%), sorgo (23.5%), melaza (8.6%) y urea (1.4%). Se colocaron muestras de 4 g de rastrojo molido (3mm) en bolsas de polyseda (15 x 7.5 cm) por 12, 24, 48 y 72 h de incubación. Se analizaron los resultados por el procedimiento de mediciones repetidas y las medias se evaluaron por contrastes

ortogonales. No se afectó ( $P > .05$ ) la DMS de los cultivos comparados con el testigo, sin embargo a las 72 h YS incrementó ( $P < .05$ ) la DMS con respecto a LC (63.12 vs 51.58% respectivamente). Se observó una tendencia ( $P > .05$ ) a presentar mayor DFDN en los cultivos comparados con el grupo testigo. Concluyeron que los cultivos de levadura modifican la DMS y DFDN, sin embargo estos efectos se observan de acuerdo a las características propias de cada cultivo de levaduras.

Herros *et al.* (1995) realizaron una prueba de comportamiento con 18 terneras de la raza Holstein (92 kg PV), donde los tratamientos fueron los siguientes T1) 20% melaza (M); T2) 20% M + monensina sódica (MSca); T3) 20% M + *Saccharomyces cerevisiae* (YS); T4) 40% M; T5) 40% M + MSca; y T6) 40% M + YS. Encontraron que la ganancia diaria de peso fue de 698, 907, 866, 821, 816 y 600 g/d; la eficiencia alimenticia 164, 187, 188, 194, 188 y 126 g de ganancia/kg de alimento consumido, con respecto al consumo voluntario de alimento obtuvieron 4.21, 4.93, 4.68, 4.20, 4.43 y 4.92 kg de alimento por día y para la conversión alimenticia de 6.82, 5.52, 5.64, 4.22, 6.62 y 9.24 kg de alimento consumido/kg de ganancia para los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 Y T6 respectivamente. Encontraron diferencias significativas ( $P < .05$ ) para la variable conversión alimenticia en las interacciones melaza-periodo, aditivo-periodo ( $P < .01$ ). Para la ganancia diaria de peso existieron diferencias ( $P < .05$ ) en la interacción melaza-periodo y en el periodo ( $P < .01$ ). Concluyeron que los valores estimados confirman una respuesta significativa en el comportamiento animal con el empleo de aditivos.

Angeles *et al.*, (1995) realizaron dos trabajos con el objeto de evaluar dos cultivos microbianos a base de Saccharomyces cerevisiae (Yea-Sacc<sup>1026</sup> "YS", y Levucell "LC". En ambos estudios la dieta estuvo compuestas en base seca de rastrojo de maíz (65.5%), sorgo (23.5%), melaza (8.6%) y urea (1.4%). En el primer trabajo los tratamientos consistieron de T1) testigo (dieta base "DB" sin cultivo), T2) DB + 3 g/d YS ( $1 \times 10^8$  UFC/g) y T3) DB + 1 g/d LC ( $20 \times 10^9$  UFC/g), administrados ruminalmente. En el segundo estudio los tratamientos T1) testigo (DB), T2) DB + 3 g/d YS y T3) DB + 0.015 g/d LC, administrados intraruminalmente. El valor de pH ruminal fue menor ( $P < .01$ ) en los grupos que recibieron levadura (6.2 YS y 6.3 LC) con respecto al control (6.5), no hubo diferencias ( $P > .05$ ) entre levaduras. La concentración de nitrógeno amoniacal no se afectó ( $P > .05$ ) entre los grupos con levadura y el testigo, pero se observó un incremento ( $P < .05$ ) de YS con respecto a LC (11.59 vs 9.32 mg/dl). Los cultivos de levadura no alteraron ( $P > .05$ ) las concentraciones de protozoarios totales. Concluyeron que las modificaciones al metabolismo ruminal son distintas según el tipo de cultivo de levadura y se requiere mayor investigación, ya que la información en las presentaciones comerciales en algunos casos no indican si se trata de la misma o diferente cepa de Saccharomyces cerevisiae.

Se evaluó el efecto de la suplementación del cultivo de levaduras Yea-Sacc, sobre algunos parámetros de producción, fermentación ruminal, flujo de N a duodeno y la

digestibilidad *in situ*, (Erasmus *et al.*, 1992); se utilizaron 6 vacas lecheras con cánula ruminal y duodenal, con una dieta alta en concentrado. Los tratamientos fueron: 1) Dieta basal y 2) dieta basal + 10 g/día de Yea-Sacc. El diseño experimental fue completamente al azar. Se incrementó ( $P < .05$ ) el consumo de materia seca por la acción de las levaduras. No se afectó ( $P > .05$ ) la producción y composición de la leche, así como los distintos parámetros ruminales y tampoco la digestibilidad *in situ*; sin embargo la concentración de ácido láctico disminuyó ( $P < .05$ ) en el tratamiento con levadura. Se incrementó ( $P < .05$ ) la digestibilidad aparente de la proteína cruda y la digestibilidad aparente de la FDA por la acción de las levaduras. Se observó un incremento ( $P < .05$ ) tanto en la cantidad como en el flujo de algunos aminoácidos a duodeno.

### 1.2. Justificación

México es un país donde se cultiva caña de azúcar en grandes proporciones, y por lo tanto se obtienen grandes cantidades de esquilmos agrícolas (47.73% de punta de caña) y otros subproductos agroindustriales (Noa, 1991 e INEGI, 1994).

Aún cuando no se encontraron estudios sobre el efecto de *S. cerevisiae* en dietas con punta de caña resultados de la investigación en otros forrajes, realizados por Harris y Lobo (1988), Williams (1989), Mutsvangwa *et al.* (1992), en el ganado incluyen incrementos en el consumo de alimento, sin embargo Drennan y Moloney (1993) no encontraron efecto sobre el consumo de alimento; Hoyos *et al.* (1987), Teh *et al.* (1987) han observado incrementos en la producción de leche. En otros estudios Greive (1979),



Adams *et al.* (1981), Fallon y Harle (1987) y Mutsvangwa *et al.* (1992) han observado incrementos en la ganancia de peso y conversión alimenticia, sin embargo Drennan y Moloney (1993) no observaron incrementos en ganancia de peso ni en la conversión alimenticia. Las investigaciones de Teh *et al.* (1987), Wiedmeier *et al.* (1987), Harrison *et al.* (1987) y Williams (1988), muestran cambios en la concentración de ácidos grasos volátiles. Por otra parte, en los estudios de Chademana y Offer (1990), no se han observado estos cambios en ácidos grasos volátiles. Harrison *et al.* (1988) observaron cambios en pH ruminal y en la concentración de amoníaco, sin embargo Adams *et al.* (1981) y Wiedmeier *et al.* (1987) mencionan que este efecto no fue consistente. Además se indican incrementos significativos en la cantidad y actividad de las bacterias anaeróbicas celulolíticas (Wiedmeier *et al.*, 1987; Harrison *et al.*, 1988; Dawson *et al.* 1990), que podrían explicar el incremento sobre la digestibilidad de la dieta (Wiedmeier *et al.*, 1987; Gómez-Alarcón *et al.* 1987).

Las investigaciones realizadas en el país en los últimos dos o tres años, plantean que no todas las cepas de levadura tienen el mismo efecto sobre los diferentes sistemas de producción animal; las diferentes respuestas con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y las interacciones que se producen probablemente con respecto al tipo de dieta, presentan nuevas oportunidades, así como nuevos problemas para definir las modificaciones que causan al metabolismo ruminal, las diferentes cepas de cultivos de levadura (Dawson, 1992). En base a lo anterior se plantan los siguientes objetivos.

### 1.3. Objetivos

Evaluar el efecto de la adición de Saccharomyces cerevisiae sobre la digestibilidad in situ de la punta de caña.

Evaluar el efecto de la adición de Saccharomyces cerevisiae sobre la población de protozoarios ruminales, flujo de nutrientes a duodeno y la digestibilidad ruminal de la MS, MO, FDN y FDA de la dieta.

Evaluar el efecto de la adición de Saccharomyces cerevisiae sobre la concentración de ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal y pH del líquido ruminal, relacionados con los cambios en la población de protozoarios ruminales y el flujo de las fracciones líquida, sólida y de aminoácidos.

### 1.4. Hipótesis

La adición de Saccharomyces cerevisiae en dietas para ovinos incrementa la digestibilidad in situ de la punta de caña.

La adición de Saccharomyces cerevisiae incrementan la población de protozoarios ruminales, el flujo de nutrientes a duodeno y la digestibilidad ruminal de la MS, MO, FDN y FDA de la dieta.

La adición de Saccharomyces cerevisiae incrementa la concentración de ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal y pH del líquido ruminal.

## **II MATERIAL Y METODOS**

### **2.1 Ubicación Geográfica del Area de Estudio**

La presente investigación se llevó a cabo en la granja experimental del Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados ubicado en el kilómetro 35.5 de la carretera México- Texcoco, localizado Geográficamente a los 98°53' longitud Oeste, 19°20' latitud Norte con una altitud de 2250 msnm, con una precipitación media anual de 700-800 mm, con regimen de lluvias en verano, y una temperatura media anual de 18°C. Los análisis de las muestras se realizaron en los Laboratorios del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica y el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, así como en el Departamento de Biotecnología, y la Unidad de Aminoácidos del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

### **2.2 Descripción de los Animales**

Se utilizaron cuatro borregas adultas de la raza Suffolk, con un peso aproximado de 30 ± 3 kg con cánula ruminal y duodenal, las cuales estuvieron alojadas en jaulas metabólicas individuales.

En el primer período de muestreo, la borrega con la dieta basal correspondiente al tratamiento testigo debido a que se le desprendió la canula ruminal, fue cambiada por otra borrega que se tenía de reserva (consumiendo la misma dieta), sin embargo ésta última presentó un consumo menor que los otros dos animales.

### 2.3 Dieta Experimental

Se ofreció una dieta a base de punta de caña (50 %), sorgo (21 %), urea (2 %), melaza (12 %) y salvado de trigo (15 %) en base seca, en el Cuadro 1 se muestra la composición química de la dieta ofrecida.

Cuadro 1. Composición química de la dieta experimental

componentes	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	9.77	00.0
Materia seca	90.23	100.0
Proteína	11.47	12.72
(N x 6.25)		
Cenizas	7.63	8.46
FDN <sup>1</sup>	62.57	69.35
FDA <sup>2</sup>	28.45	31.53

<sup>1</sup> FDN = Fibra detergente neutro

<sup>2</sup> FDA = Fibra detergente ácida

### 2.4 Distribución de Tratamientos y Periodos

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

T1: dieta experimental sin levadura

T2: dieta experimental más Saccharomyces cerevisiae (Yea-Sacc<sup>1026</sup> 20 x 10<sup>9</sup> UFC/g), 3 g/d intraruminal

T3: dieta experimental más Saccharomyces cerevisiae (Levucell 1 x 10<sup>8</sup> UFC/g), 1 g/d intraruminal

En cada período experimental existió un período de adaptación de 12 días y un período de muestreo de cuatro días, el programa de muestreo se puede observar en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Programa de muestreo en rumen, duodeno y heces

Hora	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
0:00	☆*			
2:00		☆*		
4:00	*		☆	
6:00		*		☆
8:00	☆*			
10:00		☆*		
12:00	*		☆	
14:00		*		☆
16:00	☆*			
8:00		☆*		
20:00	*		☆	
22:00		*		☆

☆: Muestreo de duodeno y heces

\*: Muestreo de rumen

## 2.5 Metodología

### 2.5.1. Alimentación de los animales

Las borregas utilizadas se alimentaron a libre acceso en el período de adaptación y mostraron un consumo de  $1.321 \pm 0.266$  kg/d. En el período de muestreo el consumo de alimento se restringió al 90%, con el objetivo principal de evitar diferencias en la tasa de pasaje, consumo de alimento y en la eficiencia del crecimiento microbiano. El alimento se ofreció dos veces al día (8:00 y 17.00 h).

A los animales en estudio se les ofreció una premezcla mineral (Rumisal del Instituto Agrobioquímico) a libre acceso, tanto en los periodos de adaptación como en la fase experimental ingirieron  $25 \pm 5$  g/animal/día, la composición química de la premezcla fue la siguiente: 50 g P, 130 g Ca, 109 g Na, 200 g Cl, 3.33 g Mg, 200 mg Mn, 80 mg Zn, 4.3 g Fe, 80 mg Cu, 4 mg I y 66.6 mg Co, cbp 1 kg. Se ofreció agua a libre acceso.

#### **2.5.2. Conteo de UFC y adición de las levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**

El conteo de unidades formadoras de colonias se llevó a cabo utilizando 1 g de cada uno de los cultivos (Yea-Sacc<sup>1026</sup> y Levucell) mezclados con 10 ml de solución fisiológica salina estéril (SSF) al 8.5%, a un pH de 7; se mezcló 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 realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de las diluciones en las que fué 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).

Los cultivos de levadura utilizados fueron: *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-sacc<sup>1026</sup> 20 x 10<sup>9</sup> UFC/g de cultivo, de Alltech's, Biotechnology Center Nicholasville, Kentucky)

y *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell 1 X 10<sup>8</sup> UFC/g de cultivo, Agrimerica, Northbrook, Illinois).

Los cultivos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* se administrarán a través de la cánula ruminal una vez al día (8:00 AM) envueltos en papel filtro Whatman # 1, en dosis de 0, 3 y 1 g/anim al día en los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> Y T<sub>3</sub> respectivamente tanto en los periodos de adaptación como de muestreo.

### 2.5.3. Adición del marcador óxido de Cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

Para evaluar la digestibilidad ruminal se utilizó óxido de cromo (según la metodología de Stock *et al.*, 1987) como marcador externo administrándose envuelto en papel filtro Whatman # 1 vía cánula ruminal a las 8:00 h diariamente a una dosis de 1 g/anim al día en todos los tratamientos, durante los periodos de adaptación y muestreo.

### 2.5.4. Colección de Muestras

#### 2.5.4.1 Líquido ruminal

Se colectó líquido ruminal (Cuadro 2) según la metodología de McCullough (1967). Para eliminar el exceso de partículas sólidas se filtró el líquido ruminal previamente con manta de cielo, colectándose 50 ml de este líquido, se agregó a la muestra ácido clorhídrico (1 ml) al 50% v/v, para evitar pérdidas de nitrógeno y se congeló a -4°C para analizarse posteriormente.

Así mismo se colectarán 5 ml de líquido ruminal a los cuales se les adicionó 5 ml de una solución de yodo con la finalidad de fijar a los protozoarios y realizar el conteo de los mismos. La preparación de yodo consistió de 1.5 g de yoduro de potasio y 0.5 g de yodo resublimado; se mezcló en seco y se le agregó 1 ml de agua destilada para disolver los granulos de yodo, posteriormente se aforó a 100 ml. Las muestras tomadas y mezcladas se refrigeraron para posteriores mediciones.

#### 2.5.4.2. Líquido duodenal y heces

Las muestras duodenales se colectarán de acuerdo a la metodología de Stock *et al.* (1987) durante cuatro días consecutivos cada ocho horas (cuadro 2). En cada tiempo de muestreo se tomarán 25 ml de digesta duodenal y se congelarán.

Las muestras de heces se colectarán en forma similar (Stock *et al.* 1987) durante cuatro días (Cuadro 2). En cada muestreo se obtenían las heces por medio de palpación rectal, tomándo 100 g de muestra/animal.

#### 2.5.4.3. Muestreo para la determinación de la tasa de pasaje de la fracción líquida

Con el objetivo de medir la tasa de pasaje de la fracción líquida se utilizó el marcador cobalto-EDTA, se adicionó 30 ml del marcador Co-EDTA (Uden y Van Soest, 1980) intraruminalmente, una vez al día (00.00 h). Se colectarán 50 ml de líquido ruminal



perfectamente filtrado en manta de cielo para eliminar el exceso de sólidos por muestreo, las horas de muestreo fueron 3, 6, 9, 12, 15, 18, y 21, postadministración, se congelaron las muestras a  $-4^{\circ}\text{C}$  para analizarse posteriormente.

#### 2.5.4.4 Digestibilidad in situ

Para la determinación de la digestibilidad in situ de la punta de caña se utilizó la metodología de Mehrez y Orskov (1977), se utilizaron bolsas de poliseda con un tamaño de poro de 40 micrones de diámetro, con medidas de 7 x 15 cm, las cuales fueron cosidas y selladas con pegamento, se identificaron y se pesaron en base seca, las muestras se molieron con un tamaño de criba de 1 mm, pesando 3 g/bolsa a incubar, las bolsas se cerraron con hilo nylon, se utilizaron dos bolsas/animal/periodo de incubación. Los periodos de incubación fueron 12, 24, 48, 72 y 96 h. Las bolsas a incubar se introdujeron comenzando con las correspondientes a las últimas horas (96, 72, 48, 24 y 12 h) con la finalidad de extraer todas al mismo tiempo, posteriormente se lavaron con agua corriente por cinco minutos, se desecaron y se guardaron para posteriores análisis.

## 2.6. Variables Evaluadas

### 2.6.1. Potencial de hidrógeno (pH)

Se tomó la lectura del pH (Cuadro 2) inmediatamente después de los muestreos de líquido ruminal por medio de un potenciómetro de la marca conductronic pH20, lavándose el electrodo (Accumet, Cat No. 13-620-108) con agua destilada entre cada

medición y limpiándose con papel absorbente. El instrumento se calibró con una solución buffer con pH de 7.

#### 2.6.2. Concentración de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal

Para la determinación de los ácidos grasos volátiles se utilizó la técnica de cromatografía de gases descrita por Erwin *et al.* (1961), las muestras de líquido ruminal fueron preparadas con ácido metafosfórico al 25% con la finalidad de precipitar la proteína. Se utilizó un cromatógrafo de gases de la marca VARIAN, modelo 3 700, La columna fue de acero inoxidable de 6'x 118'' empacada con chromosorb W DMCS 60-80 malla, con una temperatura de la columna de 130°C, flujo de aire de 300 ml/min, flujo de nitrógeno de 30 ml/min, flujo de hidrógeno de 20 ml/min, sensibilidad  $10^{-10}$  Amps/MV. La cantidad de muestra inyectada fue de 1  $\mu$ l por duplicado.

#### 2.6.3 Nitrógeno amoniacal en líquido ruminal.

La determinación de nitrógeno amoniacal se llevó a cabo de acuerdo a la técnica de McCullough (1967). Se descongeló la muestra de líquido ruminal y se preparó una solución de ácido metafosfórico al 25%, un ml del ácido diluido se mezcló con 4 ml de líquido ruminal, con la finalidad de precipitar la proteína; se dejó reposar por 3 h en el refrigerador y posteriormente se centrifugó a 3 500 rpm durante 25 min, se tomó el sobrenadante y se transfirió a viales de 1.5 ml, se tomaron 20  $\mu$ l de la muestra vertiéndose a tubos de 10 ml, se les adicionó 1 ml de fenol y 1 ml de hipoclorito de sodio basicado con NaOH (5 g de NaOH y 10 ml de hipoclorito de sodio). Se incubaron los

tubos a 37°C/30 minutos, posteriormente se adicionaron 5 ml de agua destilada. La absorbancia se registró en un espectrofotómetro Lambda 2s de la marca PERKIN ELMER. Se utilizó un blanco como referencia, el cual contenía 1 ml de fenol, 1 ml de hipoclorito de sodio y 5 ml de agua destilada. La curva estandar se preparó con NH<sub>4</sub>Cl desecado a 105°C/1 hora, con 3.82 g/1000 ml, de la cual se tomaron alícuotas de 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 30.0, 45.0 y 60.0 µl, aforándose a 100 ml.

#### 2.6.4. Población de protozoarios ruminales

La cuantificación y diferenciación de la población de protozoarios se realizó con microscópio, utilizando un hemocitómetro (de la marca TIEFE, con una profundidad de 0.100 mm<sup>2</sup>) de acuerdo a la técnica modificada de Benjamin (1984). Se utilizaron 178 observaciones por muestra de líquido ruminal para determinar el número de protozoarios por ml (Williams y Coleman, 1991), se hizo el siguiente cálculo:

$$\# \text{ de protozoarios/ml} = (\text{media de las observaciones})(\text{FD})(10^4)$$

FD: Factor de dilución de la muestra

#### 2.6.5. Tasa de pasaje de la fracción líquida

La determinación de la tasa de pasaje de la fracción líquida con Co-EDTA, se determinó por la técnica de Uden y Van Soest (1980). El líquido muestreado se limpió por medio de centrifugación a 25000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se transfirió a frascos. Se preparó una dilución de 1:10 (líquido ruminal :agua) con agua desionizada

para medir la concentración de cobalto en un espectrofotómetro de absorción atómica de flama, de la marca PERKIN-ELMER, modelo 2380, utilizando un estándar de 1000 ppm de Merk, pipeteando 0.5, 1.5 y 3 ml de la solución estándar de cobalto, obteniendo 5, 15 y 30 ppm aforados con agua desionizada a 100 ml. El equipo se ajustó a una longitud de onda de 240.7 nm con un slite (abertura de la rejilla) de 0.2. Se calculó la tasa de pasaje de la fracción líquida (%/h) con la pendiente obtenida entre la regresión lineal del logaritmo natural de la concentración de cobalto y el tiempo. Una vez conocido el intercepto y la concentración de cobalto adicionada a los animales en miligramos, se obtuvo el volumen ruminal y la tasa de flujo de la fracción líquida.

#### 2.6.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta utilizando $Cr_2O_3$

Los muestreos de heces y duodeno se mezclaron/animal/período para obtener al final un total de nueve muestras duodenales y de excretas (Cuadro 2), de las cuales se tomó una parte y se desecaron a una temperatura de 50°C en una estufa de la marca FELISA, modelo FE293. De las muestras mezcladas de heces y duodeno se pesó 1 g y se calcinó en una mufla (LINDBERG) a 600°C durante dos horas. Al enfriarse se añadió 3 ml de una solución de sulfato de manganeso al 30% (W/V) en 1 litro de ácido fosfórico; se agregaron 4 ml de solución de bromato de potasio al 4.5%, ebulló la muestra (cubierta con un vidrio de reloj) con efervescencia durante 10 minutos aproximadamente, hasta que la efervescencia cesó, se dejó enfriar, se filtró en un matraz aforado de 100 ml, posteriormente se aforaron a 100 ml. Los matraces de 100 ml contenían 10 ml de solución de cloruro de calcio a 5000 ppm, se agitaron y se filtraron para leerse. El

contenido de cromo de las muestras de duodeno y heces se determinó por el procedimiento de Williams *et al.*, (1962), utilizando 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. Con los datos obtenidos se procedió a realizar el análisis de la digestibilidad de los nutrimentos y el flujo de los mismos al duodeno.

#### 2.6.6.1. Digestibilidad aparente de los nutrientes

La determinación de la digestibilidad aparente de la MS y MO de la dieta utilizada, se llevó a cabo de acuerdo a la AOAC (1984). La determinación de las fibras detergente neutro y ácida se determinó de acuerdo a 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 le 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 disecó a 50°C durante 24 h. El cálculo se llevó a cabo con la siguiente fórmula:

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

$$(A)(B)$$

Donde:

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

### 2.6.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno

De las muestras de duodeno mezcladas se deshidrató aproximadamente el 50%, en una liofilizadora de la marca Heto modelo FD3, por un tiempo de 24 h con la finalidad de extraer la humedad de las muestras y evitar pérdidas de nutrimentos. Posteriormente se desgrasaron las muestras con 600 ml de hexano en el Soxhlet durante 10 h. Se hidrolizó 1 ml de la muestra obtenida con 200  $\mu$ l de HCl 6N durante 20 h, con una temperatura de 110°C. Después de la hidrólisis el HCl fué evaporado en un roto vapor, eliminándose la humedad a -4°C. El residuo se diluyó con agua (1:10) y se filtró a 0.22  $\mu$ m.

El perfil de aminoácidos se determinó de acuerdo a la metodología de Ladrón y col. (1995) con un cromatografo de fase líquida de la marca Beckman, combinado con un modulo programable para disolventes modelo 126, con una válvula de inyección Altex 210A, con un sistema de control Nec PC 8300, integrador modelo 427, un fluorómetro modelo 121 de Gilsion 450 nm, una columna Ultrasphere XL ODS (237500) (3 $\mu$ m) de 70 mm x 4.6 mm ID, protegida por un guarda columna Ultrasphere XL ODS (3 $\mu$ m) y (237520) ambos de Beckman. Para la determinación del perfil de aminoácidos se tomó 1 ml de las soluciones estándares de los aminoácidos disueltos en agua, excepto para ác. glutámico, aspártico y tirosina, las cuales fueron disueltas en agua con ácido clorhídrico (20  $\mu$ l de HCl 6N). El estándar de la mezcla de los 16 aminoácidos fué preparado a una concentración de 80-150 picomol/ml y almacenado a -4 °C. La mezcla estándar fué diluída a 1:10 v/v con ácido iodoacético. Se tomaron 50  $\mu$ l de la muestra

más 500  $\mu$ l del reactivo Oftaldehído a temperatura ambiente y se mezclaron en un vortex.

Después de 120 min se inyectó 5  $\mu$ l de alicuota de cada aminoácido.

### **2.6.8 Digestibilidad in situ de la punta de caña**

#### **2.6.8.1. Digestibilidad in situ de la materia seca**

Se calculó por diferencia de peso de acuerdo a la metodología de Harris (1970), utilizándo la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de digestibilidad} = \frac{(\text{PBS} + \text{PMS}_{\text{A.D}}) - (\text{PBS} + \text{PMS}_{\text{DIG}})}{\text{PMS}} \times 100$$

Donde:

PBS = Peso de la bolsa seca

PMS = Peso de la muestra seca

A.D = Antes de la digestibilidad

DIG = Muestra digerida

#### **2.6.8.2. Digestibilidad in situ de la fibra detergente neutro**

Se determinó de acuerdo a la metodología de Van Soest *et al.* (1991), se pesó 0.25 g de muestra, la cual se incubó en tubos de ensaye de 50 ml, se le agregó 25 ml de solución neutra o la misma cantidad de la solución ácido según correspondiera, se incubó a una temperatura de 90°C/60 min, se filtró y se disecó a 50°C durante 24 h.

### 2.7 Análisis de varianza

Para el análisis de las variables se utilizó un diseño de cuadro latino simple 3 x 3 (cuadro 3). Las medias de tratamientos se compararon de acuerdo a contrastes diseñados ortogonales. Cuando las variables estudiadas se registraron a diferente hora de muestreo se analizaron por medio del procedimiento de mediciones repetidas del manual de SAS (1990) recomendado por Wilcox.

Cuadro 3. Distribución de tratamientos

Periodo	Número de animal		
	1	2	3
1	T2	T3	T1
2	T1	T2	T3
3	T3	T1	T2

T<sub>1</sub>: Sin levadura

T<sub>2</sub>: 3 g levadura (Yea-Sacc<sup>1026</sup>)

T<sub>3</sub>: 1 g levadura (Levucell)

### 2.8 Modelo estadístico

El modelo estadístico utilizado fue el de un cuadro latino:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \varepsilon_{(ijk)}$$

$$i = 1, 2, 3.$$

$$j = 1, 2, 3.$$

$$k = 1, 2, 3.$$



$Y$  = Variable de respuesta

$i$  = Subíndice para identificar periodos  $i = 1, 2$  y  $3$

$j$  = Subíndice para identificar animales  $j = 1, 2$  y  $3$

$k$  = Subíndice para identificar tratamientos  $k = 1, 2$  y  $3$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Efecto causado por la  $i$ -ésimo periodo con el  $j$ -ésimo animal y el  $k$ -ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$\alpha_i$  = Efecto de la  $i$ -ésimo periodo

$\beta_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo animal

$\tau_k$  = Efecto causado por el  $k$ -ésimo tratamiento

$\epsilon_{(ijk)}$  = error experimental

### III RESULTADOS

#### 3.1 Potencial de hidrógeno

En el Cuadro 4 se puede observar que la adición de levadura Saccharomyces cerevisiae disminuyó ( $P<.01$ ) el pH del contenido ruminal en la hora de muestreo cero para los contrastes estudiados.

Los contrastes  $T_1$  vs  $T_2$ - $T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  muestran que la adición de levadura no afectó ( $P>.05$ ) el pH del contenido ruminal para las horas de muestreo 4, 8, 12 y 16. Se observó disminución ( $P<.01$ ) del pH del contenido ruminal en la hora veinte de muestreo para los contrastes analizados con valores de 5.73, 5.43 y 5.53 respectivamente (Cuadro 4).

Saccharomyces cerevisiae (Cuadro 4) disminuyó ( $P<.01$ ) el pH promedio del líquido ruminal, en los tratamientos con levadura con respecto al testigo, con valores de 6.05, 5.85 y 5.96 para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente. En el contraste entre levaduras ( $T_2$  vs  $T_3$ ) se observó un incremento ( $P<.05$ ) del pH en Levucell con respecto a Yea-Sac (5.96 y 5.85). La interacción tiempo por tratamiento no influyó ( $P>.05$ ) en los distintos tratamientos analizados.

#### 3.2 Acidos grasos volátiles en rumen

##### 3.2.1 Concentración de acetato (mmoles)

En el Cuadro 5 se observa que Saccharomyces cerevisiae, incrementó ( $P<.01$ ) la concentración (mmoles) de ácido acético del contenido ruminal en la hora de muestreo cero, para los contrastes  $T_1$  vs  $T_2$ - $T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  con valores de 67.35, 83.01 y 77.83 para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente.

Las levaduras no afectaron ( $P>.05$ ) la concentración (mmoles) de acetato del contenido ruminal para las horas de muestreo 4, 8, 12 y 16 (Cuadro 5) en los contrastes en estudio.

En la hora de muestreo 20 se observó (Cuadro 5) el incremento ( $P<.05$ ) en la concentración (mmoles) de ácido acético para ambos contrastes.

Al analizar la concentración promedio de las diferentes horas de muestreo, se observó que la adición de Saccharomyces cerevisiae (Cuadro 5) incremento ( $P<.05$ ) la concentración (mmoles) promedio de acetato del líquido ruminal para los contrastes  $T_1$  vs  $T_2$ - $T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ , los valores en  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  fueron 64.51, 69.96 y 71.94, respectivamente). No hubo ( $P>.05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

### 3.2.2. Concentración de propionato (mmoles)

En los contrastes estudiados (Cuadro 6), se observó que la adición de levadura S cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración (mmoles) de ácido propiónico a nivel ruminal en las diferentes horas de muestreo.

Como se observa en el Cuadro 6 la adición de Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración promedio (mmoles) de propionato, para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 21.80, 23.71 y 22.36 respectivamente. No se encontró ( $P>.05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

### 3.2.3. Concentración de butirato (mmoles)

En el Cuadro 7 se puede observar en los contrastes analizados que las levaduras incrementaron ( $P < .05$ ) la concentración (mmoles) de ácido butírico en el rumen en la hora de muestreo cero (tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 11.32, 13.69 y 13.70).

En las horas de muestreo 4, 8 y 12, en los contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  no hubo efecto ( $P > .05$ ) sobre la concentración (mmoles) de butirato en el rumen (Cuadro 7).

A las 16 y 20 h de muestreo, la adición de Saccharomyces cerevisiae incrementó ( $P < .05$ ) la concentración (mmoles) de ácido butírico a nivel ruminal. Sin afectarse ( $P > .05$ ) el contraste entre levaduras.

La adición de Saccharomyces cerevisiae para el contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  incrementó ( $P < .05$ ) la concentración promedio (mmoles) de ácido butírico, mientras que para el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  no hubo diferencias ( $P > .05$ ) para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 10.98 11.87 y 13.30 respectivamente. No hubo ( $P > .05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

### 3.2.4. Concentración (mmoles) de los ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato)

En el Cuadro 8 se observa que la levadura Saccharomyces cerevisiae en las horas de muestreo 0 y 20, para ambos contrastes estudiados incrementó ( $P < .05$ ) la concentración (mmoles) de ácidos grasos volátiles.

En las horas de muestreo 4, 8, 12 y 16 la adición de Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración (mmoles) de ácidos grasos volátiles.

En los valores promedio de la suma de acético, propiónico y butírico, sin el desglose por horas la adición de S cerevisiae en el contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  incrementó ( $P<.05$ ) la concentración (mmoles) de ácido grasos volátiles en los tratamientos con levadura con respecto al testigo. Sin embargo los tratamientos con levadura no se modificaron ( $P>.05$ ) en la concentración promedio (mmoles). Los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  presentaron valores de 97.29, 105.24 y 107.60 respectivamente. No hubo ( $P>.05$ ) interacción tiempo por tratamiento (Cuadro 8).

### 3.2.5. Proporción molar de acetato

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la proporción molar de ácido acético en el rumen para los contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  en las diferentes horas de muestreo (Cuadro 9).

Como se observa en el Cuadro 9, la adición de Saccharomyces cerevisiae para los contrastes estudiados, no afectó ( $P>.05$ ) la proporción molar promedio de ácido acético, para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 66.59 66.56 y 67.32 respectivamente. Tampoco hubo interacción tiempo por tratamiento ( $P>.05$ ).

### **3.2.6. Proporción molar de propionato**

La levadura no afectó ( $P > .05$ ) la proporción molar de ácido propiónico (contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) en las diferentes horas de muestreo (Cuadro 10).

La adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) no afectó ( $P > .05$ ) la proporción molar promedio de ácido propiónico, para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 22.15, 22.23 y 20.36 respectivamente (Cuadro 10). No hubo interacción tiempo por tratamiento ( $P > .05$ ).

### **3.2.7. Proporción molar de butirato**

*Saccharomyces cerevisiae* no afectó ( $P > .05$ ) la proporción molar de ácido butírico a nivel ruminal para los contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  en las horas diferentes de muestreo (Cuadro 11).

La adición de levadura *Sacharomyces cerevisiae* para los contrastes analizados, no afectó ( $P > .05$ ) la proporción molar promedio de ácido butírico a nivel ruminal, para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 11.25, 11.20 y 12.33 respectivamente (Cuadro 11). No hubo ( $P > .05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

## **3.3. Nitrógeno amoniacal**

En el Cuadro 12 se puede observar que la adición de levadura no afectó ( $P > .05$ ) la concentración de nitrógeno amoniacal del contenido ruminal en la hora de muestreo cero (contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$ ); sin embargo, se incrementó ( $P > .05$ ) la concentración de nitrógeno amoniacal en el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  con valores de 8.08 y 4.91 respectivamente.

Los contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  mostraron que Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P > .05$ ) la concentración de nitrógeno amoniacal del contenido ruminal a las 4, 8 y 16 h de muestreo (Cuadro 12). Se observan diferencias ( $P < .05$ ) en la concentración de nitrógeno amoniacal del contenido ruminal en las horas 12 y 20 de muestreo.

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P > .05$ ) la concentración de nitrógeno amoniacal promedio del líquido ruminal (contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$ ); no obstante el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  fue significativo ( $P < .05$ ) por la adición del cultivo de levaduras, con valores de 9.24, 10.47 y 9.38 para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente. La interacción tiempo por tratamiento no influyó ( $P > .05$ ) en las distintas variables analizadas (Cuadro 12).

### **3.4. Protozoarios ruminales (organismos x $10^4$ por ml)**

#### **3.4.1. Concentración de Holotricos**

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P > .05$ ) la concentración de Holotricos en el rumen (contrastos  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) para las horas de muestreo 0, 4, 8, 12, 16 y 20 (Cuadro 13).

El cultivo de Saccharomyces cerevisiae (contrastos  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) no afectó ( $P > .05$ ) la concentración de Holotricos promedio, para los tratamientos  $T_1, T_2$  y  $T_3$  con valores de 1.70 2.23 y 2.04 respectivamente (Cuadro 13). No hubo ( $P > .05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

### 3.4.2. Concentración de Entodinomorfos

En el Cuadro 14 se observa que la adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración de Entodinomorfos ruminales (contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) en las horas de muestreo 0, 4, 8, 12 y 20.

El contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  en la hora de muestreo 16 (Cuadro 14), indicó efecto ( $P<.05$ ) en la concentración de Entodinomorfos, mientras que en el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  no hubo diferencias ( $P>.05$ ) entre tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$ , con valores de 40.48, 52.46 y 66.75 (organismos  $\times 10^4$ /ml).

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración de Entodinomorfos promedio para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  con valores de 52.80, 56.56 y 76.53 respectivamente (cuadro 14). La interacción tiempo por tratamiento no fue significativa ( $P>.05$ ).

### 3.4.3. Concentración de protozoarios totales (Entodinos y Holotricos)

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae no afectó ( $P>.05$ ) la concentración de protozoarios totales, en las horas de muestreo 0, 4, 8, 12 y 20 (Cuadro 15). El contraste  $T_1$  vs  $T_2-T_3$  en la hora de muestreo 16, indicó efecto significativo ( $P<.05$ ) en la concentración total de protozoarios ruminales. Sin embargo el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  no se afectó ( $P>.05$ ).



La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae (contrastes  $T_1$  vs  $T_2$ - $T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ) no afectó ( $P>.05$ ) la concentración promedio de protozoarios ruminales, en los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  los valores fueron 54.50, 58.79 y 78.57 respectivamente (Cuadro 15). La interacción tiempo por tratamiento no fue significativa ( $P>.05$ ) para las variables de respuesta.

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

#### **3.5.1. Tasa de flujo (%/h)**

En el Cuadro 16 se observa que la tasa de flujo no se afectó ( $P>.05$ ) en los diferentes contrastes, en el mismo orden de tratamientos los resultados fueron de 9.00, 9.00 y 10.0 respectivamente.

#### **3.5.2 Volumen ruminal**

La adición de levadura tampoco afectó ( $P>.05$ ) el volumen ruminal con valores de 0.59, 0.79 y 0.85 (L) para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente (Cuadro 16).

### **3.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta**

#### **3.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes**

En los contrastes estudiados (Cuadro 17), la adición de levaduras no afectó ( $P>.05$ ) la digestibilidad aparente: total de la MS, la ruminal de la MS y la cantidad de materia seca digerida en rumen. Tampoco hubo efecto ( $P>.05$ ) en la digestibilidad aparente: de la MO, FDN Y FDA.

### **3.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno**

No hubo ningún efecto ( $P>.05$ ) de la levadura sobre los flujos de nutrientes evaluados. El flujo de MS a duodeno en los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  presentó valores de 0.040, 0.036 y 0.046 kg/h respectivamente. El flujo de FDN a duodeno no se afectó ( $P>.05$ ) con valores de 0.023, 0.021 y 0.027 kg/h para el mismo orden de tratamientos. En flujo de fibra detergente ácida (FDA) los valores fueron de 0.016, 0.014 y 0.018 kg/h. La proteína bruta (PB) presentó valores de 0.007, 0.005 y 0.007 kg/h. Los valores de proteína verdadera (PV) en el mismo orden de tratamiento de 0.004, 0.003 y 0.004 kg/h (Cuadro 18).

### **3.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno**

El perfil de aminoácidos (g/100 g de MS) fue mayor ( $P<.05$ ) en el tratamiento testigo con respecto a los tratamientos con levaduras, en el ácido aspártico, glutámico, histidina y treonina. No hubo efecto ( $P>.05$ ) de la adición de levadura sobre el flujo de aminoácidos a duodeno en los distintos contrastes estudiados (Cuadros 19 y 20).

### **3.8. Digestibilidad in situ de la punta de caña**

#### **3.8.1. Digestibilidad de la materia seca**

En el Cuadro 21 se observa que la adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó ( $P>.05$ ) la digestibilidad in situ de la MS a las 12, 24, 72 y 96 h posteriores a la incubación.

En la hora 48, la adición de Saccharomyces cerevisiae aumentó ( $P < .01$ ) en ambos contrastes la digestibilidad in situ de la MS (Cuadro 21) los valores fueron 39.59, 42.73 y 39.97 % para los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente.

Saccharomyces cerevisiae (Cuadro 21) no afectó ( $P > .05$ ) la digestibilidad promedio (contrastos  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$ ), con valores de 39.55, 40.12 y 39.71. No hubo ( $P > .05$ ) interacción tiempo por tratamiento.

### 3.8.2. Digestibilidad de la fibra detergente neutro

En el Cuadro 22 se observa que la adición de levadura Sacharomyces cerevisiae no afectó ( $P > .05$ ) la degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro de la punta de caña a las 12, 24, 72 y 96 horas de incubación.

En la hora 48 de incubación la adición de levadura Saccharomyces cerevisiae aumentó ( $P < .01$ ) la degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro de la punta de caña en el contraste  $T_2$  vs  $T_3$  (Cuadro 22). El contraste  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  no presentó diferencia ( $P > .05$ ) en la degradabilidad de la FDN a las 48 horas de incubación..

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae (cuadro 22) no afectó ( $P > .05$ ) la degradabilidad promedio de la fibra detergente neutro así como lo demuestran los contrastes  $T_1$  vs  $T_2, T_3$  y  $T_2$  vs  $T_3$  en los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  los valores fueron 24.16, 24.31 y 24.40 respectivamente. La interacción ( $P < .01$ ) tiempo por tratamiento es muy alta.

### 3.9. Consumo de alimento

El consumo de alimento no fue diferente ( $P > .05$ ) en los contrastes con valores de 1183, 1379 y 1401 g de alimento consumido, en los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$  respectivamente (Cuadro 16).

## IV DISCUSION

### 4.1 Potencial de hidrógeno

La adición de levadura Saccharomyces cerevisiae al rumen de ovinos que consumieron punta de caña como ingrediente principal de su dieta, disminuyó ( $P < .01$ ) el pH del líquido ruminal, en los tratamientos con levadura con respecto al testigo (Cuadro 4). Este resultado fue similar a lo encontrado por Andrighetto *et al.* (1993), Angeles *et al.* (1995), Avendaño *et al.* (1995). No obstante resultados contradictorios fueron señalados por Kumar *et al.* (1995) en dietas compuestas de rastrojo de trigo, trebol de alejandría y concentrado, donde la suplementación con levadura incrementó el pH ( $P < .01$ ) a las seis horas postalimentación. De acuerdo con estos últimos investigadores el efecto fue producto de diferentes factores tales como el tiempo de muestreo y tipo de dieta utilizada. Además, Flachowsky *et al.* (1993), Gedek *et al.* (1993), Erasmus *et al.* (1992), Zeleňák *et al.* (1994), Crosby (1995) y Plata *et al.* (1994) no encontraron efecto ( $P > .05$ ) sobre el pH ruminal, por la adición de la levadura.

En esta investigación, la explicación principal para la disminución del pH en los tratamientos adicionados con levadura, se debe a la tendencia ( $P < .1$ ) hacia mayor consumo de alimento observado en estos animales, por causa del animal que perdió la cánula ruminal. De acuerdo con Andrighetto *et al.* (1993) al incrementarse el consumo se presenta un aumento en la actividad microbiana y por lo tanto mayor producción de ácidos grasos volátiles que modifican el pH. El consumo presentó una correlación negativa (-.61) altamente significativa ( $P < .01$ ) con el pH.

Los vehículos que forman parte de los cultivos de microorganismos pueden tener un efecto muy importante sobre los cambios de pH ruminal, si bien la cantidad en la que se adicionan difícilmente explica las alteraciones observadas. En esta investigación, en el contraste entre levaduras se observó un incremento ( $P < .05$ ) del pH con Levucell en comparación a Yea-Sacc (Cuadro 4). Al analizar el contenido de cenizas de cada cultivo de levaduras, se encontró en Levucell una composición alta de cenizas (79.8%), y menor en Yea-Sacc (6.9%) lo cual pudiera explicar parcialmente la elevación en el pH ruminal en este tratamiento. Estos resultados fueron diferentes a los de Angeles *et al.* (1995), quienes con los mismos cultivos de microorganismos en dietas a base de rastrojo de maíz, no encontraron diferencias ( $P > .05$ ) entre levaduras, posiblemente debido al tipo de dieta ofrecido.

#### 4.2 Ácidos grasos volátiles en rumen

##### 4.2.1 Acetato

La adición de *Saccharomyces cerevisiae* produjo aumento ( $P < .01$ ) en la concentración (mmol) de ácido acético en el líquido ruminal a las cero y 20 h, y existió una tendencia ( $P < .07$ ) a las 16 h, en los animales que recibieron levadura, comparados con el tratamiento testigo (Cuadro 5). Sin embargo cuando la concentración de acetato se analizó en proporción (Cuadro 9), las diferencias en la producción de acetato entre los tratamientos con levadura y testigo dejaron de existir, por lo tanto se confirma que el principal causante del efecto sobre la concentración de acetato es el consumo de alimento y no la adición de levaduras, los resultados de este estudio sobre la proporción molar de acetato concuerdan con Andrighetto *et al.* (1993), Crosby (1995), Gedek *et al.*

(1993), Plata *et al.* (1994), Zelenak *et al.* (1994), Moloney y Drennan (1994). El patrón de fermentación de acetato esta dentro del rango establecido para raciones con alto contenido en forraje. En esta investigación hubo una correlación positiva significativa ( $P < .05$ ) entre consumo y concentración de acetato (Cuadro 23). Al comparar Yea-Sacc vs Levucell la concentración (mmol) de ácido acético fue mayor ( $P < .05$ ) en levucell. Estos resultados difieren de los observados por Mir and Mir (1994); Kumar *et al.* (1995); Flachowsky *et al.* (1993); Crosby (1995) y Erasmus *et al.* (1992) quienes no encontraron diferencia ( $P > .05$ ) en la concentración de ácido acético a nivel ruminal entre tratamiento testigo y levaduras. Al analizar la proporción de acetato desaparecieron las diferencias entre levaduras, por lo que en proporción la respuesta en la producción de acetato no se modificó por la adición de levaduras y este resultado es similar al de los investigadores anteriormente citados. Un aspecto importante al referirnos a la proporción molar es que éste parámetro elimina el efecto del consumo de alimento y muestra un valor biológico más aceptable, en relación a la concentración.

#### **4.2.2. Propionato**

La concentración (mmol) de ácido propiónico no se modificó ( $P > .05$ ) por efecto de la levadura (Cuadro 6). Este resultado concuerdan con el de Kumar *et al.* (1995); Crosby (1995); Flachowsky *et al.* (1993); Mir y Mir (1994), lo cual se confirmó por el análisis de correlación donde la concentración de propionato no se afectó ( $P > .05$ ) por el consumo (Cuadro 23), por lo tanto la eficiencia energética y las pérdidas calóricas son similares con y sin la utilización de levaduras. La falta de respuesta a la adición de *Saccharomyces cerevisiae* en la proporción molar de ácido propiónico, es similar a lo

reportado por otros autores (Andrighetto *et al.*, 1993; Gedek *et al.*, 1993; Zelenak *et al.*, 1994; Plata *et al.*, 1995; Crosby, 1995; Moloney y Drennan, 1994). Si consideramos que las levaduras modifican realmente el medio ambiente ruminal, entonces esperaríamos un incremento en la producción de propionato, debido a que propiónico y metano son captadores del exceso de equivalentes reductores que se producen a nivel ruminal (Rodríguez y Llamas, 1999), como consecuencia se incrementaría la eficiencia energética y se reduciría la pérdida calórica.

#### 4.2.3. Butirato

La concentración (mmol) de butirato fue mayor ( $P < .05$ ) en los ovinos que recibieron levadura (Cuadro 7). Este resultado difiere del de Flachowsky *et al.* (1993), Crosby (1995); Mir y Mir (1994) y Erasmus *et al.* (1995) debido a que ellos no encontraron incremento en butirato por la adición de levadura. Sin embargo la concentración de butirato se correlacionó positivamente ( $P < .01$ ) con el consumo (Cuadro 23) y en forma similar a lo que ocurrió en la proporción de acetato (Cuadro 9), la proporción de butirato no se modificó por la adición de la levadura. Al respecto, Flachowsky *et al.* (1993), Andrighetto *et al.* (1993), Gedek *et al.* (1993), Zelenak *et al.* (1994), Moloney y Drennan (1994) y Crosby (1993) obtuvieron resultados similares en la proporción molar de butirato. Estos resultados están dentro del patrón de fermentación ruminal para raciones altas en forraje (Thomas y Rook 1977), por lo tanto el incremento en la concentración de butirato no se debió a *S. cerevisiae*, si el incremento en la concentración de butirato se le atribuye a la levadura, entonces las levaduras son perjudiciales por favorecer pérdidas energéticas.



#### 4.2.4. Acidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato)

Como se observa en el Cuadro 8, Saccharomyces cerevisiae incrementó ( $P<.05$ ) la concentración (mmoles) de ácidos grasos volátiles. La concentración de AGVs del líquido ruminal encontradas en esta investigación no reflejaron la tasa de producción y absorción en el rumen, ya que éste al ser una cámara de fermentación cerrada, va a estar en función de el volumen ruminal, el estado físico de la papilas ruminales y a la capacidad de ingestión ruminal. Entre los tratamientos con levadura, Levucell incrementó ( $P=.05$ ) la concentración (mmol) de AGVs a nivel ruminal, con respecto a Yea-Sacc, lo cual es similar a los resultados de Andrighetto *et al.* (1993); Moloney y Drennan (1994), pero difieren de los resultados obtenidos por Flachowsky *et al.* (1993), Kumar *et al.* (1995), Crosby (1995), Gedek *et al.* (1993) y Plata *et al.* (1994).

#### 4.3 Nitrógeno amoniacal

Saccharomyces cerevisiae no afectó la concentración (mg/dl) de nitrógeno amoniacal, lo cual concuerda con los resultados de Crosby (1995), Angeles *et al.* (1995), Gedek *et al.* (1993), Avendaño *et al.* (1995), Zelenák *et al.* (1994) y Erasmus *et al.* (1995). Sin embargo Yea-Sacc incrementó ( $P<.05$ ) la concentración de nitrógeno amoniacal con respecto a Levucell; este resultado fue similar al que obtuvo Angeles *et al.* (1995). En este metabolito es en el que existe controversia entre los investigadores, sin duda alguna el tipo de dieta y sobre todo la inclusión de urea o NNP tienen mayor efecto que la adición de levadura sobre la producción de  $N-NH_3$  (Moloney y Drennan, 1994). La concentración de amoniaco encontrada en esta investigación está de acuerdo con los estudios de Rogers *et al.*

(1986); Existe una correlación ( $P < .01$ ) positiva con la concentración de propionato, AGVs totales, correlacionándose ( $P < .01$ ) negativamente con el pH (Cuadro 23).

#### **4.4. Protozoarios ruminales (organismos x $10^4$ por ml)**

##### **4.4.1. Concentración de Holotricos**

La levadura Saccharomyces cerevisiae no alteró la concentración de Holotricos. Crosby (1995) reporta resultados similares. Se presentó una correlación positiva ( $P < .01$ ) entre la concentración de holotricos y consumo (Cuadro 23), sin embargo debido a la gran variabilidad observada en las medias muestrales el incremento de Holotricos no fue significativamente importante.

##### **4.4.2. Concentración de Entodimorfidos**

El uso de Saccharomyces cerevisiae no afectó la concentración de Entodimorfidos. Crosby (1995) encontró resultados similares. No se encontró correlación ( $P > .05$ ) entre consumo y Entodimorfidos, reafirmando que las levaduras no producen modificaciones sobre la concentración de Entodimorfidos (Cuadro 23).

##### **4.4.3. Concentración de protozoarios totales (Entodimorfidos y Holotricos)**

Comparado con el testigo la adición de Yea-Sacc o Levucell no modificó el conteo de protozoarios totales. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por otros investigadores (Plata *et al.*, 1994; Crosby 1995), pero son semejantes a los reportados por Kumar *et al.* (1995) y Angeles *et al.* (1995). La controversia reportada sobre la

concentración de protozoarios se debe principalmente a los diferentes insumos utilizados en los diferentes tipos de dietas ofrecidas a los animales en estudio.

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

##### **4.5.1. Tasa de flujo (%/h)**

La tasa de flujo no se afectó por la suplementación con levadura (Cuadro 16). Estos resultados confirman los reportes de Crosby (1995), Moloney y Drennan (1994), Erasmus *et al.* (1992) donde no se observó efecto en la tasa de flujo; sin embargo, se puede observar (Cuadro 23) que existió una correlación negativa ( $P < 0.05$ ) entre el consumo de alimento a base de punta de caña de azúcar y la tasa de flujo, indicando que conforme el consumo de alimento se va incrementando la síntesis microbiana presenta una mayor eficiencia debido a el incremento de glucidos de fácil digestión y por lo tanto el flujo tiende a disminuir.

##### **4.5.2 Volumen ruminal**

La adición de levadura no afectó el volumen ruminal (Cuadro 16), presentando un volumen calculado menor a 1 L en los tratamientos en estudio, al respecto Geoffrey y Coleman (1986) mencionan que el volumen ruminal en ovinos es equivalente a 5 L. Los resultados encontrados en esta investigación concuerdan con los reportes de Moloney y Drennan (1994), Crosby (1995). Sin embargo, el contenido ruminal del presente estudio varía del modelo de fermentación continuo (Hungate, 1966), debido a que el alimento consumido por el animal (alto en fibra), el volumen, la tasa de secreción y la tasa a la cual abandonó el material el rumen no fueron constantes. Considerando que los valores obtenidos del volumen ruminal están subestimados, y que el consumo de

alimento influye de manera importante sobre el volumen y la tasa de flujo a duodeno, se considera que la estimación de éstas variables no fué la más adecuada por falta de un estado de equilibrio.

#### **4.6. Digestibilidad y flujo de nutrientes de la dieta**

##### **4.6.1. Digestibilidad aparente de nutrientes**

Las levaduras no afectaron las digestibilidades aparentes: totales y ruminales de la MS, MO, FDN y FDA (Cuadro 17). Resultados similares fueron reportados por Andrighetto *et al.* (1993), Moloney y Drennan (1994), Crosby (1995), Mir y Mir (1994), Avendaño *et al.* (1995) indicaron que no hubo un cambio significativo ( $P > .05$ ) en la digestibilidad por efecto de las levaduras. Las diferencias en los valores publicados en esas investigaciones se debieron al tipo de dieta y a las características inherentes de los animales utilizados, al medio ambiente y principalmente al pH ruminal. Zeleňák *et al.* (1994) mencionan que la digestibilidad de la MS y la FDN, disminuyó por la adición de levadura, lo cual es contradictorio a los resultados que se obtuvieron en esta investigación. Por otra parte, Mpofu y Ndlovu (1994) indicaron incremento de la digestibilidad de la FDN al adicionar levaduras. Es difícil adjudicar un efecto positivo en la degradación ruminal por efecto directo de las levaduras, sin duda es el resultado de una serie de interacciones difíciles de predecir, en las que el nivel de minerales es importante en la modulación del pH ruminal tendiente a la neutralidad y por lo tanto a determinar incrementos en los reportes de Mpofu

y Ndlovu (1994), lo anterior se resalta debido a que el contenido de cenizas fue de 6.9 y 79.8 % para las levaduras Yea-Sacc y levucell respectivamente.

#### **4.6.2. Flujo de nutrientes a duodeno**

El flujo de nutrientes (MS, FDN, FDA, PB Y PV) no fue afectado por las levaduras (Cuadro 18). El mismo resultado fue encontrado por Crosby (1995) quién tampoco observó incremento del flujo duodenal de MS y nitrógeno. Al no estimularse el incremento en la tasa de flujo a duodeno del líquido ruminal, se esperaría que tampoco el flujo de nutrientes se vería afectado, por lo tanto, dentro de los factores que intervienen de manera importante sobre el flujo de nutrientes tenemos el tipo de dieta, calidad y cantidad consumida por los animales.

#### **4.7. Perfil y flujo de aminoácidos a duodeno**

S. cerevisiae no produjo alteraciones ( $P > .05$ ) sobre el perfil de aminoácidos (g/100 g de MS) del líquido duodenal (Cuadro 19), resultados similares fueron reportados por Erasmus *et al.* (1992). Entre levaduras se presentó una diferencia ( $P < .05$ ) en el contenido de aspartato, glutamato, treonina e histidina, siendo menor la producción de dichos aminoácidos en el tratamiento con Yea-Sacc en comparación con Levucell; debido a que el perfil duodenal de aminoácidos individuales del alimento influyen de manera importante en las cantidades de aminoácidos individuales indispensables para la producción, las levaduras no representan ningún avance importante como aditivo alimenticio. No hubo efecto ( $P > .05$ ) de las levaduras sobre el flujo de aminoácidos al duodeno, sin embargo entre levaduras se observó en el flujo de arginina una disminución ( $P < .05$ ) en Yea-Sacc con respecto a Levucell (Cuadro 20). Erasmus *et al.* (1992) indicaron que S. cerevisiae modificó el

flujo de aminoácidos a duodeno. Por lo tanto estos resultados fueron debidos a las modificaciones según la cantidad de alimento consumido por el animal que sustituyó al que perdió la cánula ruminal. La síntesis de proteína microbiana en el rumen y por lo tanto el perfil y flujo de aminoácidos a duodeno dependen del suministro de nitrógeno y de energía de la dieta, así como de algunos nutrientes específicos como azufre, ácidos grasos ramificados y minerales traza.

#### **4.8. Digestibilidad *in situ* de la punta de caña**

##### **4.8.1. Digestibilidad *in situ* de la materia seca de la punta de caña**

Los cultivos microbianos de *Saccharomyces cerevisiae* modificaron ( $P < .05$ ) la digestibilidad *in situ* de la MS de la punta de caña a las 48 h (Cuadro 21), no encontrándose efecto ( $P > .05$ ) a las 12, 24, 72 y 96 h. Al respecto, en dietas basadas en alto contenido en concentrado y forraje, para realizar la prueba de digestibilidad *in situ* con cabras, Flachowsky *et al.* (1993) utilizando Levaferm no encontraron efecto ( $P > .05$ ) sobre la digestibilidad *in situ* de la MS, estos mismos autores observaron que a mayor cantidad de Yea-Sacc disminuye la degradabilidad de la MS en las dieta rica en concentrados en relación a las dietas de forrajes toscos. Por otra parte Mir y Mir (1994) señalaron que el porcentaje de degradación de la MS de la dieta con levadura disminuyó ( $P < .05$ ). Corona *et al.* (1995) no observaron efecto de la levadura sobre la digestibilidad de la MS en dietas con rastrojo de maíz, sin embargo, a las 72 h Yea-Sacc incrementó ( $P < .05$ ) la digestibilidad de la MS con respecto a Levucell, en forma similar a lo ocurrido en la presente investigación de incrementarse la digestibilidad a las 48 h,

sin embargo, esta digestibilidad aparentemente mayor se debe a la mayor actividad microbiana presente en los diferentes tratamientos, debidos a los consumos de alimento diferentes, y considerando que la diferente digestibilidad desaparece con un mayor tiempo de permanencia del alimento en el rumen, se considera que la adición de levadura no tiene una importancia relevante. En la presente investigación existió una correlación ( $P < .01$ ) negativa con el consumo de alimento lo cual se explica de acuerdo a el flujo de nutrientes que también sin ser significativo fue numericamente mayor, se observó una correlación ( $P < .05$ ) positiva con el pH (Cuadro 23), lo cual sugiere que al incrementarse el pH del líquido ruminal se incrementa la digestibilidad debido a que la mayor actividad microbiana se dá a rangos de pH cercanos a la neutralidad.

#### **4.8.2. Digestibilidad in situ de la fibra detergente neutro de la punta de caña**

La adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* no afectó la digestibilidad de la fibra detergente neutro de la punta de caña en estudio (Cuadro 22). Corona *et al.*, (1995) observaron un incremento en la degradabilidad de la FDN en los tratamientos con levadura en relación al testigo. Erasmus *et al.* (1992) no encontraron efecto ( $P > .05$ ) por la adición de la levadura. La digestibilidad *in situ* se correlacionó negativamente ( $P < .05$ ) con butirato, es decir debido a que al generar una mayor concentración de butirato a nivel ruminal, existe una pérdida de energía y por lo tanto los microorganismos tienden a no utilizar los carbohidratos estructurales, con el objetivo de compensar dichas pérdidas energéticas. Se presentó correlación ( $P < .05$ ) positiva con pH, ya que el pH menor a 6 nos indica deficientes condiciones ruminales para un crecimiento óptimo de bacterias

celulolíticas. Además se correlacionó positivamente ( $P < .01$ ) con la digestibilidad *in situ* de la MS (Cuadro 23).

#### 4.9 Consumo de materia seca

El consumo de alimento en este estudio fue restringido. La diferencia numérica no significativa ( $P > .05$ ) del consumo de alimento (218 g), no se puede atribuir a la adición de levadura y la razón de la variación como ya se indicó, fue debida a la borrega que sustituyó a la que perdió la cánula ruminal, lo que provocó cierto desbalance. Los efectos de la levadura sobre el consumo también fue indicado por Drennan and Moloney (1993), Avendaño *et al.* (1995), Plata *et al.* (1994) donde el consumo de materia seca no se afectó ( $P > .05$ ) por la suplementación de la levadura. Sin embargo difirieron de los de Andrighetto *et al.* (1993). El consumo de alimento se correlacionó positivamente ( $P < .01$ ) con los holotricos, acetato, butirato, AGVs, y presentó una correlacion negativa ( $P < .05$ ) con pH, digestibilidad *in situ* y la tasa de flujo; confirmando por lo tanto, que los efectos positivos y negativos encontrados en este estudio fueron debidos a variaciones en el consumo (Cuadro 23), más que por el efecto directo de las levaduras.



## V CONCLUSIONES

El pH ruminal esta directamente influenciado por la calidad y cantidad del alimento ingerido, y no por el efecto de la adición de las levaduras. De acuerdo con lo anterior las levaduras estudiadas no alteran el pH ruminal, cuando éste es inicialmente bajo (menor a 6.05).

La concentración total de AGVs se incrementó por la adición de levaduras, sin embargo, la proporción molar de los ácidos grasos volátiles es el mejor indicador ruminal para la interpretación del efecto bioquímico causado por la adición de levaduras, no encontrándose efecto en las proporciones por la adición de las levaduras, por lo que se concluye que estas no modifican el patrón de fermentación ruminal.

La digestibilidad aparente de algunos nutrimentos de la dieta en estudio (MS, MO, FDN, Y FDA), los flujos de nutrientes (MS, FDN, FDA, PB Y PV), el perfil y flujo de aminoácidos; además la digestibilidad *in situ* de la MS Y FDN de la punta de caña no se modificaron por el aditivo utilizado.

En base a lo anterior las características que se le atribuyen a las levaduras de incrementar la concentración de AGVs,  $\text{NH}_3$ , protozoarios, digestibilidad, flujo de nutrientes, y la estabilización del pH ruminal, corresponden principalmente a el tipo de dieta que ingieren los animales, a las características propias del animal y el medio ambiente.

La adición de levaduras no es una alternativa en la utilización eficiente de las puntas de caña de azúcar.

## VI RECOMENDACIONES

En base a lo anterior se recomienda identificar factores dietarios que permitan respuestas a la adición de levaduras.

En base al presente estudio se recomienda que se busquen otras alternativas en la utilización como fuente de aditivos para los animales.

## VII LITERATURA CONSULTADA

- 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 suplementación de rastrojo amoniato sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos pelibuey. *Tesis de Maestría*. FES-C, U.N.A.M., México, D.F.
- Akin, D.E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agron. J.* 81:17.
- Akin, D.E., Gordon G.L.R. and Hogan J.P. 1983. Rumen bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentzii* growth with and without sulphur. *Appl. Environ. Microbiol.* 46:738.
- Akin, D.E. and Rigsby L.L. 1987. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1987.
- Andreasen, A. A. and Stier. T.J.B. 1953. Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. 1. Ergosterol requirement for growth in a defined medium. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 41:23.
- 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.
- Angeles, C.S.; Corona, G.L.; Castrejón, P.F.; Mendoza, M.G.D. y Cobos, P.M. 1995. Cambios en la población de protozoarios y en el metabolismo ruminal utilizando dos cultivos de levaduras. *Memorias. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria.* Vol 26. Supl 2. pp 275.
- 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.
- Armas, de C.M. y González, L. 1966. La caña de azúcar como fuente de energía. En la industria de los derivados de la caña de azúcar. Ed. Instituto de Investigación de los derivados de la caña de azúcar (ICIDCA). *Editorial Científico-Técnico. La Habana, Cuba.*
- Avendaño, B.H; González, M.S.S; García-Bojalil C.; Mendoza M.G.D. y Bárcenas, G.R. 1995. Efecto del nivel de rastrojo de maíz y de un cultivo de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*; Yea-Sacc<sup>1026</sup>) 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. p 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.
- Bonhome, A. 1990. Rumen ciliates their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. Anim. Feed Sci. Tech. **30**:203-266.
- Buttery, P.J. 1981. Aspects of the biochemistry of rumen fermentation and their implications in ruminant productivity. In: W. Haresign and D.J.A. Cole Eds. Recent Developments in Ruminant Nutrition.. Butterworths, London.
- Cameron, M.G.; Cameron, M.R.; Fahey, G.C.; Clark, J.H.; Berger, L.L. and Merchen, M.R. 1991. Effects of treating oat hulls with alkaline hydrogen peroxide on intake and digestion by mid lactation dairy cows. J. Dairy Sci. **74**:77-189.
- 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. 1972. Metabolic aspects of non-protein nitrogen utilization in ruminant animals. Fed. Prod. **31**:1152-1164.
- Chalupa, W. 1977. Manipulating rumen fermentation. J. Anim. Sci. **45**:585.
- Cheeson, A. and Forsberg, C.W. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microflora. In: P.N. Hobson. Ed. The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science. London. pp251-284.
- 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.
- Church, C.D. and Pond, G.W. 1987. Fundamentos de nutrición y alimentación de los animales. 1a. Ed. Editorial LIMUSA. México. p 438.
- Coleman, G. S. 1986. 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.
- Corona, G.L.; Castrejón P.F.; Mendoza M.G.D.; y Cobos P.M. 1995. Degradabilidad ruminal de la fibra detergente neutro del rastrojo de maíz utilizando dos cultivos de Saccharomyces cerevisiae. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Vet. Mex 26. (Supl. 2). p 276.
- 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, Montecillo, Edo de México.
- 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. p 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. 1992. Current and future role of yeast culture in animal production: A review of research over the last seven years. In: T.P. Lyons Ed. Biotechnology in the feed Industry. Alltech Technical Publications (Suppl.), Nicholasville, KY.
- 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. P 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.

ESTA TERCERA NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Dildey, D. 1988. Getting paid for milk quality: Improving milk composition. Alltech's fourth symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nicholasville, KY, USA. P 45-65.
- 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.
- Egan, A.R. 1986. Principles of supplementation of poor quality roughages with nitrogen. In ruminant feeding systems utilizing fibrous agricultural residues. E. Anu., Camberra. pp 9-57.
- 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-Sacc<sup>1026</sup> 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. p. 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 Harle, 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.
- Fuller, R. 1986. Probiotics. J. App. Bact. Symposium Suppl. 1s-7s.
- Galloway, D.L. Sr.; Goetsch, A.L.; W. Sun and Garcia, L.L.A. and Medina, F. 1987. Effects of feeding viable microbial feed additives on performance of lactating cows in a large dairy herd. J. Dairy Sci. 70, suppl. 1.:217.
- Galloway, D.L. Sr.; Goetsch, A.L.; Sun, W. and Forester jr. L.A. 1991. Effect of addition of sodium bicarbonate salt, Aspergillus oryzae culture extract, niacin, lysine or phenylalanine to ground corn-based supplements on feed intake and digestion by Holstein steers consuming Bermuda grass (Cynodon dactylon) hay. Animal Feed Sci. and Technology. 32:261-273.
- 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.
- Goedeken, F.K.; Klopfenstein, T.J.; Stock, R.A. and Britton, R.A. 1990. Hidrolized feather meals as a protein source for growing calves. J. Anim. Sci. 68: 2945.

- Gómez-Alarcón, R.A.; Dudas, C. and Huber, J.T. 1987. Effect of *Aspergillus oryzae* (Amaferm) and yeast on feed utilization by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 70, suppl. 1:218.
- González, Muñoz S.S. 1995. Utilización de aditivos y agentes anabólicos para mejorar la producción de carne en bovinos. Memorias. 1er Seminario Ganadero, Tabasco, Mex.. Avances Tabasqueños. p 41-46.
- Greive, D.G. 1979. Feed intake and growth of cattle fed liquid brewers' yeast. *Can. J. Anim. Sci.* 59:89.
- 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.
- Harris, L.E. 1970. Métodos para el análisis químico y la evaluación biológica de alimentos para animales. Center for Tropical Agriculture. Feed composition projects Livestock avillon. Universidad of florida. Gainesville, Florida, U.S.A.
- 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.
- Harris, B. and Lobo, R. 1988. Feeding yeast culture to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70 (suppl. 1):276.
- Herros, M.M.; Huerta, D.J. y Ayala, O.J. 1995. Rendimiento productivo de becerras Holstein de reemplazo consumiéndolas dietas con dos niveles de melaza adicionando cultivo microbiano o inóforo. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Vet Mex. 26. (Supl. 2). p 245 (Abst).
- Hession, A.O.; Tung, R.S.; Kreck, E.M. and Kung L. 1992. Effect of adding live yeast cultures on in vitro ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 70 (suppl.1):309.
- 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 Bacteriology.* 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.
- Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalaludin, S. 1988. Penetrating structures of anaerobic rumen fungi in cattle and swamp buffalo. *J. Gen. Microbiol.* 143:177.



- 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.
- Hoyos, G., García, L. and Medina, F. 1987. Effects of feeding viable microbial feed additives on performance of lactating cows in a large dairy herd. J. Dairy sci. 70 (suppl. 1):217.
- Huber, J. T. 1987. Fungal additives for lactating cows. Department of Animal Sci. University of Arizona, USA.
- Huber, J. T.; Sullivan, J. and Taylor, B. 1989. Effect of Feeding Yea-Sacc on Milk production and related responses in a Commercial Dairy Herd in Arizona. Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's Fifth Annual Symposium.
- Hungate, R. E. 1966. The Rumen and its Microbes. Academic Press, N. Y.
- INEGI. 1994. Resultados definitivos Tomo I. VII Censo Agrícola Ganadero. Impreso en México.
- Joblin, K.N. 1981. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. Appl. Environ. Microbiol. 130: 27-37.
- 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 p 59-74.
- Jouany, J.P. 1994. Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. Ann Zootech. 43:49-62.
- Kumar, V.K.U.; Sareen, P.K. and Singh, S. 1994. Effet 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.; 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.
- Llamas, L.G.; Iracema, S.M. y Gómez, A. 1986. Respuesta a esquilmos de cereales y leguminosas y de subproductos del algodón al tratamiento alcalino con amonio (NH<sub>3</sub>) o hidróxido de sodio (NaOH). Tec. Pec. Méx. 51:68-74.

- 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.
- McLeod, K.R.; Karry, K.J.; Dawson, K.A. and Mitchell, jr., G.E. 1991. Influence of yeast culture and monensin on ruminal metabolic end products and feedlot performance, In: T. P. Lyons Ed. Biotechnology in the feed industry. Alltech Technical Publications, Nicholasville, KY.
- Mehrez, A.Z. and Orskov, E.R. 1977. A study of artificial bag technique for determining the digestibility of feed in the rumen. J. Agri. Sci., Camb. 88: 645-650.
- 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. p 97.
- 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.

- Mpofu, I.D.T. and Ndlovu, L.R. 1994. The potential of yeast and natural fungi for enhancing fibre digestibility of forages and roughages. Anim Feed Sci. and Technol. **48**:39-47.
- 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 p 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).
- Noa, Silverio Herly. 1991. La utilización de la caña de azúcar y subproductos de la agroindustria en la alimentación animal. GEPLACEA/PNUD.
- Orpin, C. G. and Letcher, A.J. 1978. Some factors controlling the attachment of the rumen Holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *L. prostoma* to plant particles in vitro. J. Gen. Microb. **106**:33-40.
- ØrsKov, E. R. 1977. Capacity for digestion and effects of composition of absorbed nutrients on animal metabolism. J. Anim. Sci. **46**:600.
- Pérez-Gavilán, E. J.P., Viniestra, G.G. y Roso Camacho. 1976. Evaluación bromatológica de suplementos protéicos para ganado bovino. I. Evaluación de la solubilidad de los compuestos nitrogenados. Veterinaria, México, **7**:8.
- Plata, P.F. y Mendoza, M.G. 1993. Efectos principales de los probióticos en los rumiantes. Memorias del Curso internacional de nutrición de rumiantes. 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.
- 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 utilisation 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.
- 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.
- Sempey, 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.
- Singh, B.; Makkar, H.P.S. and Negi, S.S. 1992. The kinetics of digestion in ruminants. A review. *Indian J. Dairy Sci.* 46,3:90-99.
- 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.
- 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. 1):521.(Abstr.)
- Teh, T.H.; Sahlu, T.; Escobar, E.N. and Cushaw J.L. 1987. Effect of live yeast and sodium bicarbonate on lactating goats. *J. Dairy Sci.* 70, Suppl. 1:200. (Abstr.)
- 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. y Rook, J.A.F. 1977. Manipulation of rumen fermentation. *Recent advances in animal nutrition*. William, H. y Dyfed L. p 83-109.
- Uden, P.; Edluc, 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.
- Urquiaga, S.; Boetteon, P. and Boddey, R.M. 1989. Nitrogen fixation with on legumes. *E.A. Skinner et al.* Eds. Klower acad. Pub. 311
- 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 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.
- 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 repeatead measurements in physiology experiments. In: Proc Final Research Coordination Meeting of the FAO/IAEA/ARCAI 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, 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. Then rumen protozoa. *Brock/Springer.* Series in contemporary Broscience.p 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., Macdearmid, A.; Innes, G.M. and Brewer, A. 1983. Turnips with chemically treated straw for beef production. 2. Effect of turnips on the degradability of straw in the rumen. *Anim. Prod.* 37:189.
- Willians, P.E.V. and Newbold, C.J. 1990. Rumen probiosis: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminat productivity. In: D.J.A. Cole and W. Haresing. *Recent advances in animal nutrition.* Butterworrrths, 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.

Zelenák, I.; D.Jalč, 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

CUADRO 4. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre el pH ruminal

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> - T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	5.91	5.52	5.64	.03	.0003	.0002
4	6.20	6.09	6.18	.04	.48	.31
8 *	6.54	6.35	6.50	.05	.30	.14
12	6.08	6.03	6.03	.03	.50	.55
16	5.85	5.70	5.89	.08	.75	.45
20	5.73	5.43	5.53	.03	.005	.004
Media	6.05	5.85	5.96	.05	.003	.01

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, tésigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.36).

\* Adición de levaduras



CUADRO 5. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración (mmol) de ácido acético en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> - T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	67.35	83.01	77.83	1.18	.0004	.0003
4	61.57	63.61	61.12	1.60	.83	.63
8 *	55.33	55.74	58.96	2.53	.71	.95
12	64.77	61.68	72.02	1.45	.51	.41
16	68.59	75.98	81.33	2.78	.06	.20
20	69.46	79.72	80.38	1.81	.02	.04
Media	64.51	69.96	71.94	1.86	.005	.03

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.09).

\* Adición de la levadura

CUADRO 6. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración (mmol) de ácido propiónico en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	T r a t a m i e n t o s <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	C o n t r a s t e s <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> - T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	20.59	26.06	21.96	1.30	.24	.12
4	16.86	17.90	16.33	0.72	.87	.57
8 *	18.60	18.17	18.03	1.25	.86	.89
12	24.64	22.53	25.30	1.01	.75	.42
16	25.98	28.13	26.78	1.50	.65	.57
20	24.14	29.47	25.71	1.60	.33	.20
Media	21.80	23.71	22.36	1.26	.50	.38

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.56).

\* Adición de levaduras

CUADRO 7. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración (mmol) de ácido butírico en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	T r a t a m i e n t o s <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	C o n t r a s t e s <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	11.32	13.69	13.70	.41	.02	.04
4	10.63	9.61	11.27	.54	.87	.46
8 *	8.51	9.22	10.17	.56	.34	.61
12	12.05	11.28	14.44	.38	.34	.43
16	11.94	13.73	15.51	.54	.04	.20
20	11.44	13.71	14.73	.49	.02	.09
Media	10.98	11.87	13.30	.49	.049	.30

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.14).

\* Adición de levaduras

CUADRO 8. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración (mmol) de ácidos grasos volátiles en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	99.26	122.76	113.48	2.26	.003	.002
4	89.05	91.12	88.71	2.31	.86	.72
8 *	82.44	83.13	87.20	4.08	.76	.95
12	101.45	95.49	111.77	3.47	.68	.35
16	106.51	117.84	123.61	5.49	.11	.26
20	105.04	122.90	120.83	3.12	.03	.04
Media	97.29	105.54	107.60	3.11	.02	.05

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.14).

\* Adición de levaduras.

CUADRO 9. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proporción molar de ácido acético en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	67.85	68.22	68.64	.74	.72	.84
4	69.15	69.33	68.96	.65	.99	.91
8 *	67.67	67.46	68.62	.67	.80	.90
12	64.24	64.62	64.48	.64	.83	.81
16	64.56	64.40	66.19	.75	.65	.93
20	66.08	65.35	67.02	.86	.96	.74
Media	66.59	66.56	67.32	.72	.81	.99

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo, T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.74).

\* Adición de levaduras

CUADRO 10. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proporción molar de ácido propiónico en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	20.71	20.53	19.28	.72	.61	.92
4	18.85	20.36	18.47	.76	.73	.43
8 *	22.02	21.67	19.73	.60	.32	.82
12	24.08	23.44	22.55	.60	.41	.67
16	24.24	24.05	21.30	.73	.34	.92
20	23.03	23.35	20.83	.89	.63	.88
Media	22.15	22.23	20.36	.72	.53	.96

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.76).

\* Adición de levaduras

CUADRO 11. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proporción molar de ácido butírico en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	11.44	11.25	12.09	.33	.76	.82
4	12.00	10.31	12.58	.46	.58	.16
8 *	10.31	10.87	11.65	.34	.22	.52
12	11.67	11.93	12.98	.23	.14	.65
16	11.20	11.55	12.51	.21	.09	.50
20	10.89	11.29	12.15	.32	.25	.62
Media	11.25	11.20	12.33	.33	.27	.92

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.60).

\* Adición de levaduras

CUADRO 12. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración de nitrógeno amoniacal (mg/dl) en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	4.80	8.08	4.91	0.51	.15	.02
4	5.08	5.43	4.72	0.36	.99	.71
8 *	10.03	10.04	11.10	0.97	.80	.99
12	17.10	13.79	15.26	0.48	.03	.02
16	12.16	13.81	12.63	0.88	.58	.46
20	6.25	11.67	7.66	0.68	.04	.009
Media	9.24	10.47	9.38	0.68	.10	.02

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, tésstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.13).

\* Adición de levaduras



CUADRO 13. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración de Holotricos (microorganismos x 10<sup>4</sup>) en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	0.87	1.82	0.94	.26	.37	.16
4	1.05	1.17	0.85	.13	.90	.70
8 *	1.52	1.42	2.58	.29	.45	.89
12	3.72	3.52	2.85	.53	.64	.88
16	1.85	2.85	2.48	.32	.26	.22
20	1.16	2.58	2.53	.35	.09	.13
Media	1.70	2.23	2.04	.33	.19	.17

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.57).

\* Adición de levaduras

CUADRO 14. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración de Entodinomorfos (microorganismos x 10<sup>4</sup>) en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	59.90	62.22	80.02	4.74	.29	.85
4	67.73	65.01	85.02	4.57	.47	.81
8 *	50.23	40.51	63.54	3.74	.83	.31
12	45.92	41.06	57.35	5.04	.76	.70
16	40.48	52.46	66.75	3.83	.04	.23
20	52.59	78.09	106.50	10.44	.10	.34
Media	52.80	56.56	76.53	5.86	.08	.65

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.56).

\* Adición de levaduras

CUADRO 15. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la concentración de protozoarios totales (microorganismos x 10<sup>4</sup>) en el rumen

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
0	60.77	64.04	80.97	4.87	.28	.79
4	68.78	66.18	85.86	4.62	.48	.82
8 *	51.75	41.94	66.12	3.79	.78	.31
12	49.64	44.58	60.20	5.04	.81	.70
16	42.33	55.31	69.22	3.98	.04	.21
20	53.75	80.67	109.03	10.68	.10	.33
Media	54.50	58.79	78.57	5.98	.08	.62

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.53).

\* Adición de levaduras

CUADRO 16. Adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre consumo (g) de materia seca (CMS), volumen (l) ruminal (VOLR) y la tasa (%/h) de flujo (TP)

Factor	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
CMS	1183	1379	1401	34.38	.10	.15
VOLR	0.59	0.79	0.85	.03	.07	.12
TF	9.00	9.00	10.00	.51	.69	.99

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 17. Adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre digestibilidad (%) aparente (DA): total de la materia seca (DATMS), ruminal de la MS (DARMS), MS Ruminal (DAMSR); y digestibilidad aparente por nutrimento (DAN) de la materia seca (DANMS), materia orgánica (DANMO), fibra detergente neutro (DANFDN), y fibra detergente ácido (DANFDA)

Factor	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
DATMS	44.54	45.71	46.43	1.44	.67	.77
DARMS	17.42	37.32	21.30	4.39	.33	.21
DAMSR	0.22	0.51	0.29	.15	.23	.14
DANMS	77.26	77.64	79.32	.79	.54	.86
DANMO	87.07	87.17	89.07	.99	.66	.97
DANFDN	38.99	35.80	32.09	2.22	.40	.62
DANFDA	16.72	16.34	18.55	2.32	.90	.95

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, tésigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 18. Adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre el flujo (kg/h) a duodeno (FD) : de la materia seca (FDMS), fibra detergente neutra (FDFDN), fibra detergente ácida (FDFDA), proteína bruta (FDPB) y proteína verdadera (FDPV)

Factor	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
FDMS	0.040	0.036	0.046	.003	.88	.60
FDFDN	0.023	0.021	0.027	.002	.79	.76
FDFDA	0.016	0.014	0.048	.008	.91	.53
FDPB	0.007	0.005	0.007	.003	.57	.14
FDPV	0.004	0.003	0.004	.003	.90	.52

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

Cuadro 19 . Adición de levadura Saccharomyces cerevisiae en dietas para ovinos a base de punta de caña sobre el perfil de aminoácidos (g/100 de MS) a nivel duodenal.

Aminoácidos	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> - T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
Aspártico	1.10	0.90	1.12	0.01	.07	.02
Glutámico	1.54	1.23	1.53	0.02	.09	.03
Serina	0.67	0.57	0.68	0.02	.38	.19
Histidina	0.15	0.12	0.16	0.002	.35	.04
Glicina	0.48	0.42	0.50	0.007	.35	.09
Treonina	0.53	0.43	0.55	0.01	.19	.045
Arginina	0.43	0.35	0.44	0.02	.43	.18
Alanina	1.08	0.96	0.95	0.03	.21	.28
Tirosina	0.43	0.34	0.46	0.02	.49	.16
Metionina	0.71	0.70	0.74	0.07	.97	.94
Valina	0.68	0.61	0.71	0.02	.76	.38
Fenilalanina	0.45	0.40	0.50	0.01	.99	.27
Isoleucina	0.67	0.66	3.67	0.02	.90	.83
Leucina	1.40	1.30	1.55	0.05	.87	.50
Lisina	0.52	0.65	0.64	0.11	.64	.67
Total	10.83	9.65	11.22	0.20	.45	.14

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

Cuadro 20. Adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en dietas para ovinos a base de punta de caña sobre el flujo de aminoácidos (g/d) a duodeno.

Aminoácidos	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
Aspártico	10.63	7.73	12.49	0.53	.69	.15
Glutámico	14.75	10.54	17.12	0.79	.63	.16
Serina	6.55	4.89	7.54	0.32	.67	.17
Histidina	1.41	1.05	1.79	0.07	.95	.18
Glicina	4.65	3.60	5.62	0.24	.94	.22
Treonina	5.12	3.68	6.24	0.26	.80	.15
Arginina	4.20	2.97	4.92	0.08	.27	.02
Alanina	10.47	8.34	10.46	0.33	.26	.12
Tirosina	4.20	2.92	5.11	0.22	.74	.14
Metionina	6.43	5.80	8.27	0.79	.75	.78
Valina	6.54	5.20	7.92	0.30	.98	.21
Fenilalanina	4.42	3.46	5.62	0.18	.77	.16
Isoleucina	6.52	6.05	7.64	0.62	.83	.79
Leucina	13.85	12.91	15.88	0.79	.77	.68
Lisina	4.80	5.14	7.00	0.81	.54	.88
Total	104.49	84.38	123.75	5.18	.97	.25

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media..

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.



CUADRO 21. Adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la digestibilidad *in situ* (%) de la MS

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> - T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
12	27.82	27.31	27.45	.22	.37	.37
24	35.60	35.26	35.12	.39	.63	.63
48	39.59	42.73	39.97	.28	.01	.0009
72	46.32	46.16	46.43	.47	.98	.89
96	48.43	49.13	49.59	.46	.37	.55
Media	39.55	40.12	39.71	.38	.41	.29

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.08).

CUADRO 22. Efecto de la adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* sobre la degradabilidad *in situ* (%) de la fibra detergente neutro

Hora de muestreo <sup>4</sup>	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	Contrastes <sup>3</sup>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>		T <sub>1</sub> Vs T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> Vs T <sub>3</sub>
12	10.00	8.00	9.67	.64	.41	.23
24	20.10	16.95	17.61	.84	.15	.16
48	24.63	30.03	23.66	.54	.08	.002
72	28.84	31.49	32.78	.86	.10	.24
96	37.21	35.07	38.26	.75	.74	.27
Media	24.16	24.31	24.40	.74	.79	.86

<sup>1</sup> T<sub>1</sub>, téstigo; T<sub>2</sub>, Yea-Sacc (3 g/animal/día) y T<sub>3</sub>, Levucell (1 g/animal/día).

<sup>2</sup> EEM: Error estandar de la media.

<sup>3</sup> Probabilidad de error tipo I.

<sup>4</sup> Interacción tiempo por tratamiento (P=.004).

CUADRO 23. Análisis de correlación múltiple

FACTOR	C. R. <sup>1</sup>	E. I <sup>2</sup>	FACTOR	C. R. <sup>1</sup>	E. I <sup>2</sup>	
Consumo	Holotricos	.71	.0009	Acetato	.55	.02
				Butirato	.67	.0002
				Σ AGVs	.56	.01
				Σ Protozoos	.57	.01
	Acetato	.79	.0001	Butirato	.76	.0002
				Σ AGVs	.92	.0001
				pH	-.55	.02
				in situ MS	-.56	.02
				Tasa flujo	-.68	.045
	Butirato	.75	.0004	Σ AGVs	.70	.001
pH				-.42	.08	
in situ MS				-.57	.01	
in situ FDN				-.50	.03	
Σ AGVs	.78	.0001	Amoniaco	.46	.052	
			pH	-.71	.001	
			in situ MS	-.50	.03	
			Tasa flujo	-.61	.08	
pH	-.61	.007	Amoniaco	-.66	.003	
			in situ MS	.52	.03	
			in situ FDN	.49	.04	
in situ MS	-.61	.008	in situ FDN	.86	.0001	
			in situ FDA	.70	.048	
in situ FDN	-.45	.06				
Tasa flujo	-.68	.04				

<sup>1</sup>C. R.: Coeficiente de correlación

<sup>2</sup>E. I: Probabilidad de error tipo I.

CUADRO 23. continuación

	FACTOR	C. R. <sup>1</sup>	E. I. <sup>2</sup>	FACTOR	C. R. <sup>1</sup>	E. I. <sup>2</sup>
	Butirato	.46	.06			
Entodínios	FMSD	-.65	.06	FFDND	.97	.0001
				FFDAD	.97	.0001
				FPBD	.90	.0008
				FPVD	.95	.0001
	FPBD	-.83	.005	FPVD	.94	.0002
	FPVD	-.67	.046			
	Acetato	.46	.052			
	Butirato	.76	.0002			
	FMSD	-.68	.04			
Protozoos				FPBD	.86	.002
				FPVD	.90	.001
	FFDAD	-.62	.07			
	FFDND	-.64	.06			
	FPBD	-.78	.01			
	FPVD	-.62	.07			
Propionato	pH	-.63	.005			
	∑AGVs	.65	.004			
	Amoniaco	.80	.0001			
Volúmen	DAMSC	-.67	.047	in situ MS	.66	.054
				DMSN	.86	.003
				DFDAN	.97	.0001
	DFDAN	-.74	.02			

<sup>1</sup> C. R.: Coeficiente de correlación

E. I.: Probabilidad de error tipo I

CUADRO 23. continuación

	FACTOR	C. R. <sup>1</sup>	E. I <sup>2</sup>
DRMSC	FPBD	-.67	.05
	MSDRC	.95	.0001
DMSN	DMON	.80	.01
	DFDAN	.90	.001

<sup>1</sup> C. R.: Coeficiente de correlación

<sup>2</sup> E I: Probabilidad de error tipo I.

<sup>3</sup> DRMSC: digestibilidad ruminal de la materia seca con cromo.

<sup>4</sup> DMSN: digestibilidad de la materia seca por nutriente.