



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

**EFFECTO DE UN SUPLEMENTO LÍQUIDO DE BACTERIAS ACIDO
LÁCTICAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y LA
FORMACIÓN DE PROTEÍNA BACTERIANA EN OVINOS
ALIMENTADOS A BASE DE HENO DE ALFALFA (*Medicago sativa*)
O RASTROJO DE MAÍZ (*Zea mays*).**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS

P R E S E N T A

J O S É L U I S F R A N C O N I E T O

TUTOR: Miguel Angel Galina Hidalgo.

COMITÉ TUTORAL: Claudia Delgadillo Puga.

Fernando Pérez-Gil Romo.

CUAUTITLÁN IZCALLI

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mis padres (J. Carmen Franco y Candida Nieto) en agradecimiento a la vida que me han dado y por la libertad de escoger mi propio camino.

A mis hermanos (José, Marcelo, Lucia, Juana, Abraham, Lore, Toni, Polo y Anita), que en lo particular, han aportado cada uno, un granito de arena para darle forma a mi proyecto de vida.

A mis familiares y amigos como muestra de gratitud, por haber estado ahí cuando más los he necesitado.

A todos mis maestros, cuyos consejos y enseñanzas han hecho eco en mi forma de ser, sentir y vivir la vida.

A mis productores y alumnos, que a lo largo de mi vida estudiantil y profesional, me han escuchado y me han dejado transmitir los conocimientos que para ellos busco, gracias por su paciencia y dedicación.

A los compañeros de trabajo y profesión, que han estado al pendiente del desarrollo de este trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la FES- Cuautitlán, por acogerme y darme la oportunidad de cursar el programa de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubiran” por permitirme desarrollar en sus instalaciones los estudios relacionados con el proyecto, en el área de Nutrición Animal, en particular a todo el personal de éste departamento por sus atenciones y consejos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su valioso apoyo económico durante la realización del trabajo de investigación.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), por su apoyo económico para la elaboración y conclusión de esta tesis.

A mi Comité Tutorial, por su tiempo y dedicación para llevar a buen término este trabajo.

- Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo como tutor principal, por haber depositado su confianza en mí para desarrollar esta etapa de estudio.

- Dra. Claudia Delgadillo Puga, por compartir conmigo sus experiencias y su tiempo.

- Dr. Fernando Pérez-Gil Romo, por sus consejos acertados en los momentos difíciles.

A los Doctores: Leonor Sangines, Silvia Buntinx, Leonel Martínez y Luis Corona, por sus consejos y aportes para la culminación de este trabajo de tesis.

A los compañeros: Angélica, Mario, Sinuhé y Martín, por su invaluable apoyo, trabajo y compañía.

I. RESUMEN

Se realizó un ensayo para determinar el efecto de un suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL) sobre la fermentación ruminal y la producción de proteína microbiana en ovinos, alimentados con dietas de alfalfa o rastrojo de maíz, evaluado con un cuadrado latino 4x4; se utilizaron cuatro ovinos machos adultos, cruza de Pelibuey por Katahdin con un peso promedio de 52.4 Kg., dotados de cánulas ruminales, alimentados con 4 tratamientos: T1: alfalfa 55% y concentrado comercial 45%, T2: alfalfa 50%, concentrado comercial 40% y SULIBAL 10%, T3: rastrojo de maíz 55% y concentrado comercial 45%, T4: rastrojo de maíz 50%, concentrado comercial 40% y SULIBAL 10%. El suplemento líquido se elaboró con subproductos agroindustriales, suero de quesería y yogurt como fuentes de bacterias ácido lácticas. El efecto del suplemento a nivel ruminal se midió a través del pH, la producción de amoníaco, la producción de ácidos grasos volátiles, la degradabilidad *in situ* de la materia seca; se determinó el balance de nitrógeno y la excreción de derivados de purina, como indicador de la síntesis de proteína microbiana. El pH ruminal fue más bajo en los tratamientos testigo (T1:6.07 > T2:6.17 y T3:5.97 > T4:6.12), el amoníaco total en el tratamiento uno fue menor (74.6) que en el tratamiento dos (73.6), en el tratamiento tres (62.7) fue mayor que en el tratamiento cuatro (61.92); los niveles de ácidos grasos volátiles se vieron afectados por el forraje, el mayor efecto del suplemento líquido se observó en los niveles de ácido propiónico; la desaparición *in situ* de la materia seca fue mayor en los tratamientos con suplemento líquido (T2:83.68 y T4:76.78 > T1:71.95 y T3:73.01); en el nitrógeno retenido no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los tratamientos 1 y 2 (T1:13.59 y T2:13.54) sin embargo en los tratamientos 3 y 4, si (T3:0.77 < T4:2.23), los derivados de purina registraron diferencia estadística T2:22.08a, T1:19.79b, T4:18.41b y T3:16.20c. La adición del suplemento líquido repercutió en la fermentación microbiana de los forrajes en el rumen, incrementó el consumo, mejoró la degradabilidad del forraje, incrementó la producción de nitrógeno microbiano y elevó su retención, mantuvo los niveles de pH ruminal sin alterar la producción de amoníaco, ni la concentración de ácidos grasos volátiles. Se concluye que las dietas con SULIBAL tuvieron una mejor fermentación ruminal

Palabras clave: suplemento líquido, bacterias ácido lácticas, ovinos.

II. ABSTRACT

An experiment was conducted to measure the effect of a liquid supplement formed by lactic bacteria (SULIBAL) on the ruminal fermentation and the microbial protein production in sheep, fed with diets based on alfalfa or corn straw with a commercial concentrate measured in a Latin 4x4 design. Four adult male ovines were used, crosses of Pelibuey by Katahdin average weight of 52,4 kg, equipped with ruminal cannulas, fed with 4 treatments: T1: alfalfa 55% and commercial concentrate 45%, T2: alfalfa 50%, commercial concentrate 40% and SULIBAL 10%, T3: maize straw 55% and commercial concentrate 45%, T4: maize straw 50%, commercial concentrate 40% and SULIBAL 10%. The supplement liquid was elaborated with agro-industrial by-products, based on cheese whey and yogurt as sources of lactic bacteria. The effect of the supplement at ruminal level was measured through pH, ammonia production, volatile fatty acids production, *in situ* DM degradability; nitrogen balance and the excretion of purine derivatives, to determine microbial protein formation. The ruminal pH was lower in the treatments (T1: 6.07 > T2: 6.17 and T3: 5.97 > T4: 6.12), the total ammonia in the treatment one was smaller (74.6) than in treatment two (73.6), in treatment three (62.7) was major than in treatment four (61.92); the volatile fatty acid levels were affected by the forage source, the greater effect of the liquid supplement was observed in the propionic acid levels; the disappearance *in situ* of the dry matter was greater in the treatments with the liquid supplement (T2: 83.68 and T4: 76.78 > T1: 71.95 and T3: 73.01); Retained nitrogen showed significant differences ($P > 0.05$) in treatments 1 and 2 (T1: 13.59 and T2: 13.54) and no differences in treatments 3 and 4, if (T3: 0.77; T4: 2.23), purine derivatives registered statistical difference T2: 22.08a, T1: 19.79b, T4: 18.41b and T3: 16.20c. The addition of the liquid supplement improved the microbial fermentation of forages in the rumen, increased consumption, improved degradability of the forage, increased microbial nitrogen production and elevated its retention, maintained the levels of ruminal pH without altering the ammonia production, nor the volatile fatty acid concentration. One concludes that the diets with SULIBAL had an effect in improving ruminal fermentation

Keywords: liquid supplement, lactic acid bacteria, sheep.

III. ÍNDICE GENERAL

I.	RESUMEN.....	iii
II.	ABSTRACT.....	iv
III.	ÍNDICE GENERAL.....	v
IV.	ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
V.	ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	ix
VI.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
VII.	INTRODUCCIÓN.....	1
VIII.	ANTECEDENTES.....	4
VIII.1	LA OVINOCULTURA EN MÉXICO.....	4
VIII.1.1	Sistemas productivos en la ovinocultura mexicana.....	5
VIII.1.1.1	Sistema tecnificado o intensivo.....	5
VIII.1.1.2	Sistema semitecnificado o semiintensivo.....	5
VIII.2.1.3	Sistema de traspatio, extensivo o de.....	
	autoabastecimiento.....	6
VIII.2	ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES.....	7
VIII.2.1	Alimentación de los ovinos en México.....	8
VIII.2.2	Alimentos fibrosos (forrajes y pastos).....	8
VIII.3	FISIOLOGÍA DEL TRACTO DIGESTIVO DEL RUMIANTE.....	10
VIII.3.1	El proceso de la rumia.....	12
VIII.4	METABOLISMO RUMINAL.....	13
VIII.4.1	Fermentación ruminal.....	13

VIII.5	EL MEDIO AMBIENTE RUMINAL.....	15
VIII.5.1	Microorganismos ruminales.....	16
VIII.5.1.1	Bacterias.....	16
VIII.5.1.2	Protozoarios.....	18
VIII.5.1.3	Hongos.....	18
VIII.6	DIGESTIÓN MICROBIANA DE LOS POLISACÁRIDOS.....	20
VIII.6.1	Actividad enzimática frente a polisacáridos estructurales..	21
VIII.6.2	Organismos implicados en la digestión de la pared celular vegetal	22
VIII.7	FORMACIÓN DE PROTEÍNA BACTERIANA Y SU EVALUACIÓN.....	26
VIII.8	ESTRATEGIAS PARA LA ALIMENTACIÓN DE LOS OVINOS.....	27
VIII.8.1	Uso de esquilmos agrícolas y subproductos.....	27
VIII.8.2	Uso de carbohidratos fermentables.....	27
VIII.8.3	Uso de pollinaza o cama de pollo.....	28
VIII.8.4	Uso de fuentes de nitrógeno no proteico.....	28
VIII.8.5	Uso de minerales.....	30
VIII.8.6	Uso de suero de quesería.....	31
VIII.9	ESTRATEGIAS DE SUPLEMENTACIÓN PARA MEJORAR LA FERMENTACIÓN RUMINAL.....	33
VIII.9.1	Algunos aditivos empleados en la alimentación ovina	33
VIII.9.1.1	Ionóforos y Antibióticos.....	34
VIII.9.1.2	Enzimas.....	35
VIII.9.1.3	Ácidos orgánicos.....	36
VIII.9.1.4	Microorganismos probióticos.....	38

VIII.10 MEJORAS PROPORCIONADAS POR LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS.....	39
III.10.1 Hongos probióticos.....	40
III.10.2 Bacterias probióticas.....	42
IX. OBJETIVOS.....	48
IV.1 GENERAL.....	48
IV.2 PARTICULARES.....	48
X. HIPÓTESIS.....	49
XI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	50
VI.1 DIETAS.....	50
VI.2 ANIMALES.....	51
VI.3 ANÁLISIS QUÍMICO.....	51
VI.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	55
XII. RESULTADOS.....	56
XIII. DISCUSIÓN.....	67
XIV. CONCLUSIÓN.....	76
XV. LITERATURA CITADA.....	77

IV. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Diversidad bacteriana del ecosistema microbiano ruminal en animales domésticos y salvajes.	17
Cuadro 2.	Utilización de carbohidratos por bacterias ruminales celulolíticas y no celulolíticas.	23
Cuadro 3.	Enzimas de uso común como aditivos alimenticios	36
Cuadro 4.	Efecto de los probióticos en pre-rumiantes.....	39
Cuadro 5.	Microorganismos utilizados como probióticos en los animales y el hombre.	43
Cuadro 6.	Contenido de colesterol de varias partes de la canal fresca de... cordero y la reducción (%) observada en el grupo alimentado con suplemento de <i>L. acidophilus</i>	47
Cuadro 7.	Composición química de los ingredientes utilizados	
	para elaborar los tratamientos experimentales.....	56
Cuadro 8.	Composición química de los tratamientos experimentales.....	57
Cuadro 9.	Consumo de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y ... nitrógeno (N), g/día.....	58
Cuadro 10.	Efecto de los tratamientos sobre la concentración de amoníaco ... (NH ₃ mg/1000ml) ruminal.	60
Cuadro 11.	Efecto de la inclusión del SULIBAL sobre la producción total y.... porcentual de los AGV's.....	62
Cuadro 12.	Digestibilidad <i>in vivo</i> y metabolismo del nitrógeno en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales.....	63
Cuadro 13.	Fracción degradable y no degradable, tasa de degradación y tiempo medio (t _{1/2} horas) de degradación de la materia seca (MS) de los tratamientos experimentales.	65
Cuadro 14.	Derivados de purina excretados en la orina (mmol/día).....	66

V. ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafica 1.	Cinética de pH ruminal en ovinos alimentados con los	
	tratamientos experimentales	59
Grafica 2.	Concentración de amoniaco ruminal en ovinos alimentados con ..	
	los tratamientos experimentales	61
Grafica 3.	Cinética de desaparición <i>in situ</i> de la materia seca (MS).....	64

VI. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema de la formación y metabolismo de los productos finales de la fermentación	14
Figura 2.	Vías metabólicas de la fermentación, producción y utilización del hidrógeno en el rumen.	16
Figura 3.	Esquemmatización del modo de acción de las levaduras.....	41
Figura 4.	Mecanismos de acción de las bacterias prebióticas.....	46

VI. INTRODUCCIÓN

La ganadería, y en específico la producción de carne, es después de la agricultura, la actividad económica preponderante en el medio rural; se realiza en todas las regiones ecológicas del país, aún en condiciones adversas que no permiten la práctica de otras actividades productivas. La ovinocultura se ha desarrollado hasta ubicarse actualmente como una actividad económica importante en la participación del abasto de carne requiriendo una evolución tecnológica en las actividades ganaderas, algunos sistemas con una clara tendencia a la estabulación y el manejo de dietas basadas en forrajes de alta calidad y elevado contenido de granos forrajeros, y otros que utilizan pastos y forrajes toscos, subproductos agrícolas, principalmente pajas y rastrojos para la alimentación del ganado **(SAGARPA , 2005)**.

Una de las estrategias de alimentación más apropiada de producción pecuaria para los países de escasos recursos es modificar los sistemas existentes, aprovechando los conocimientos nuevos para asegurar la utilización eficiente de los recursos alimenticios disponibles, particularmente el uso de los forrajes fibrosos **(Preston y Leng, 1989)**.

Para incrementar la productividad de los recursos forrajeros fibrosos se requiere del establecimiento de un ecosistema ruminal que maximice la digestibilidad de la fibra, complementando los elementos que limitan la capacidad fermentativa microbiana **(Leng et al., 1991)**.

Las limitaciones nutricionales de estos materiales se resuelven con una adecuada suplementación, con nutrientes críticos de baja degradabilidad en el rumen, principalmente proteína, y un mejoramiento de la eficiencia en la fermentación ruminal, mediante el aporte de nutrientes en la dieta como nitrógeno no proteico (NNP) y minerales que permiten un mejor ambiente para el desarrollo de las bacterias fibrolíticas **(Leng, 1990)**.

Uno de los aportes importantes para el mejoramiento de la fermentación ruminal ha sido agregar carbohidratos solubles, la utilización de la melaza (subproducto de la industria azucarera) como fuente de energía para los microorganismos anaerobios ruminales, permite sustituir a los cereales en la alimentación de los rumiantes **(Elías, 1983)**.

Actualmente se cuenta con múltiples innovaciones técnicas en el área de producción animal, en lo referente al establecimiento, manejo y utilización de especies forrajeras, particularmente en pastoreo, además del aprovechamiento y tratamiento de esquilmos agrícolas e industriales, todo ello enfocado a incrementar la productividad de las empresas pecuarias, con la utilización de los forrajes abundantes en fibra generalmente de menor costo **(Galina et al., 2004 a)**.

Uno de los retos para el sector ganadero es hacer rentables los sistemas de producción con escasa tecnología, utilizando productos biológicos nuevos, biodegradables, con efectos semejantes a los antiguos aditivos y sin riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente **(Caja et al., 2003)**.

El uso de cultivos de microorganismos como agentes deslignificantes es una de las tecnologías disponibles. Suelen ser administrados en el agua o en el alimento, para aumentar la degradabilidad de las paredes celulares de los alimentos y mejorar las características nutricionales de la dieta pues se agrega proteína bacteriana **(Galina et al., 2003)**.

Los microorganismos que constituyen los probióticos son principalmente bacterias capaces de producir ácido láctico, que son las más conocidas, pero también se incluyen bacterias no lácticas, levaduras y hongos **(Caja et al., 2003)**. Los productos fermentados de leche son considerados los vehículos más adecuados para el crecimiento de bacterias probióticas. Se ha confirmado la presencia de múltiples especies de bacterias ácido lácticas con función probiótica en el yogurt y en los quesos, entre ellos destacan los géneros:

Lactobacillus spp. (*L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. reuteri*, *L. paracasei*, *L. helveticus*) y *Bifidobacterium spp.* (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum* y *B. lactis*) (**Vinderola et al., 2000; Farnworth, 2001**).

La presencia de estas bacterias en el rumen ocasiona una disminución en el pH por su producción de ácido láctico que permite el crecimiento de bacterias que metabolizan este sustrato en ácido propiónico, además de incrementar la digestibilidad de la materia seca de ingredientes específicos, particularmente la celulosa y hemicelulosa de las paredes celulares de los forrajes fibrosos. Se ha demostrado que podrían tener una influencia positiva en vacas lecheras, disminuyendo el estrés pre y posparto, en el balance energético e incluso en el aumento de la producción de leche (**Nocek et al., 2003**).

Kung y Hession (1995) señalan en investigaciones con becerros lactantes reducción en la incidencia de diarreas y en la presencia de coliformes en el intestino; y un incremento en la ganancia diaria de peso en ganado de engorda, por otro lado la presencia bacterias ruminales convertidoras de ácido láctico y glucosa en acetato y propionato, como *Propionibacterium spp* y *Megasphaera elsdenii*; éstas impiden la acumulación de lactato previendo, así, la acidosis láctica, además reducen la toxicidad del nitrato y toleran el pH de dietas altas en concentrado. La adición de estos microorganismos puede disminuir el tiempo de adaptación a la dieta, y el efecto de la acidosis crónica. *M. elsdenii* es la principal bacteria ruminal que utiliza el lactato, es capaz de fermentar más del 97% de éste en el rumen (**Counotte et al., 1981**).

El objetivo del presente estudio fue incrementar la eficiencia de los forrajes fibrosos en la producción ovina, mediante el uso de un suplemento líquido de bacterias ácido lácticas (SULIBAL), para lo cual se determinó la cinética de la fermentación ruminal, los cambios del pH, la producción de amoníaco (NH₃) y de ácidos grasos volátiles (AGV's), así como la tasa de degradabilidad *in situ* de la materia seca.

VIII. ANTECEDENTES

LA OVINOCULTURA EN MÉXICO

La producción de carne, se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas, rurales o urbanas del país, aún en condiciones adversas, que no permiten la práctica de otras actividades remuneradoras **(SAGARPA, 2000)**.

Los ovinos son de los animales que más beneficios han proporcionado al hombre desde etapas muy tempranas de su historia hasta nuestros días, proporcionando productos como carne y grasa, para su alimentación; huesos y cuernos como herramientas; vísceras como recipientes y las pieles cubiertas de pelo y lana como abrigo **(De Lucas y Arbiza, 2000)**.

Tal como sucede en otros sectores de la ganadería en México, la ovinocultura se ha visto frenada por diversos factores que no permiten al productor consumir una empresa rentable, entre ellos; el escaso desarrollo de tecnologías de bajo costo y el aprovechamiento inadecuado de los recursos alimenticios regionales **(Galina et al., 2004 a)**.

Aunque la participación en el abasto de carne por parte de la ovinocultura es baja, ésta tiene una gran importancia dentro de la ganadería debido a que es desarrollada principalmente por productores de bajos recursos, por lo que ha sido considerada durante mucho tiempo como una actividad de subsistencia marginal. Actualmente esta forma de pensar ha dado un giro, debido a una serie de cambios en la producción ovina en el país, ubicando a ésta como una actividad económica importante **(SAGARPA, 2000)**.

Sistemas productivos en la ovinocultura mexicana

La crianza ovina, como otras actividades del sector ganadero, ocurre en una amplia gama de sistemas productivos, desde los altamente tecnificados e integrados, hasta las economías de tipo campesino, orientadas principalmente hacia el autoconsumo **(SAGARPA, 2000)**. La división depende de la forma en que se realiza el proceso productivo, el nivel de tecnología aplicada, los sistemas de organización interna del rebaño y los mercados que se atienden. De acuerdo con éstas características, la producción se agrupa en tres categorías: tecnificada o intensiva, semitecnificada o semiintensiva y extensiva, de traspatio, o de autoabastecimiento **(Ortiz, 1999)**.

Sistema tecnificado o intensivo

También llamado empresarial, generalmente comprende rebaños estabulados, con grandes inversiones y búsqueda de alta eficiencia productiva. En él sobresalen dos tipos de productores: los que trabajaban con otras especies (principalmente cerdos o aves) y han integrado o han cambiado a los ovinos, y los nuevos, que sin experiencia previa han incursionado en la actividad **(De Lucas y Arbiza, 2004)**. Es un sistema de reciente aparición, en el que se utiliza tecnología de punta, equivalente a la empleada en las naciones más desarrolladas en producción ganadera. El grado de integración del rebaño es total, con un pie de cría de alta genética, asegurando la calidad de los animales destinados a la engorda y la estandarización de los semovientes enviados al abasto **(SAGARPA, 2000)**.

Sistema semitecnificado o semiintensivo

En éste sistema se ubican principalmente productores tradicionales y aquéllos que, debido a limitados márgenes de utilidad, han visto imposibilitado el proceso de inversiones que permitan elevar las tecnologías y la genética. Se pueden ver adelantos tecnológicos en ciertas áreas de producción; sin

embargo, el menoscabo de una mejora integral se refleja en una disminución en la productividad y una falta de competitividad en su producción. Dentro de este estrato de producción se encuentra la mayor proporción de las unidades de producción de ovinos en el país **(SAGARPA, 2000)**.

En el sistema semitecnificado destaca el pastoreo con complementación en corral, con la estabulación parcial o total de los animales de engorda y la combinación de actividades agrícolas y pecuarias, destacando los sistemas agrosilvopastoriles; donde se combinan árboles frutales o de maderas preciosas y forrajes, con el pastoreo de los ovinos **(De Lucas y Arbiza, 2004)**.

Sistema de traspatio, extensivo o de autoabastecimiento

Es el sistema más antiguo del país; se encuentra prácticamente en todo el territorio nacional, su relevancia radica en que es una fuente de abasto de carne en zonas en donde los canales comerciales formales no operan, por lo que no se ve afectado en los niveles de producción y precios por las variaciones registradas en los grandes centros de consumo **(SAGARPA, 2000)**.

Conocido también como ganadería social o tradicional, en ella se encuentran productores con rebaños y predios pequeños, cuyo objetivo es el ahorro o autoconsumo; carece de tecnología, la genética de los animales es baja, el manejo sanitario es prácticamente nulo y, por lo mismo, sus niveles de producción son pobres; sin embargo, su rusticidad y adaptación al medio en que se encuentran les permite no solo sobrevivir, sino producir carne, aprovechando para ello los mínimos nutrientes que contiene el alimento que se les proporciona o que obtienen del pastoreo **(De Lucas y Arbiza, 2004)**.

ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES

La alimentación del rumiante se basa en la comprensión de los mecanismos involucrados en la fermentación del alimento y la disponibilidad de productos finales a partir de ésta (**Preston y Leng, 1989**). Principalmente se alimentan de forrajes, como son plantas herbáceas y arbustivas, pastos naturales o cultivados, así como de subproductos agrícolas; aunque no exclusivamente. (**Jarrige, 1981**).

El principal interés productivo de los rumiantes reside en su capacidad de aprovechar como nutrientes los productos de la digestión microbiana de la pared celular de los vegetales, la cual tiene lugar fundamentalmente en el rumen. El conocimiento de los mecanismos implicados en la acción de la población ruminal sobre los forrajes es fundamental para el aprovechamiento de los recursos lignocelulósicos de baja calidad, abundantes y de bajo costo económico, pues éstos tienen especial trascendencia en sistemas de producción con bajo uso de tecnología (extensivos) y de mediano uso de tecnología (semiintensivos), especialmente en regiones con escasa disponibilidad de otras fuentes de alimento para el ganado (**Fondevila, 1998**).

La cantidad de energía que un rumiante recibe de un forraje consumido a voluntad depende de dos características:

- a) La ingestibilidad, que es la cantidad de forraje ingerida y se expresa en gramos o kilogramos de materia seca (g o Kg MS).
- b) La digestibilidad, es decir, la proporción de forraje o de su materia orgánica que desaparece en el tracto digestivo (**Jarrige, 1981**).

Alimentación de los ovinos en México

La obtención de una cada vez mayor cantidad de carne para abastecer la demanda ha requerido una evolución tecnológica en las actividades ganaderas, con una clara tendencia al manejo de sistemas intensivos, caracterizados por la estabulación de los animales y el manejo de dietas basadas en forrajes de alta calidad y elevados contenidos de granos forrajeros **(SAGARPA, 2000)**. En cuanto a la alimentación del ganado en las unidades de producción extensivas, en México se dispone de buenas áreas de pastizales nativos; mientras que en el sistema semiintensivo se tienen cultivos de forrajes de corte, los cuales son administrados directamente al ganado y los excedentes son conservados a través de ensilados o henificados, que a su vez permiten disponer de un abasto permanente de éstos a lo largo del año, disminuyendo por lo tanto, la estacionalidad de la producción **(SAGARPA, 2000)**.

Actualmente se cuenta con innovaciones técnicas en el área de producción que permiten a los sistemas que se sustentan en la alimentación con forrajes toscos, principalmente subproductos agrícolas (pajas y rastrojos), el establecimiento, manejo y utilización de estas especies forrajeras, particularmente cuando se utiliza el pastoreo; además del tratamiento de esquilmos. Todo lo cual se encuentra enfocado a incrementar la productividad de las empresas pecuarias **(Galina et al., 2004 a)**.

Alimentos fibrosos (forrajes y pastos)

La alimentación es la base de la producción de los rumiantes debido a que sin una buena nutrición, el ganado difícilmente podrá obtener mejoramiento en los aspectos productivos, reproductivos, genéticos y sanitarios **(Puga y Galina, 2004)**. Sin embargo la baja calidad nutritiva de muchos de los pastos presentes en el altiplano mexicano afecta la productividad y la eficacia de los rumiantes en pastoreo, ya que la ingestibilidad se ve limitada cuando se incrementa la intensidad de pastoreo y el estado de madurez del forraje, lo que

afecta el consumo y la velocidad de paso a través del retículo-rumen (**Leng, 1990**). La composición química de los forrajes y la digestibilidad se asocian de manera directa, el consumo aumenta cuando son ingeridas plantas verdes y suculentas; debido a que la velocidad de paso es mayor, traduciéndose en una alta digestibilidad (**Delgadillo, 1998**).

La digestibilidad y el consumo se pueden mejorar mediante la manipulación aparente del rumen. La elevación del pH en el rumen incrementa la degradabilidad de los carbohidratos estructurales para la producción de energía, con la consecuente formación de proteína microbiana al fijar el nitrógeno no proteico de la dieta por parte de los microorganismos ruminales (**Galina et al., 2000**). Además de la oferta de nitrógeno no proteico, para mejorar los patrones de fermentación ruminal se requiere de elementos claves como son los aminoácidos esenciales, minerales (azufre y fósforo), proteína de baja degradabilidad ruminal, carbohidratos glucogénicos y ácidos grasos de cadena larga (**Morales, 2000**).

FISIOLOGÍA DEL TRACTO DIGESTIVO DEL RUMIANTE

La morfofisiología del aparato digestivo de los animales se ha adaptado a diferentes condiciones ambientales, por lo que presentan modificaciones en sus órganos de acuerdo con sus hábitos alimenticios. Los ovinos y otros rumiantes evolucionaron fisiológicamente para consumir y digerir alimentos ricos en fibra, aprovechando los escasos nutrientes encontrados en ellos, por medio de una simbiosis con los microorganismos que digieren y fermentan los carbohidratos estructurales contenidos en la pared celular del forraje, obteniendo así ácidos grasos volátiles como producto final, los cuales son absorbidos y utilizados como metabolitos primarios para la obtención de glucosa **(Ángeles, 1999)**.

La digestión es un proceso mediante el cual los alimentos son degradados a partículas más pequeñas para hacer posible su absorción. Ésta es efectuada por la combinación de eventos mecánicos y químicos (enzimáticos). El tracto digestivo se encuentra conformado por varios órganos y glándulas, que facilitan la toma, fragmentación, absorción y aprovechamiento de los nutrientes. La boca y sus componentes (dientes, lengua, mandíbulas y glándulas salivales) se encargan de la toma, fragmentación y deglución del alimento. El esófago es un tubo elástico muscular con la capacidad de conducir el bolo alimenticio hacia los pre-estómagos **(Maynard et al., 1981)**.

El rumen es un órgano parecido a una gran cámara de fermentación cuyo contenido, en condiciones normales, representa más del 17 % del peso vivo del animal **(Santini y Elizalde, 1994)**, es considerado un "pre-digestor" encargado de digerir los alimentos consumidos por el rumiante, antes de que éstos pasen al tracto posterior **(Caja et al., 2003)**.

La actividad de fermentación es realizada principalmente por bacterias y protozoarios de distintos géneros y especies, a los cuales se agregan levaduras y hongos. Estos microorganismos degradan diversos sustratos,

dando origen a los ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal, materia orgánica microbiana, ácido láctico y gases, la cantidad de éstos en el rumen depende del régimen alimenticio al que es sometido el animal, como el tipo de dieta, la frecuencia de alimentación y el nivel de consumo (**Santini y Elizalde, 1994**). Son tan importantes que, además de los requerimientos del animal, se deben considerar sus propios requerimientos nutricionales y funcionales, la proteína metabolizable (PM) y la energía metabolizable (EM) (**Caja et al., 2003**).

Características que favorecen el crecimiento de los microorganismos en el rumen:

- A. Presencia de sustrato continua: siempre y cuando el animal ingiera alimentos en forma frecuente.
- B. Cambios en el tamaño de partículas: a través de la rumia, las partículas ingeridas disminuyen su tamaño hasta que puede pasar por el orificio retículo-omasal.
- C. Control del pH: este es uno de los factores del ambiente ruminal más variable, siendo afectado por la naturaleza del alimento, su forma física, la cantidad ingerida, entre otros. El pH del rumen es controlado por el ingreso de saliva (poder neutralizante) y por la absorción y pasaje a través de las paredes ruminales de los productos finales de la fermentación. Este debe encontrarse preferentemente en un rango de 6 a 7. El uso excesivo de los concentrados disminuye el pH ruminal produciendo acidosis.
- D. Provisión de nutrientes: a través de la saliva, de descamaciones epiteliales y del pasaje a través de las paredes ruminales se aportan nutrientes para el crecimiento microbiano, tales como urea y fosfatos.
- E. Eliminación de los productos finales de la digestión: los ácidos grasos volátiles, el ácido láctico, el amoníaco y el dióxido de carbono son eliminados por absorción o pasaje.

- F. Eliminación de la fracción no digerida: todo el material que no ha sido fermentado en el rumen y que no aporta nutrientes a los microorganismos ruminales, deja el rumen por pasaje.
- G. Mantenimiento de la anaerobiosis: los microorganismos que habitan el rumen viven y se reproducen en ausencia de oxígeno.
- H. La producción de bióxido de carbono y la presencia de hidrógeno derivado de los microorganismos ruminales genera metano, que es un gas contaminante del medio ambiente, además de que, su presencia ocasiona pérdida de energía para el rumiante.

(Santini y Elizalde, 1994).

El proceso de la rumia

Los rumiantes realizan una ingestión rápida de los alimentos; si acaso se realiza una masticación ligera para disminuir un poco el tamaño de las partículas. Después, el bolo alimenticio es enviado hacia el rumen, donde se mezcla con el contenido ruminal y se expone a la fermentación microbiana. Posteriormente es regurgitado en pequeños bolos de 50 a 80 g en el caso de los ovinos hacia la cavidad bucal, donde se somete a una masticación mericítica intensa (80 a 100 movimientos por minuto en ovinos), para reducir las partículas hasta un tamaño menor a 1 mm, que son ingurgitadas nuevamente hacia el saco ruminal, donde, de acuerdo a su tamaño y densidad, son eliminadas progresivamente del rumen **(Jarrige, 1981).**

METABOLISMO RUMINAL

Fermentación ruminal

Los alimentos que llegan al rumen son degradados y fermentados hasta convertirse en productos metabólicos comunes, los cuales son absorbidos directamente desde el rumen y son usados tanto en procesos catabólicos (mantenimiento) como anabólicos (gluconeogénesis); a pesar de tener muchas ventajas, también resulta en significativas pérdidas de energía en forma de metano, hidrógeno y calor **(Caja et al., 2003)**.

La velocidad de degradación de los alimentos depende en general del contenido de tejidos lignificados, la cantidad de paredes celulares y el tamaño de la partícula. Ésta se puede incrementar con procesos como el de calor húmedo a los granos de cereales (rolado), mientras que se disminuye con un bajo aporte de nitrógeno y minerales a las bacterias amilolíticas. La mayor parte de los microorganismos ruminales obtiene su energía principalmente de los carbohidratos solubles, prosiguiendo con la hidrólisis del almidón, y por último, la hidrólisis de la celulosa y polisacáridos restantes de las paredes celulares; los productos finales de esta fermentación son una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGV's) y gases, como el dióxido de carbono (CO₂) y el metano (CH₄), los cuales son considerados como una pérdida de energía y son expulsados al exterior mediante el eructo por la vía pulmonar **(Jarrige, 1981)**.

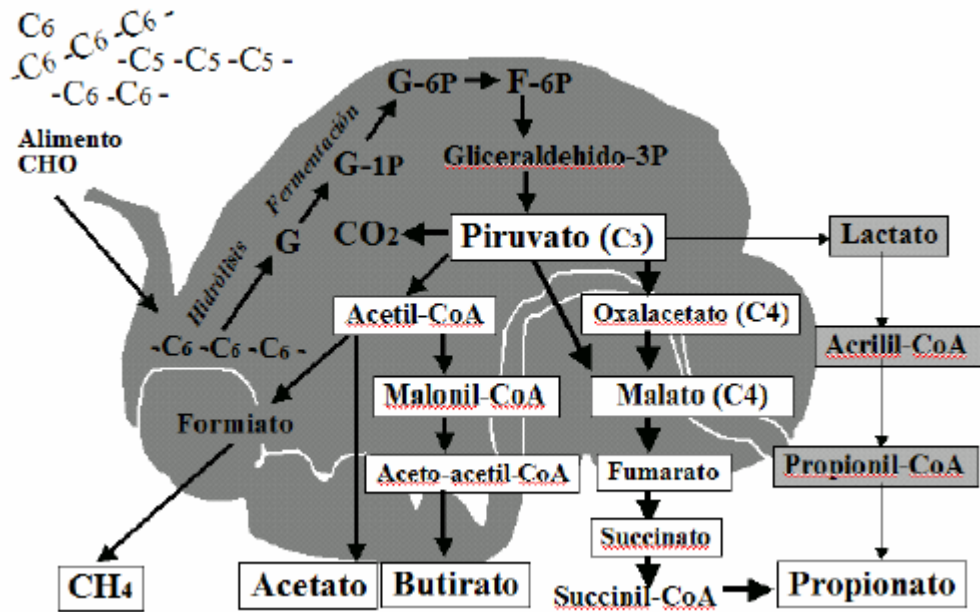


Figura 1. Esquema de la formación y metabolismo de los productos finales de la fermentación. Fuente: Caja *et al.*, 2003.

La fermentación ruminal permite utilizar alimentos muy fibrosos, que al degradarse la celulosa, liberan su contenido celular, convirtiéndolo en un nutrimento primordial, pues genera proteína microbiana de alto valor biológico a partir de proteína vegetal de bajo valor biológico y de nitrógeno no proteico de la dieta y/o reciclado de productos metabólicos de desecho (urea), además de proveer todas las vitaminas del complejo B (Preston y Leng, 1989).

A medida que los microorganismos se multiplican, sintetizan proteínas para construir sus propias células, para tal propósito pueden utilizar la proteína misma, amidas, sales de amonio y nitratos; la proteína microbiana que se forma en el rumen se digiere posteriormente en el abomaso y en el intestino, donde la degradación enzimática produce aminoácidos que son absorbidos por la circulación portal, así los microorganismos ruminales desempeñan un papel importante en la nutrición (Maynard *et al.*, 1981).

EL MEDIO AMBIENTE RUMINAL

El medio ambiente ruminal comprende una población compleja de microorganismos (bacterias anaeróbicas estrictas, hongos y protozoos), definidos por la intensa presión selectiva. Éstos, en simbiosis, se adaptan a sobrevivir en condiciones de anaerobiosis no estricta, a altos ritmos de dilución, grandes densidades de células y a la depredación, habiendo desarrollado distintas capacidades para la utilización eficiente de la celulosa y hemicelulosa **(Caja et al., 2003)**.

Las reacciones químicas que ocurren en el rumen requieren la actividad combinada de una variedad de microorganismos. Los productos de fermentación de estas y otras bacterias son utilizados por otros microorganismos. El H₂ producido en el rumen durante los procesos fermentativos nunca se acumula (Figura 2), ya que es utilizado rápidamente por los metanógenos (*Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*) para reducir CO₂ a CH₄. La composición media de los gases acumulados en el rumen es aproximadamente 65% CO₂ y 35% CH₄, y se expulsan al exterior por los eructos del animal. El acetato no llega a convertirse en metano dentro del rumen debido a que el tiempo de retención es demasiado corto para que puedan desarrollarse los organismos acetotróficos y por lo tanto los atraviesa la pared del rumen hacia la sangre del animal **(Carrillo, 2003)**.

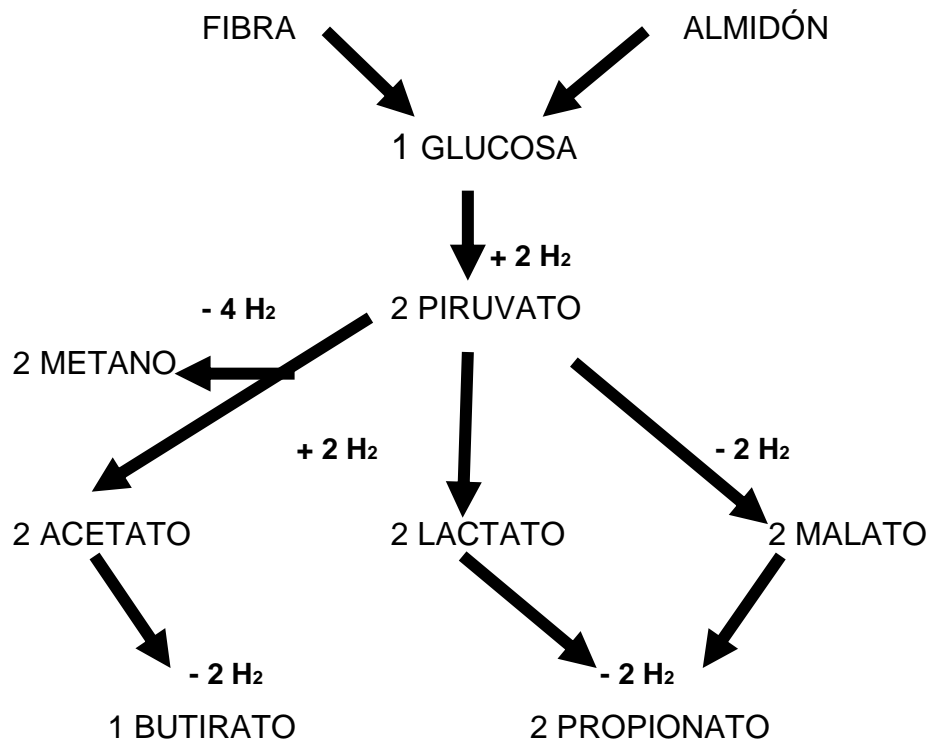


Figura 2. Vías metabólicas de la fermentación, producción y utilización del hidrógeno en el rumen. Fuente: Calsamiglia *et al.*, 2005.

El ecosistema ruminal es por tanto, constante, porque su función de conversión del alimento hacia ácidos grasos volátiles está bien establecida sin importar la contaminación que sufra con el alimento, el agua y el aire; al mismo tiempo que es dinámico, ya que su población microbiana cambia considerablemente si hay una variación en la dieta (Kamra, 2005).

Microorganismos ruminales

Bacterias

Son los microorganismos más abundantes, la mayoría de ellas, anaerobias estrictas, algunas facultativas; el número de bacterias por gramo de ingesta va de 10^{10} a 10^{11} (Cunningham, 1999). Como se muestra en el cuadro 1, en su mayoría son degradadoras de celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón, proteína y, en menor número, de lípidos.

Cuadro 1. Diversidad bacteriana del ecosistema microbiano ruminal en animales domésticos y salvajes. Fuente: Kamra, 2005.

Sustrato	Bacteria	Sustrato	Bacteria
CARBOHIDRATOS		NITRÓGENO	
Celulosa	<i>Fibrobacter succinogenes</i> (<i>Bacteroides succinogenes</i>) <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>Clostridium cellobioparum</i> <i>Clostridium longisporum</i> <i>Clostridium lochheadii</i> <i>Eubacterium cellulosolvens</i> (<i>Cillobacterium cellulosolvens</i>)	Degradadoras de proteína	<i>Prevotella ruminicola</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i> <i>Clostridium bif fermentans</i>
Hemicelulosa	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Prevotella ruminicola</i> (<i>Bacteroides ruminicola</i>) <i>Eubacterium xylanophilum</i> , <i>E. uniformis</i>	Hidrolizadoras de urea	<i>Megasphaera elsdenii</i>
Almidón	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i> (<i>Bacteroides amylophilu</i>) <i>Prevotella ruminicola</i> (<i>Bacteroides ruminicola</i>)	OTROS Utilizadoras de ácidos	<i>Megasphaera elsdenii</i> (<i>Peptostreptococcus elsdenii</i>) <i>Wollinella succinogenes</i> (<i>Vibrio succinogenes</i>) <i>Veillonella gazogenes</i> (<i>Veillonella alcalescens</i> , <i>Micrococcus lactolytica</i>) <i>Oxalobacter formigenes</i> <i>Desulphovibrio desulphuricans</i> <i>Desulphatamaculum ruminis</i> <i>Succiniclasticum ruminis</i>
Azúcares /Dextrinas	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Succinivibrio amylolytica</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. helveticus</i> <i>Bifidobacterium globosum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilum</i> <i>B. ruminale</i> , <i>B. ruminantium</i> .	Lipolíticas Acetogénicas Degradadoras de taninos Degradadoras de Mimosina	<i>Anaerovibrio lipolytica</i> <i>Eubacterium limosum</i> <i>Acetitamaculum ruminis</i> <i>Streptococcus caprinus</i> 8 <i>Eubacterium oxidoreducens</i> <i>Synergistes jonesii</i>
Pectina	<i>Treponema saccharophilum</i> <i>Lachnospira multiparus</i>	Metanogénicas Mycoplasma	<i>Methanobrevibacter ruminantium</i> <i>Methanobacterium formicicum</i> <i>Methanosarcina barkeri</i> <i>Methanomicrobium mobile</i> <i>Anaeroplasma bactoclasticum</i> <i>Anaeroplasma abactoclasticum</i>

Las bacterias poseen algunas características comunes:

- a) La mayoría se clasifica como Gram-negativas. La cantidad de bacterias Gram-positivas aumenta o disminuye de acuerdo con el aporte energético de la dieta.
- b) La mayoría de las bacterias ruminales son anaerobias estrictas, requieren de un potencial redox de -350mV.
- c) El pH óptimo para el crecimiento de las bacterias ruminales oscila entre 6.0 y 6.9.
- d) La temperatura óptima es de 39 °C.
- e) Las bacterias pueden tolerar una elevación considerable de los niveles de ácidos orgánicos sin que esto afecte su metabolismo (**Kamra, 2005**).

Protozoarios

Al igual que las bacterias, estos microorganismos son anaerobios, en promedio se tienen cantidades de 10^5 hasta 10^6 por gramo de contenido ruminal (**Cunningham, 1999**). Se dividen principalmente en pequeños Entodineomorfos (*Entodinia spp.*) y grandes protozoarios Holotriches (*Isotricha spp.*, *Dasytricha spp.*); aunque preferentemente consumen y metabolizan azúcares solubles, algunos son celulolíticos y otros hidrolizan bacterias como sustrato, logrando con esto limitar el crecimiento bacteriano (**Preston y Leng, 1989**).

Hongos

Los hongos ruminales tienen la capacidad enzimática de hidrolizar celulosa y xilano, aunque al parecer no pectina (**Fonty y Joblin, 1991; Hébraud y Fèvre, 1988**). La población de hongos anaerobios del rumen está directamente relacionada con el contenido en fibra de la dieta, calculándose que más del 8% de la biomasa microbiana del rumen está constituida por éstos; su proporción disminuye en dietas ricas en almidón o azúcares solubles (**Grenet et al., 1989**).

La actividad enzimática frente a estos substratos es variable, dependiendo de su origen filogenético, en especial de su estructura rizoidal; algunas especies, como *Neocallimastix frontalis*, *Piromyces comunis* y *Orpinomyces joyonii* son tanto o incluso más eficientes en la digestión de los polisacáridos estructurales que las especies bacterianas más activamente celulolíticas (**Bernalier et al., 1992; Borneman y Akin, 1990**).

Aparentemente son los primeros microorganismos en invadir y digerir el componente estructural de las plantas, permitiendo a las bacterias ruminales acceder a la fibra protegida por la lignina para iniciar así el proceso de degradación fermentativa de materiales insolubles (**Preston y Leng, 1989**).

DIGESTIÓN MICROBIANA DE LOS POLISACÁRIDOS

A pesar de su complejidad, baja porosidad y variada capacidad de cristalización, los compuestos fibrosos de las plantas son digeridos por la actividad simultánea de todo el conjunto de enzimas microbianas presentes en el rumen (**Chesson y Forsberg, 1997**).

La hidrólisis de los polisacáridos estructurales hasta azúcares fermentables es, por tanto, un sistema complejo de cooperación entre los microorganismos y sus enzimas, que se lleva a cabo en dos etapas: en primer lugar, la colonización de los substratos que llegan al rumen y la adhesión íntima de los microorganismos a estas estructuras vegetales; en segundo lugar, la acción enzimática sobre dichos substratos, independientemente de la posible utilización de los productos resultantes (**Caja et al., 2003**). La magnitud de estos procesos está mediada por la naturaleza de la pared celular vegetal, por las características de la población microbiana implicada en dichos procesos y por las condiciones del ambiente ruminal para favorecer o limitar estos procesos (**Fondevila, 1998**).

Los microorganismos ruminales se clasifican en tres subpoblaciones, atendiendo a su interacción con las partículas de alimento:

- 1) Los vinculados con el fluido ruminal, que utilizan los nutrientes solubles del líquido ruminal, además de los que se van desprendiendo de las partículas de alimento.
- 2) Los débilmente asociados a las partículas, que poseen capacidad de adhesión y son los que inician el proceso de colonización de nuevas partículas.
- 3) Los firmemente adheridos a dichas partículas que realizan con mayor eficiencia la hidrólisis enzimática sobre la pared celular, además de protegerse de la predación de otras especies y de aumentar el tiempo de retención en el rumen (**Czerkawski y Cheng, 1988**).

Las estructuras específicas implicadas en la adhesión bacteriana han sido revisadas por **Pell y Schofield (1993)**, quienes las resumen en tres:

1. Glicocálix: cápsula glicoproteica externa que envuelve a las bacterias celulolíticas principales (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens*)
2. Celulosomas: son complejos extracelulares polipeptídicos esféricos, que incluyen un paquete enzimático con actividad celulasa, agrupando las enzimas entre sí por la acción de un polipéptido sin actividad hidrolítica, que además está implicado en la adhesión al sustrato. Los celulosomas, al favorecer el contacto íntimo de la bacteria y de sus enzimas con las partículas vegetales, aumentan la magnitud de la acción enzimática sobre éstas.
3. Sectores de enlace de enzimas celulolíticas: contribuyen a la adhesión microbiana al sustrato.

Actividad enzimática contra polisacáridos estructurales

Las enzimas implicadas en los diversos procesos de degradación de celulosa y hemicelulosas de la pared celular vegetal parecen estar muy distribuidas entre las especies celulolíticas de microorganismos ruminales. Se ha observado que algunos de los complejos enzimáticos celulolíticos poseen una parte responsable de la adhesión de la enzima al sustrato, incrementando con ello su eficiencia. En la práctica, la especificidad de acción de estas enzimas no es tanta como lo que sugieren sus nombres; es el tipo de enlace sobre el que actúan lo que determina su especificidad. Las xilanasas están más ampliamente distribuidas entre las bacterias ruminales que las celulasas, aunque hay que tener en cuenta que existe una mayor diversidad de las enzimas implicadas en la hidrólisis de las hemicelulosas, debido a la variabilidad en la composición de este polisacárido (**Fondevila, 1998**).

Organismos implicados en la digestión de la pared celular vegetal

Bacterias. A pesar del papel de las poblaciones de los otros microorganismos del rumen, éste es el grupo más activamente implicado por su elevada concentración y por su alta actividad enzimática. Las tres especies bacterianas celulolíticas predominantes, *F. succinogenes*, *R. flavefaciens* y *R. albus*, tienen características peculiares que las diferencian de otras especies que pueden estar también implicadas en el proceso de digestión de la pared celular vegetal (cuadro 2) **(Dehority, 1993)**.

Algunas, como *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium locheadii*, *C. longisporum* o *Eubacterium cellulosolvens*, pueden considerarse también celulolíticas, pero su importancia en la digestión de la pared celular es secundaria, en el caso de las tres últimas, dada su escasa concentración en el rumen **(Dehority, 1993)**.

Las bacterias celulolíticas únicamente utilizan celulosa y sus productos como nutrientes, por lo que se ven obligadas a especializarse en la hidrólisis de dicho polímero. Deben sintetizar grandes cantidades de enzimas con capacidad de romper las cadenas de la celulosa, hemicelulosa y, en menor medida, de pectina. Algunas de las especies no celulolíticas más abundantes en el rumen, como *B. fibrisolvens* o *Prevotella ruminicola*, son capaces de hidrolizar estos polisacáridos, en menor medida que las anteriores, y pueden utilizar las pentosas y ácidos urónicos resultantes **(Fondevila, 1998)**.

Cuadro 2. Utilización de carbohidratos por bacterias ruminales celulolíticas y no celulolíticas. Fuente: Weimer, 1996.

ESPECIES BACTERIANAS	POLISACÁRIDOS	MONO- Y DISACÁRIDOS
Celulolíticas:		
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	celulosa, celodextrinas,	G, C
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	xilano, pectina,	C
<i>Ruminococcus albus</i>	celodextrinas	G, C, X, A
	celulosa, xilano,	
	celodextrinas	
Celulolíticas secundarias:		
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	celulosa, xilano, dextrina,	G, Ga, Mn, F, M, X, L, C
<i>Clostridium longisporum</i>	pectina, celodextrinas,	G, Ga, F, C, M, L, S
<i>Clostridium locheadii</i>	celulosa	G, M, S
	celulosa, dextrina	
No celulolíticas:		
<i>Prevotella ruminicola</i>	pectina, almidón, dextrina	G, Ga, F, L, C, X, A, R,
<i>Selenomonas ruminantium</i>	celodextrinas	M
<i>Streptococcus bovis</i>	almidón, dextrina,	G, Ga, F, X, A, C, M, L,
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	celodextrinas	S
	almidón, celodextrinas	G, Ga, F, Mn, C, M, L, S
	dextrina, pectina	G, Ga, Mn, X, M, A, F, S

A: arabinosa, C: celobiosa, F: fructosa, G: glucosa, Ga: galactosa, L: lactosa, M: maltosa, Mn: manosa, R: ramnosa, S: sacarosa y X: xilosa.

Protozoarios. El efecto de los protozoos sobre la digestión de la fibra vegetal depende del papel y de la importancia relativa de los distintos géneros y especies en el ecosistema ruminal. En general, su presencia aumenta, directa o indirectamente, la digestión ruminal de celulosa y hemicelulosa respecto a animales defaunados (**Dehority, 1993**).

Eudiplodinium y *Epidinium* responden positivamente a la incorporación de una fuente de celulosa o de xilano, aunque no son capaces de utilizar los productos de su hidrólisis, mientras que los protozoos del género *Isotricha* tienen cierta actividad β - glucanasa, pero no utilizan los productos de la hidrólisis para su crecimiento (**Jouany y Ushida, 1994**). Algunas especies de protozoarios tienen la capacidad de despolimerizar a la pectina, pero la facultad para utilizar los productos liberados como fuente de energía es mínima (**Orpin, 1983**).

La capacidad de los protozoarios de adherirse a las partículas de pared celular es reducida, excepto en el caso de los *Holotrichos*, los cuales son estimulados probablemente por la presencia de azúcares solubles, aunque su actividad fibrolítica es escasa. Los *Epidinium* se adhieren a las partículas por una zona situada en su parte anterior, vierten enzimas extracelulares para romper los tejidos vegetales en pequeños fragmentos que son, entonces, ingeridos y digeridos intracelularmente. Los grandes entodiniomorfos únicamente tienen actividad enzimática intracelular y por ello ejercen su acción degradante ingiriendo partículas suspendidas en el medio (**Fondevila, 1998**).

Los animales sin fauna ruminal, es decir, sin protozoarios, han demostrado mejor productividad que los animales con fauna sobre un amplio rango de dieta. Los alimentos ricos en azúcares producen altas concentraciones de protozoarios y con las dietas ricas en fibra, disminuye su población (**Preston y Leng, 1989**).

La ausencia de protozoarios ciliados provoca un descenso en el pH y del nitrógeno amoniacal, por lo que la metanogénesis se reduce considerablemente, a la vez que se produce un incremento en el nivel de ácido láctico y propiónico, mejorando la eficiencia y conversión alimenticia de algunas dietas, especialmente aquellas altas en forraje al ocasionar un incremento en la población de bacterias y hongos en el líquido ruminal (**Kamra, 2005**).

Hongos. La acción fúngica sobre la pared celular vegetal y su contribución a la digestión ruminal de la misma, parece estar muy relacionada con la colonización activa. Se ha observado mediante microscopía electrónica que las zoosporas son atraídas por quimiotaxis y se adhieren rápidamente a las partículas, preferentemente en estomas y zonas de corte de los tejidos lignificados (esclerénquima, xilema), aunque los tejidos vegetales no lignificados (floema, parénquima medular) son los más rápidamente degradados (**Akin y Benner, 1988; Grenet et al., 1989**).

Los hongos ruminales son especialmente activos contra sustratos muy lignificados. *N. frontalis* solubiliza pequeñas cantidades de lignina de la pared celular vegetal, aumentando la accesibilidad de los polisacáridos estructurales para las bacterias. Aunque no son capaces de fermentar los compuestos fenólicos, su acción mecánica sobre la pared celular vegetal disminuye la rigidez estructural y favorece la ruptura de las partículas de forraje (**Fondevila, 1998**).

FORMACIÓN DE PROTEÍNA BACTERIANA Y SU EVALUACIÓN

Las bacterias representan entre el 60 y 90% de la masa microbiana en el rumen, son por eso el punto central en el estudio de la nutrición del rumiante debido a que digieren los nutrientes consumidos, proveen una proporción substancial, aproximadamente el 50%, de la proteína total absorbida en el intestino delgado, y además producen ácidos grasos volátiles, que aportan la mayoría de la energía al rumiante **(Vargas-Villamil et al., 2004)**.

En los últimos años se han desarrollado técnicas de evaluación de alimentos que no implican daños a la integridad física de los animales y que de forma relativamente rápida y barata brindan resultados fiables. Tal es el caso de la identificación de derivados del metabolismo animal, básicamente de purinas, excretadas en la orina, para cuantificar la producción microbiana en el rumen **(Pedraza, 2001)**.

La excreción de los derivados de purina se relaciona directamente con la absorción de purinas, por lo tanto, la absorción microbiana del nitrógeno se puede calcular mediante la cantidad de purina absorbida que se estime a partir de la excreción urinaria de derivados de purina. Los ácidos nucleicos microbianos salen del rumen y experimentan una digestión extensa en el intestino delgado, donde son hidrolizados en nucleósidos y bases libres de purina, ambos al ser absorbidos del lumen intestinal, están sujetos a la degradación en la mucosa intestinal para su utilización **(Chen y Gomes, 1992)**.

Los bovinos, a diferencia de los ovinos, poseen una actividad alta de la xantina oxidasa en la mucosa intestinal, que convierte prácticamente todas las purinas absorbidas en ácido úrico, el cual entra en el hígado y, por lo tanto, no está disponible para incorporarlo en el tejido animal como ácido nucleico. En los ovinos, la actividad de la xantina oxidasa, es insignificante, las purinas absorbidas pueden entrar en el hígado sin cambiar y estar disponibles para la incorporación en el tejido como ácidos nucleicos, en un proceso llamado rescate. Ambos, el rescate y la degradación enzimática, son muy activos y

podría haber competencia por los sustratos, el resultado es que, las purinas absorbidas que no se han incorporado al tejido se convierten totalmente en sus productos metabólicos finales, hipoxantina, xantina, ácido úrico y el alantoina **(Chen y Gomes, 1992)**.

ESTRATEGIAS PARA LA ALIMENTACIÓN DE LOS OVINOS

Estudios recientes han demostrado la factibilidad de utilizar suplementos, en ovinos, que mejoren la fermentación ruminal, la degradación del nitrógeno y el incremento por tanto de la flora bacteriana **(Galina et al., 2007. Ortiz-Rubio et al., 2007)**.

Uso de esquilmos agrícolas y subproductos agroindustriales

La utilización de residuos agrícolas fibrosos (pajas y rastrojos) en su estado natural se ve limitada por su baja densidad energética y proteica, su alto contenido de fibra cruda y la dificultad para ser transportados a las áreas de mayor población; pero pueden ser usados para la ganadería intensiva (engorda) en las regiones agrícolas. Las limitaciones nutricionales de estos materiales se resuelven con una adecuada suplementación animal que incluya nutrientes críticos de baja degradabilidad en el rumen, sobre todo proteína y un mejoramiento en la eficiencia de la fermentación ruminal, mediante el aporte de nutrientes no microbianos en la dieta, como son: el nitrógeno no proteico y los minerales **(Leng, 1990)**.

Uso de carbohidratos fermentables

La forma más difundida de empleo de carbohidratos solubles en la alimentación animal es la del uso de melaza, lo cual se practica no sólo en los países productores de azúcar, ya que existen otros lugares que la importan con este fin. Desde los años 60's se han desarrollado diferentes sistemas de alimentación a base de melaza, sustituyendo a los cereales como fuente de

energía metabolizable (**Elías, 1983**). Para esto se requiere de un adecuado complemento de fibra para estimular al rumen y fuentes de nutrientes necesarios para los microorganismos ruminales, la alternativa más económica es utilizar una fuente de nitrógeno fácilmente fermentable como la urea y algún forraje proteico o combinaciones de forrajes toscos y concentrados proteicos de baja degradabilidad ruminal (**Preston, 1977. Preston, 1989**).

Uso de pollinaza o cama de pollo

Es una mezcla de excretas de pollo, cama (aserrín, heno de avena, heno de pasto, cascarilla de arroz, etc.), desperdicio de alimento y plumas, acumuladas de una o más parvadas de pollo. Este subproducto tiene un alto nivel de proteína cruda, con un promedio de 31%; además contiene niveles significativos de minerales; aproximadamente 40% de la proteína cruda de la cama de pollo puede estar en forma de nitrógeno no proteico (NNP), del cual el ácido úrico representa la mayor parte; por lo tanto, es una buena fuente de nitrógeno para los rumiantes (**Evers et al., 1996**). La alimentación con pollinaza aumenta la productividad animal y la eficiencia de los ingredientes en las dietas a base de melaza, esto sucede al parecer porque cambia la estructura de los ácidos grasos volátiles hacia proporciones más elevadas de ácido propiónico (**Preston, 1989**).

Uso de fuentes de nitrógeno no proteico

En plantas y animales existen compuestos que contienen nitrógeno, pero que no son aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, a los que se denomina compuestos nitrogenados no proteicos (NNP), son abundantes en plantas de crecimiento rápido, en el ensilaje y semillas en desarrollo; en los últimos años se han empleado de forma efectiva, compuestos como la urea, el biuret, ácido úrico y otros productos amoniacales importantes para la nutrición (fosfato de amonio, acetato de amonio, sulfato de amonio, etc.) (**Maynard et al., 1981**).

La urea es un compuesto nitrogenado, cristalino, cuya fórmula es N_2H_4CO , utilizado como fertilizante agrícola. Es soluble en agua, de bajo costo y alta disponibilidad en el mercado, por lo que es el más utilizado de los compuestos nitrogenados no proteicos (NNP), contiene el 46% de nitrógeno, equivalente a 287.5 % de proteína total. Al ser degradado en el rumen se libera amoníaco (NH_3), el cual es utilizado por los microorganismos ruminales para producir aminoácidos **(Araque, 2001)**.

La urea es usada frecuentemente como fuente de NNP en dietas de bajo valor nutricional para cubrir los requerimientos de nitrógeno a nivel ruminal. Sin embargo, los excesos pueden afectar el consumo voluntario de alimentos, causar daño irreversible e incluso, la muerte del animal. El uso del NNP debe ir acompañado del consumo de carbohidratos de alta fermentación ruminal. Al incluir urea en las dietas de los rumiantes se ha logrado regularizar y mantener niveles altos de amoníaco (200 mg/L de amoníaco), favorables para un buen desarrollo de la flora ruminal, incremento en el consumo, degradación y digestibilidad de los alimentos fibrosos. La disponibilidad de carbohidratos de alta fermentación y de nitrógeno incrementa la producción de proteína microbiana y favorece la nutrición del rumiante, esto debido a que la mayoría de los microorganismos ruminales sintetiza proteína a partir del amoníaco proveniente de fuentes no proteicas en la dieta y de origen endógeno, a través del reciclaje de urea vía la saliva o a través del epitelio del rumen en forma de amonio y mucoproteínas salivales, y de la acción de bacterias proteolíticas presentes en el rumen **(Obispo. 2005)**.

Preston y Leng, (1989) proponen bloques multinutricionales desarrollados a base de una combinación de melaza y urea, acompañada de fuentes de fibra, proteína y/o energía, usando como aglomerante cal o cemento, con ellos se busca cubrir primeramente las necesidades de los microorganismos del rumen, con la aplicación de carbohidratos solubles, nitrógeno fermentable, minerales, vitaminas y aminoácidos. Se utilizan como sustituto o como complemento rico en NNP en rebaños alimentados en pastoreo, donde, los

microorganismos ruminales incorporan la urea al proceso de formación de proteína microbiana.

Aunque los niveles de urea pueden ser variables, se ha observado que en bloques con niveles bajos (5%) se presenta un incremento del consumo y a niveles altos (10% de inclusión) se incrementa el amoníaco ruminal, que al convertirse nuevamente en urea, se elimina en la orina ocasionando un gasto de energía adicional **(Robleto et al., 1992)**.

La facilidad de su elaboración y de manejo, así como la posibilidad de usar materias primas locales hacen de esta estrategia una de las más usadas en la ganadería, sobretodo en los sistemas extensivo y semintensivo, donde también se han utilizado como un vehículo para productos como desparasitantes y antibióticos **(Birbe et al., 2006)**.

Los principales efectos observados en los rumiantes al administrar los bloques multinutricionales son:

- Aumento en el consumo de la dieta básica (paja u otros forrajes fibrosos)
- Aumento de las concentraciones de amoníaco y de ácidos grasos volátiles en el líquido ruminal
- Mejora de la digestibilidad de forrajes fibrosos
- Incremento en la tasa media de peso por día
- Aumento en la producción de leche y su contenido de grasa
- Disminución de la necesidad de concentrado requerido para suplementar la dieta **(Sansoucy et al., 1986)**.

Uso de minerales

Algunos elementos que complementan la óptima fermentación microbiana han sido azufre y fósforo; éstos incrementan la respuesta digestiva de la celulosa y hemicelulosa; favorecen el crecimiento y la actividad de los microbios ruminales,

mejorando el consumo, la digestibilidad y la retención del nitrógeno en animales alimentados con forrajes de baja calidad **(Delgadillo, 2001)**.

El contenido mineral, en específico en forma de carbonatos y fosfatos, influye en la estabilidad del pH ruminal por su capacidad amortiguadora **(Jouany, 2006)**.

Se ha propuesto la adición de cemento y cal en las dietas para rumiantes, con el objetivo de elevar o mantener los valores del pH, encontrando valores que oscilan entre 6.5 y 6.8, considerados dentro de los rangos adecuados para la microflora ruminal. Además se ha observado que incrementan el porcentaje de degradación de MS y la concentración total de AGV's,y, a pesar de que el cemento es considerado tóxico por su contenido de metales como el plomo, mercurio, arsénico, cadmio o selenio, los niveles de estos elementos encontrados en tejidos (hígado y riñón) se consideran dentro de los rangos normales **(Delgadillo, 2001)**.

Uso de suero de quesería

El suero proveniente de queso fresco, es considerado un subproducto excedente, en ocasiones un contaminante; sin embargo, es una valiosa fuente de carbohidratos, proteína de calidad, ácido láctico, minerales y bacterias ácido lácticas, que se ha utilizado como suplemento alimenticio en los rumiantes. Su transformación o deshidratación es costosa y requiere de alta tecnología, pero se puede mezclar con melaza y urea; y servir como vehículo de NNP, proporcionándose directamente sobre la paja o adicionándose al forraje al ensilar **(Fazaeli y Tokasi, 2003)**.

Su composición varía según el tipo de queso, la preservación y el origen de la leche. La materia seca del suero es baja (6.0 a 7.5%), esta compuesta esencialmente de lactosa (70 a 73%), proteína ($N \times 6.25 = 12$ a 13%) y sales minerales (7 a 11%), ácido láctico en variable cantidad (0.5 a 10%), ácido

cítrico (alrededor de 1%) y algo de NNP (0.5 a 0.8%). Contiene proteínas (lactoalbúminas y globulinas), aminoácidos esenciales (lisina, triptófano), aminoácidos sulfurados (metionina y cistina) y minerales (calcio, fósforo, sodio, potasio y cloro). La concentración de sodio, potasio y cloro es constante pero la de calcio y fósforo varía dependiendo de si es suero dulce o ácido **(Thivend, 2001)**.

El nitrógeno del suero es convertido en el rumen en proteína microbiana, con una digestibilidad aparente alrededor de 70%; cuando no es degradada en el rumen esta digestibilidad en el intestino es mucho más alta; por lo tanto, sería mejor si sobrepasara la fermentación ruminal y se absorbiera en el intestino **(Toullec et al., 1974)**.

La digestibilidad de la materia seca del suero es alta, llegando a ser alrededor de 87% cuando el suero constituye el 30% del total de la dieta. La lactosa es fragmentada rápidamente por la población microbiana del rumen y convertida en ácido láctico, el cual, a su vez, es metabolizado en ácidos grasos principalmente butírico, transformándose, por lo tanto, en una fuente de energía que hace posible la utilización de NNP **(Thivend, 2001)**.

ESTRATEGIAS DE SUPLEMENTACIÓN PARA MEJORAR LA FERMENTACIÓN RUMINAL

La optimización de la fermentación ruminal debe centrarse en la formulación correcta de raciones y en un manejo adecuado de los programas de alimentación. Sin embargo, cuando estas estrategias ya están implementadas, es posible obtener beneficios adicionales mediante el uso de aditivos que modulen la fermentación ruminal.

Según **Calsamiglia *et al.*, (2005)** los aspectos fundamentales a considerar como objetivos de modulación en la fermentación microbiana ruminal son:

- a. Aumentar la degradación de la fibra y el almidón, así como la producción de AGV
- b. Estimular la producción de ácido propiónico
- c. Inhibir la producción de metano
- d. Controlar la concentración de ácido láctico y el pH ruminal

También mencionan que existen varias alternativas disponibles para modular la fermentación ruminal, que se pueden clasificar en dos grupos:

- a) Los aditivos que estimulan el crecimiento de grupos bacterianos específicos (como los aditivos microbianos y los ácidos orgánicos)
- b) Los aditivos que inhiben el crecimiento de grupos bacterianos específicos (como los ionóforos y los anticuerpos policlonales).

Algunos aditivos empleados en la alimentación ovina

La búsqueda y el desarrollo de técnicas de impacto que mejoren la microbiología ruminal data de hace más de 50 años. Los descubrimientos han generado gran interés en la distribución y función de microorganismos anaerobios que afectan la fermentación ruminal y, por lo tanto, la nutrición de

los rumiantes, entre ellos bacterias, protozoarios ciliados y principalmente hongos. No obstante, la manipulación directa de la fermentación ruminal por medios biotecnológicos está restringida a unos cuantos compuestos antimicrobianos y a la adición en el alimento de algunos microorganismos **(Wallace, 1994)**.

La Comunidad Europea (CE) propone agruparlos como “aditivos zootécnicos” (microorganismos mejoradores de la flora intestinal, enzimas y promotores de crecimiento no microbianos) **(Caja et al, 2003)**.

Con base en los mecanismos de acción de los aditivos se llevan a cabo sinergias en el metabolismo energético y proteico en el rumen, aunque independientemente del modo, todos ellos incrementan la degradación de la fibra, lo que estimula la ingestión de alimentos y el aporte de energía, optimizando la producción al mejorar la eficiencia en la utilización de nutrientes **(Calsamiglia et al., 2005)**.

Ionóforos y antibióticos

El uso de fármacos para modificar la fermentación ruminal se inició a mediados de la década de los 70's con el uso de la monensina, un cocidiostato utilizado en la industria avícola, observándose un incremento promedio de 7.5% en la eficiencia alimenticia. Posteriormente se, identificaron otros ionóforos (lasalocida, salinomocina, lisocelina, narasina, tetronasina), que producen efectos similares, actuando selectivamente sobre el crecimiento de bacterias Gram-positivas, cambiando la fermentación estequiométrica e incrementando el flujo de proteína microbiana en el rumen. Son particularmente efectivos en la disminución de la producción de amoniaco, al eliminar algunas especies de bacterias que fermentan aminoácidos **(Wallace, 1994)**.

En lo que respecta al metabolismo energético, los ionóforos actúan como inhibidores de la producción de ácido acético, butírico y láctico, y como productores de ácido propiónico (**Calsamiglia et al., 2005**).

Enzimas

Las enzimas exógenas han sido ampliamente utilizadas en no rumiantes y rumiantes, con objeto de eliminar los factores antinutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de los nutrientes, y complementar la actividad de las enzimas endógenas. La variabilidad de los resultados obtenidos, las elevadas dosis y el costo de producción hacen difícil su utilización, no obstante, están apareciendo preparaciones enzimáticas de alta actividad fibrolítica en la alimentación de los rumiantes (**Chen et al., 1994**).

Estas enzimas accionan sobre el material vegetal, proporcionando una disponibilidad adicional de carbohidratos, estimulando el crecimiento y la actividad de los microorganismos ruminales, y disminuyendo, por tanto, el tiempo requerido para la colonización microbiana (cuadro 3). La suplementación con enzimas exógenas (celulasas y xilanasas) mejora la digestibilidad ruminal y aumentar la producción de leche o el crecimiento de los rumiantes (**Yang et al., 2002**).

Cuadro 3: Enzimas de uso común como aditivos alimenticios. Fuente: Kung, 2001.

ENZIMA	MICROORGANISMOS PRODUCTORES	APLICACIÓN
Proteasas	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	Debilitan la unión proteína - almidón para mejorar la digestión.
Enzimas degradadoras de fibra (celulasas, hemicelulasas, pectinasas)	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Mejoran la utilización de alimentos fibrosos.
Amilasas	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	Mejoran la digestión del almidón

Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos se encuentran de forma natural en los tejidos biológicos, ya que son productos intermedios de algunos ciclos metabólicos y algunos de ellos se producen también en el tracto digestivo de los animales durante los procesos de fermentación. Éstos se utilizan frecuentemente como aditivos en la alimentación de no rumiantes, pero su uso en rumiantes es todavía limitado. La mayoría de las experiencias realizadas en estos animales se reducen a los ácidos fumárico y málico, ácidos dicarboxílicos que intervienen en el metabolismo del piruvato (vía succínica), por el cual se transforma en

propionato, evitando así la formación de lactato, éste se absorbe en el rumen, transportándose al hígado donde mediante gluconeogénesis se convierte en glucosa, sirviendo como fuente de energía o precursor de la síntesis de lactosa, proteína y grasa corporal **(Caja et al., 2003)**.

Estos ácidos ejercen su acción a nivel del rumen, donde estimulan el crecimiento de *Selenomonas ruminantium*, cuya acción es metabolizar el ácido láctico para producir ácidos acético y propiónico, de tal forma que se previene el acusado descenso del pH ruminal producido cuando los animales reciben grandes dosis de concentrados; además, también metaboliza los ácidos málico y el fumárico, hasta formar ácido propiónico, por lo que se incrementa la producción de este último **(Nisbet y Martin, 1990; Nisbet y Martin, 1991)**.

Se han llevado a cabo investigaciones sobre su modo de acción en la fermentación ruminal en condiciones *in vitro*, Las experiencias con animales son pocas, por lo que la información existente sobre los mecanismos de acción de los ácidos orgánicos y sus efectos sobre los procesos digestivos y productivos de los rumiantes es escasa **(Caja et al, 2003)**.

En los rumiantes se ha observado que los ácidos orgánicos estimulan el crecimiento de las bacterias utilizadoras de ácido láctico, teniendo como consecuencia el aumento del pH ruminal, reduciendo así el riesgo de acidosis. El incremento del pH ruminal puede estabilizar la fermentación ruminal, mejorar la degradación de nutrientes y la producción **(Calsamiglia et al., 2005)**. Por otro lado, mejoran la fermentación ruminal, mantienen el pH en el rumen, aún con dietas altas en carbohidratos, establecen un efecto antimicrobiano en los intestinos y suprimen la acción de los hongos; incrementando el crecimiento y bienestar animal, además, causan una disminución de los niveles de colesterol en sangre **(Abas et al., 2007)**.

Microorganismos probióticos

El uso de los probióticos en la producción animal se inició en la década de los 70's. Originalmente se incorporaron en la alimentación para mejorar el crecimiento y la resistencia a las enfermedades. Trabajos recientes han demostrado que las bacterias probióticas como los *Lactobacillus* son capaces de estimular el sistema inmune, no sólo para prevenir enfermedades intestinales sino también problemas neumónicos (**Fuller, 1999**).

El término probiótico es muy genérico: incluye cultivos microbianos, preparaciones y extractos de enzimas. Por lo que la Association of American Feed Control Officials (AAFCO) en 1999 y la Food and Drug Administration (FDA) en 2003, recomendaron el uso del término **direct-fed microbials (DFM)** para describir productos alimenticios que contienen microorganismos vivos (**Elam et al., 2003**). En español el término se puede describir como microbios adicionados directamente al alimento.

Aunque la Comunidad Europea ha decidido no utilizar la denominación "Probióticos" por efectos legales ya que es demasiado general, el empleo del término está muy extendido y es favorablemente acogido por su significado positivo en la alimentación animal. Los microorganismos que constituyen los probióticos son principalmente bacterias capaces de producir ácido láctico, pero también se incluyen bacterias no lácticas, levaduras y hongos (**Caja et al., 2003**).

Havenaar y Huisin't (1992) mencionan que los probióticos son: cultivos simples o mezclados de microorganismos vivos que, aplicados a los animales o al hombre, benefician al hospedador, mejorando las propiedades de la microflora intestinal original. **Van Eys y Den Hartog (2003)** añaden que deben estar en una dosis suficiente para modificar, por implantación o colonización, la microflora de algún compartimiento del aparato digestivo del hospedador.

MEJORAS PROPORCIONADAS POR LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Al ser adicionados en la alimentación, los microorganismos (DFM) actúan de igual manera que los ionóforos, incrementando la productividad en un 7 u 8%, en su caso, esto sucede principalmente por el aumento en la ingesta, más que por la mejora en la eficiencia alimenticia (**Wallace, 1994**) sin embargo, **Galina et al., 2007 a**, observaron que incrementan la digestibilidad de la fibra, disminuyen la población de bacterias patógenas y metanogénicas ya sea ofertados directamente en la dieta o como agentes mejoradores de los forrajes.

Los probióticos son hoy en día un sustituto de compuestos químicos promotores del crecimiento. Algunos de los beneficios que aportan a la producción animal son los siguientes: optimizan la conversión alimenticia, mejoran la resistencia a las enfermedades (cuadro 4), la cantidad y calidad de la leche (**Fuller, 1999**).

Cuadro 4. Efecto de los probióticos en pre-rumiantes. Fuente: Wallace, 1994.

Microorganismo	Animal	Efecto observado
<i>Lactobacillus spp.</i>	Becerro Cordero	Disminución en el conteo de coliformes. Incrementa el consumo y la ganancia diaria de peso. Disminuye la mortalidad. Incrementa el consumo y la ganancia diaria de peso.
<i>Streptococcus faecium</i>	Becerro	Incrementa el consumo.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Becerro Cordero	Incrementa el consumo y la ganancia diaria de peso. Disminuye el efecto del estrés por transporte. Incrementa el consumo y la ganancia diaria de peso.
<i>Aspergillus oryzae</i>	Becerro	Incrementa el consumo y la ganancia diaria de peso.

Algunos de los mecanismos que explican el porqué los DFM mejoran el bienestar animal son:

- A. Producción de compuestos antibacterianos (ácidos, bacteriocinas, antibióticos)
- B. Competencia con microorganismos no deseables por la colonización de espacios y nutrientes
- C. Producción y estimulación de enzimas
- D. Estimulación de la respuesta inmune en el huésped
- E. Metabolismo y eliminación de compuestos no deseables (**Kung, 2001**)

Hongos probióticos.

Estos microorganismos tienen una variedad de mecanismos para lograr que la fermentación ruminal cambie y haya un mayor rendimiento en el animal. Son una fuente exógena de enzimas, vitaminas del complejo B y otros factores de crecimiento aún no identificados (**Kung et al., 1996**).

El hongo coloniza las partículas de fibra en el rumen y ayuda en la digestión de celulosa. Los cultivos de hongos tienen un efecto amortiguador que media la caída aguda de pH después de la ingesta, pues mejoran el uso del lactato en conjunto con *Selenomonas ruminantium* y pueden ayudar como amortiguadores de ácido láctico en animales alimentados con dietas altas en carbohidratos fermentables (**Kung, 2001**).

El uso de levaduras incrementa la ingesta y la producción en los rumiantes, ya que se altera la formación de AGV's, el pH, la concentración de bacterias anaeróbicas celulolíticas y la digestión, aunque esta respuesta cambia de acuerdo con la variabilidad de los microbios utilizados (**Dawson, 1989**). En la alimentación de rumiantes son ampliamente utilizados las levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y los hongos como el *Aspergillus* (**Caja et al., 2003**).

Como se puede observar en la figura 3; *S. cerevisiae* acelera el desarrollo de la funcionalidad del ecosistema ruminal en animales jóvenes, estableciendo condiciones para la proliferación de bacterias celulolíticas y protozoarios ciliados, por lo que se puede utilizar en la optimización del funcionamiento ruminal (Chaucheyras y Fonty, 2002).

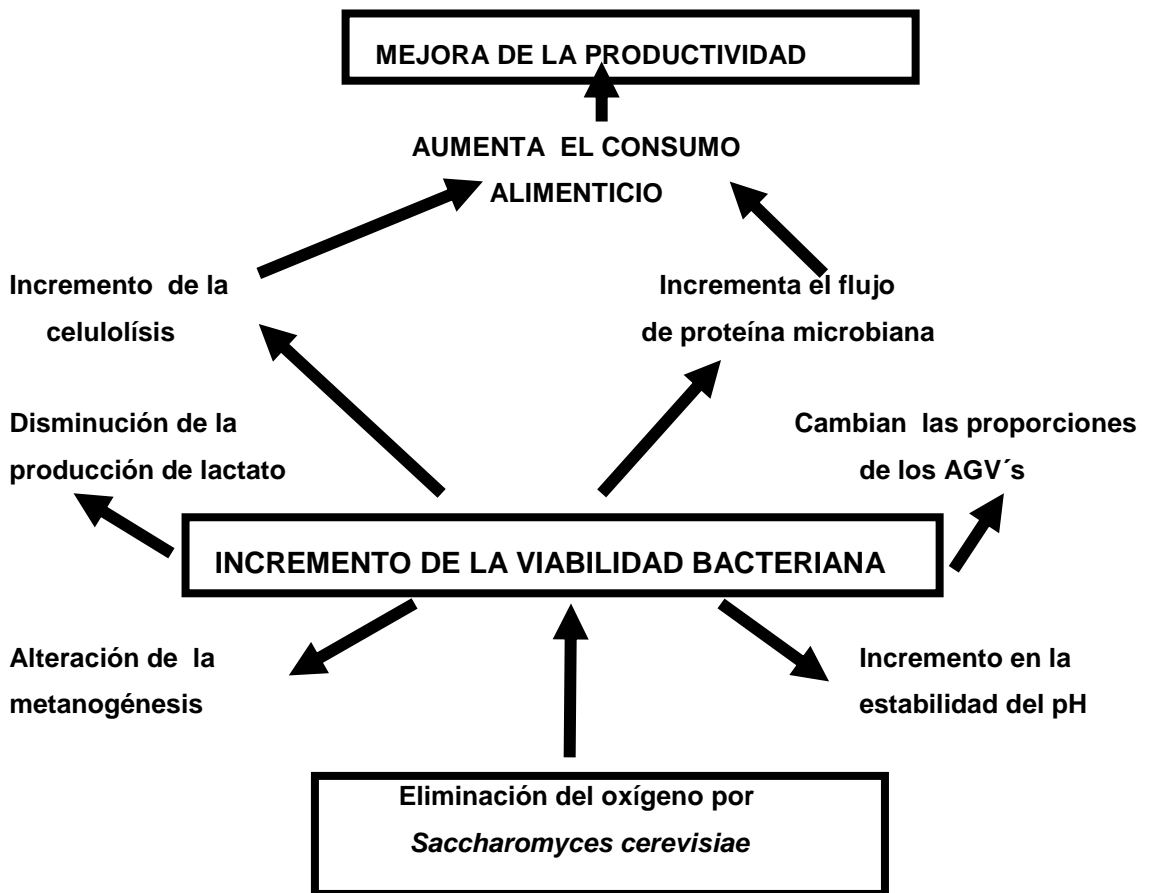


Figura 3. Esquemmatización del modo de acción de las levaduras.
Fuente: Wallace, 1994.

Bacterias probióticas.

El concepto original de alimentar con bacterias vivas al ganado está basado, primeramente, en el potencial efecto favorable posruminal por el establecimiento en el intestino de microflora benéfica (**Fuller, 1999**).

Los rumiantes son capaces de producir importantes cantidades de ácido láctico y lactobacilos en el rumen en condiciones naturales de acidez (raciones altas en concentrados), por lo que el interés de emplear probióticos en rumiantes es controlar la acumulación de ácido láctico en el rumen, lo cual se intenta conseguir por medio de la estimulación de los microorganismos utilizadores de lactato y estimuladores de la síntesis de ácido propiónico (**Caja et al., 2003**).

Los mecanismos de acción de los microorganismos probióticos en el ganado, aún no están claros; sin embargo **Fuller (1999)** sugiere que los probióticos:

1. Estimulan el crecimiento de los hongos nativos del rumen, como el caso de *N. frontalis* con *A. oryzae*.
2. Incrementan el número de bacterias celulolíticas en el rumen: *S. cerevisiae* estimula la presencia de *F. succinogenes*.
3. Mejoran el metabolismo ruminal, la utilización del ácido láctico por bacterias que lo consumen, lo que a su vez mantiene el pH en un nivel bajo, pero óptimo para las funciones ruminales.
4. Remueven los azúcares, sustancias tóxicas o moléculas de oxígeno que pueden inhibir el crecimiento de bacterias celulolíticas.

Caja et al., 2003 mencionan que los microorganismos más utilizados como probióticos por el ser humano son bacterias lácticas no esporuladas (Gram +) entre las que sobresalen, los lactobacilos, bifidobacterias y estreptococos (cuadro 5).

Cuadro 5. Microorganismos utilizados como probióticos en los animales y el hombre. Fuente: Caja *et al.*, 2003.

MICROORGANISMOS	GÉNERO	ESPECIES
Bacterias lácticas no esporuladas (Gram +)	Lactobacilos (<i>Lactobacillus</i>)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosum</i> , <i>L. delbrueckii bulgaricus</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. cellobiosus</i> .
	Bífidobacterias (<i>Bifidobacterium</i>)	<i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilus</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. adolescents</i> , <i>B. animalis</i> .
	Estreptococos (<i>Streptococcus</i>)	<i>S. thermophilus</i> , <i>S. lactis</i> , <i>S. cremoris</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. leuconostoc</i> .
	Enterococos (<i>Enterococcus</i>)	<i>E. faecali</i> , <i>E. faecium</i> .
	Lactococos (<i>Lactococcus</i>)	<i>L. lactis</i>
	Pediococos (<i>Pediococcus</i>)	<i>P. acidilactici</i>
	Leuconostoc (<i>Leuconostoc</i>)	<i>L. mesenteroides</i>
Bacterias lácticas esporuladas (Gram+)	Sporolactobacilos (<i>Sporolactobacillus</i>)	<i>S. inulinus</i>
Bacterias no lácticas esporuladas	Bacilos (<i>Bacillus</i>)	<i>B. subtilis</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. cereus</i> (var. <i>toyoi</i>), <i>B. licheniformis</i> ,
	Bacterias propiónicas (<i>Propionibacterium</i>)	<i>P. freudenreichii</i>
Levaduras	Sacaromicetos (<i>Saccharomyces</i>)	<i>S. cerevisiae</i> (R), <i>S. Boulardii</i> (R)
Hongos	Aspergilos (<i>Aspergillus</i>)	<i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i> (R)

R = especial interés en rumiantes.

Kung y Hession (1995) utilizaron como probióticos en sus formulaciones a *L. acidophilus*, *L. casei*, *Enterococcus diacetylactis* y *Bacillus subtilis* y observaron que estos microorganismos al parecer tienen un efecto en la fermentación ruminal, reportando además, que en becerros lactantes se redujo la incidencia de diarreas y el contenido de coliformes en el intestino; mientras que en ganado de engorda se observó un incremento en la ganancia diaria de peso.

La disminución del pH y las altas concentraciones de ácido láctico, son condiciones que pueden llevar a una acidosis metabólica aguda, sin embargo, algunos microorganismos probióticos tienen efectos benéficos en el rumen (**Owens et al., 1998**). **Kung y Hession, (1995)** observaron que *Propionibacterium* y *M. elsdenii* convierten al ácido láctico y a la glucosa en ácidos acético y propiónico.

Ghorbani et al., (2002) utilizando *Propionibacterium*, *Lbacterium* y *Enterococcus*, observaron que la presencia de estas bacterias impide la acumulación de ácido láctico, reducen la toxicidad del nitrato y además toleran el pH de dietas altas en concentrado y escaso forraje. La presencia de estos microorganismos puede disminuir el tiempo de adaptación a la dieta y el riesgo de la acidosis metabólica crónica.

Nocek et al. (2000 y 2002) señalan que una combinación de *L. plantarum* y *E. faecium* ocasiona que la microflora del rumen se adapte a la presencia de lactato y se incremente el pH ruminal, provocando una reducción en el riesgo de acidosis. También hay evidencia de que estos probióticos incrementan la digestibilidad de la MS de ingredientes específicos, presumiblemente asociados con el incremento del pH.

Nocek et al., (2003) demostró que la adición de probióticos podría tener una influencia positiva en vacas lecheras disminuyendo el estrés pre y posparto, en el balance energético e incluso en el aumento de la producción.

La administración de *Lactobacillus* representa una opción de aditivo natural interesante para la protección y el soporte del crecimiento, bienestar y el estado metabólico-nutricional de los animales, induciendo cambios favorables en la actividad de la microflora intestinal, influyendo positivamente el desarrollo y la preservación de la actividad fermentadora del rumen, mejorando la utilización de las fracciones alimentarias de la dieta y la ingesta de materia seca. **(Chiofalo et al., 2004).**

El consumo de probióticos (*Lactobacillus spp*) entre otras actividades (figura 4) tiende a incrementar la digestibilidad de la materia orgánica y de la fibra cruda; incrementa la población de lactobacilos en heces, lo que sugiere su presencia en el intestino **(Kumagai et al., 2004)**, lo cual ayuda a prevenir pérdidas por diarreas disminuyendo la mortalidad y los costos de medicamentos **(Gorgulu et al., 2003).**

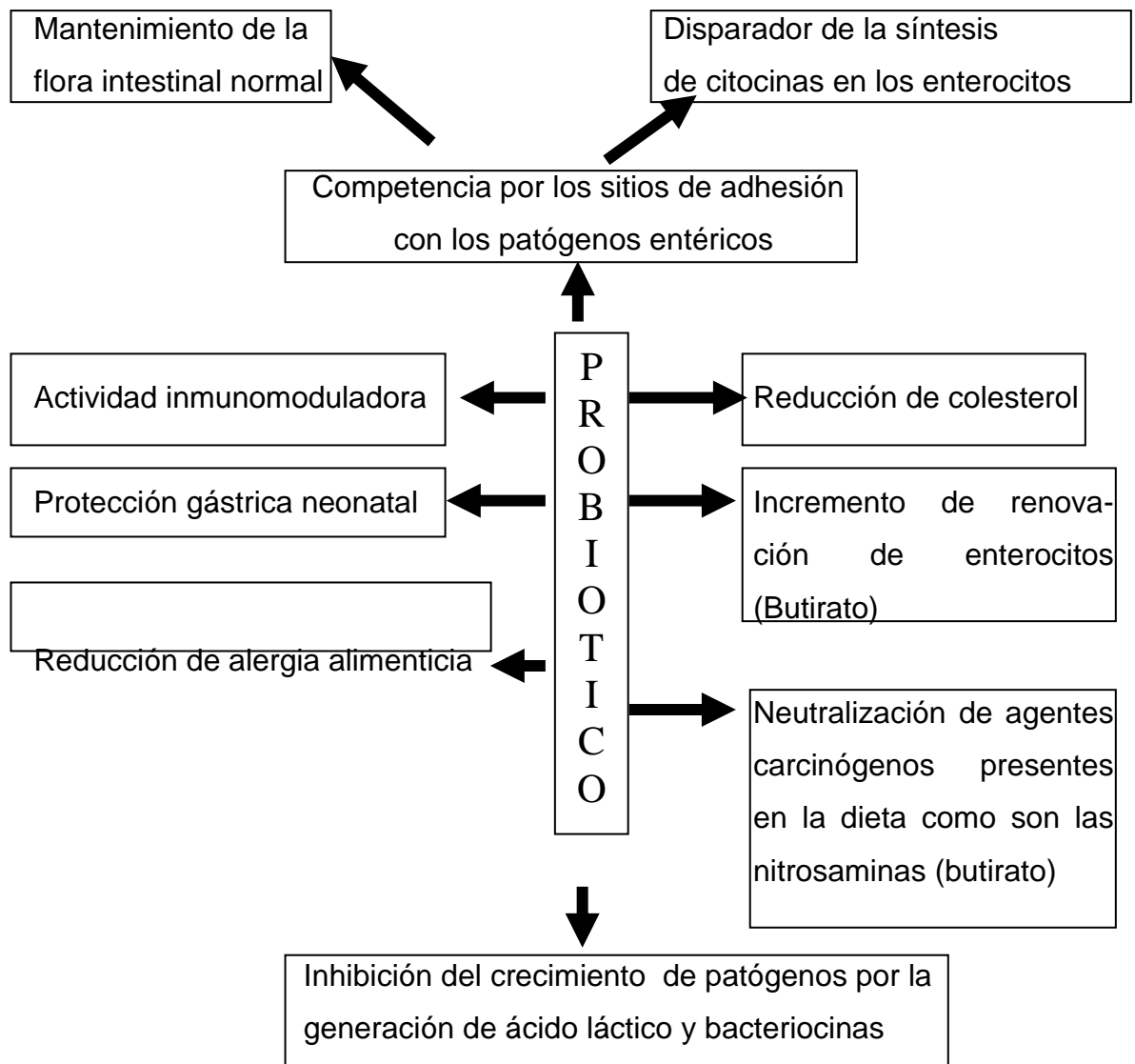


Figura 4. Mecanismos de acción de las bacterias probióticas. Fuente: Saito, 2004

En animales jóvenes, los probióticos son reconocidos por sus efectos preventivos sobre el crecimiento de patógenos por la producción de metabolitos secundarios, la presencia de ácido láctico y la consecuente disminución de pH; además, por la posible competencia por los nutrientes y los sitios de

colonización, lo que hace posible el efecto en la ganancia diaria de peso, el crecimiento y la disminución de problemas comunes de los neonatos, como la diarrea. Esta situación hace que sean un buen sustituto de tratamientos antidiarreicos, una solución económica y accesible (**Anandan et al., 1998**).

Lumbbadeh et al., (1999) señalan que el uso *L. acidophilus* en corderos durante periodos prolongados (120 días) disminuye hasta un 20 % la concentración de colesterol en la carne y en un 18% en hígado, lo que sugiere efectos benéficos en el consumidor final.

Cuadro 6. Contenido de colesterol de varias partes de la canal fresca de cordero y la reducción (%) observada en el grupo alimentado con suplemento de *L. acidophilus*. Fuente: Lumbbadeh et al., (1999).

Parte	Contenido de colesterol (mg/100 g)		Reducción (%)
	Control	Tratamiento	
Lomo	67.6 a	54.0 b	20.1
Brazo	67.9 a	52.5 b	22.7
Pierna	68.3 a	53.3 b	21.4
Grasa de la cola	104.4	97.4	6.7
Hígado	344.5 a	280.3 b	18.7
Riñón	409.4	380.4	7.1

a, b indican medias con valores diferentes entre columnas, estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar el efecto de la incorporación de un suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL) en las variables de fermentación ruminal y la producción de proteína microbiana en ovinos adultos alimentados con heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o rastrojo de maíz (*Zea mays*).

PARTICULARES

1. Observar el efecto del suplemento líquido en el consumo de alimento.
2. Determinar la cinética de degradación *in situ* de la MS del rastrojo de maíz.
3. Verificar si existe modificación en la producción de proteína microbiana añadiendo el SULIBAL en los tratamientos a base de heno de alfalfa o rastrojo de maíz.

HIPÓTESIS

La incorporación de un suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL) afectará las variables de fermentación ruminal, modificando el medio ambiente ruminal, para incrementar la producción de proteína microbiana en ovinos adultos; se espera una respuesta diferente en función de los forrajes base: heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o rastrojo de maíz (*Zea mays*).

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), ubicado en Vasco de Quiroga No. 15, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, México Distrito Federal.

1. DIETAS

Para la elaboración de las dietas experimentales se utilizaron: rastrojo de maíz y heno de alfalfa como forrajes y un concentrado comercial a base de granos y pastas de oleaginosas. Se elaboraron cuatro tratamientos experimentales (el porcentaje de inclusión de los ingredientes en los tratamientos esta dado en BH): T1 (alfalfa 55%, concentrado 45%); T2 (alfalfa 50%, concentrado 40% y 10% de suplemento proteico líquido); T3 (rastrojo 55%, concentrado 45%); T4 (rastrojo 50%, concentrado 40% y 10% de suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL).

Para la elaboración del suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL) se utilizaron diversos productos y subproductos agroindustriales (el porcentaje de inclusión de los ingredientes esta dado en BH): melaza (10%), pasta de soya (2.5%), maíz molido (2.5%), pollinaza (2.5%), urea (0.5%), sulfato de amonio(0.5%), ortofosfato (0.2%) y sales minerales (0.5%) los cuales fueron pesados y mezclados con 79.05 % de agua; como fuente de BAL se utilizó suero fresco de quesería (1%) y lácteos fermentados (yogurt 0.75%) conteniendo aproximadamente 4×10^7 unidades formadoras de colonias (ufc) de bacterias lácticas, compuesto por 4×10^6 ufc de *Lactobacillus plantarum*; 10×10^6 ufc de *L. delbrueckii*; 8×10^6 ufc de *L. helveticus*; 10×10^6 ufc de *Lactococcus lactis*; 10×10^6 ufc de *Leuconostoc mesenteroides*, y 5×10^4 ufc of *Bifidus spp* (Ortíz et al., 2009).

2. ANIMALES

Se utilizaron cuatro ovinos machos, cruzas de Katahdin con Pelibuey, con un peso vivo promedio de 52.4 ± 7 Kg, dotados con cánulas ruminales, en un diseño experimental con estructura de cuadrado latino 4x4, los animales se alojaron en jaulas metabólicas individuales, de acero inoxidable, dotadas con comedero y bebedero; el experimento constó de 4 períodos, cada uno con una duración de 12 días; de los cuales 7 días fueron de adaptación a las dietas y los 5 restantes para la recolección de muestras biológicas. Los animales y las dietas fueron distribuidos aleatoriamente.

3. ANÁLISIS QUÍMICO

La composición química de los ingredientes, los tratamientos experimentales y el suplemento, fueron determinados a través del análisis químico proximal (AQP) según la metodología de **AOAC (2005)**. El contenido de las fracciones de fibra se realizó empleando un analizador de fibra marca Ankom 200/220. El valor energético se determinó a través de la bomba calorimétrica.

Se determinó la concentración de pH, NH_3 y AGV's, para la cual al inicio del quinto día del periodo de recolección biológica, se obtuvo líquido ruminal a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas, tomando como referencia la hora cero (8:00 am); es decir, el momento antes de que el animal recibiera la dieta experimental, el líquido ruminal se separó en tres porciones, para determinar pH, NH_3 y AGV's; a la muestra para NH_3 , se le adicionó 0.1 ml de HCL 0.1 N, para evitar su volatilización, cuantificándose con un electrodo de Ion selectivo marca Orión. El pH se cuantificó por potenciometría, utilizando un medidor portátil marca Orión, Modelo 250A (**Bateman, 1970**). Para la determinación de los AGV's, se almacenaron 10 ml de líquido ruminal, del sobrenadante se tomó 1 ml para ser inyectado al equipo de cromatografía de gases (Varian 3400x), usando una columna capilar FFAP Varian (30 mts x 0.25 mm de diámetro), con una

temperatura inicial de 80° C hasta 230° C, usando nitrógeno como gas acarreador.

La digestibilidad de la materia seca (MS) y del nitrógeno (N) *in vivo* se realizó ofreciendo a voluntad los tratamientos experimentales y registrando el consumo a través de la oferta y el rechazo durante el periodo de adaptación; mientras que en el periodo de muestreo, se restringió la oferta de alimento en un 10% en BH, con la finalidad de asegurar el consumo total del mismo. Las heces se recolectaron por cada animal, durante 24 horas, en bolsas de plástico y se pesaron en BH, tomándose una alícuota del 10% para análisis de materia seca (MS) y nitrógeno (N) según la metodología del **(AOAC, 2005)**.

La digestibilidad de la materia seca (MS) se determinó a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ DMS} = [(\text{Consumido} - \text{Excretado}) / \text{Consumido}] \times 100$$

Lo consumido y lo excretado es expresado en base seca, la digestibilidad es considerada como aparente porque no se cuantifican los aportes metabólicos y endógenos.

El balance de nitrógeno (N) se realizó restando al nitrógeno consumido en la dieta, el excretado en las heces y en la orina y expresándolo en porcentaje, bajo la siguiente ecuación:

$$\% \text{ N} = [\text{N Consumido} - (\text{N heces} + \text{N orina}) / \text{N Consumido}] \times 100$$

Para esto fue necesaria la cuantificación del total de lo excretado y la valoración del nitrógeno total en orina y heces, por el método de Kjeldahl **(AOAC, 2005)**. Para evitar la pérdida de nitrógeno en la orina se adicionaron 10 ml de HCl concentrado en el frasco colector.

La medición de la degradabilidad *in situ* de la MS del rastrojo de maíz, se realizó durante los cuatro primeros días del muestro, usando la técnica de bolsa de nylon (**Ørskov et al., 1980**). Las bolsas usadas fueron de 10 x 5 cm, con una porosidad promedio de 1,600 orificios/cm², se les colocó un contenido de 3 g de rastrojo de maíz en BH, con un tamaño de partícula de 3 mm. Las bolsas se colocaron dentro del rumen a 96, 72, 48, 24, 12 y 9 horas. Al final del periodo de incubación, todas las bolsas se retiraron y lavaron con un agitador eléctrico, en periodos de agitación de 10 min a 150 rpm, hasta obtener un líquido de enjuague claro. Posteriormente el material se colocó en una estufa de desecación a 60° C, durante 48 horas, para eliminar el contenido de humedad. Al material residual se le determinó el contenido de materia seca (MS) (**AOAC, 2005**). Las bolsas correspondientes a la hora cero, únicamente se lavaron con el agitador bajo los mismos periodos que las bolsas introducidas al rumen, para determinar la cantidad de material soluble en la muestra. Los valores de degradabilidad obtenidos fueron analizados mediante el paquete computarizado “Neway Excel”, desarrollado por **Chen, 1995**.

Para determinar los derivados de purinas se tomó la orina de 24 horas de cada uno de los borregos durante tres días en el periodo de muestreo. Ésta se colocó en recipientes cerrados, cuidando que no sufriera ningún tipo de contaminación, a los que previamente se les adicionaran 10 ml de HCl concentrado, para garantizar un pH menor de 3, lo cual permite mantener las condiciones necesarias para una medición óptima. En el laboratorio se midieron los mililitros totales de orina, se verificó que el pH fuera menor a 3, a través de potenciometría, utilizando un medidor portátil Marca Orión, Modelo 250A; la orina se almacenó una muestra de 100 ml a una temperatura de – 18°C para su análisis posterior. La descongelación se realizó por refrigeración hasta obtener las muestras líquidas y posteriormente se trabajaron a temperatura ambiente entre los 18 y 21°C.

La orina fue analizada para determinar alantoína, ácido úrico y xantina por medio de espectrofotometría UV/visible. La producción de nitrógeno microbiano

(NM) se expresó en gramos de nitrógeno por día (gN/d) y se estimó a partir de la excreción urinaria de purinas totales (X, mmol/d), bajo la siguiente ecuación:

$$\mathbf{NM} \text{ (gN/d)} = 0.727 X$$

La proteína microbiana proporcionada al animal por unidad de alimento ingerido, usualmente se expresa como gramos de nitrógeno microbiano por Kg. de materia orgánica digestible fermentada en el rumen (DOMR), que puede ir de 14 a 60 gN/Kg. DOMR, esta variación debida a la influencia de varios factores relacionados con la dieta o el medio ambiente ruminal. Los métodos usados generalmente se basan en la determinación de marcadores microbianos, por lo tanto dificulta y encarece la práctica de estudios de síntesis de proteína microbiana en vivo. La estimación de proteína microbiana esta basada en la excreción diaria de derivados de purinas en la orina, es simple, no invasivo, solo se requiere de la colección total de la orina, y tiene el potencial de ser simplificado bajo condiciones naturales. Los ácidos nucleicos contenidos en el rumen son esencialmente de origen microbiano, debido a que la alimentación de los rumiantes tiene generalmente un contenido bajo de purinas, la cual en su mayoría experimenta una degradación extensa en el rumen como resultado la fermentación microbiana. Los ácidos nucleicos absorbidos se degradan y se excretan en la orina en forma de derivados de purinas, hipoxantina, xantina, ácido úrico y alantoina (**Chen y Gomes, 1992**).

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño de cuadrado latino 4x4: cuatro ovinos, cuatro tratamientos experimentales durante cuatro periodos, generándose un total de 16 observaciones.

La diferencia entre medias se analizó empleando la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. El análisis de varianza se realizó mediante el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico Statistical Analysis System **(SAS, 2005)**.

El modelo estadístico fue:

$$\hat{Y}_{ijk} = \mu + \alpha_i + \tau_j + \beta_k + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

\hat{Y}_{ijk} = la variable a medir.

μ = es el efecto de la media general.

α_i = es el efecto de la i-ésima hilera $i = 1, 2, 3, 4$ (borrego).

τ_j = es el efecto de la j-ésima columna $j = 1, 2, 3, 4$ (periodo).

β_k = efecto del tratamiento $k = 1, 2, 3, 4$ (tratamiento).

ϵ_{ijk} = es el error aleatorio.

RESULTADOS

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS INGREDIENTES Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

La composición química de los ingredientes muestra que el SULIBAL es una fuente importante de nitrógeno (N), debido a que en su composición se utilizan compuestos que aportan nitrógeno no proteico (NNP), como la urea, el sulfato de amonio y la pollinaza, lo cual se refleja en el aporte de proteína cruda (PC); además, también es rico en energía (EB, ED y EM).

Cuadro 7.- Composición química de los ingredientes utilizados para elaborar los tratamientos experimentales.

	Alfalfa	Concentrado	Rastrojo de maíz	SULIBAL
MS %	90.00	92.00	91.00	31.5
PC (N x 6.25) %	18.00	12.76	4.76	25.16
EE %	2.80	4.11	2.11	6.34
Cenizas %	11.44	7.25	12.12	2.26
FC %	25.02	22.78	30.60	5.30
ELN %	42.74	53.10	50.41	60.94
F D N %	33.06	36.50	44.42	-
F D A %	25.00	22.68	30.80	-
Hemicelulosa %	8.06	13.82	13.62	-
Celulosa %	17.58	14.96	20.40	-
Lignina %	7.44	8.14	10.40	-
TND *	63.74	69.11	60.95	80.06
EB Mcal	3.90	4.88	3.48	5.34
ED Mcal **	2.80	3.04	2.68	3.52
EM Mcal ***	2.30	2.49	1.90	2.89

*TND = FC (0.5) +PC (0.75) + ELN (0.75) + EE (0.9) * 2.25.

** ED = TND* 4409 kcal.

*** EM = ED*0.82. (Mcal/kg de MS)

ELN = Extracto libre de nitrógeno.

FDN= Fibra detergente neutro.

FDA = Fibra detergente ácido.

En los tratamientos que incluyen 10% de SULIBAL (T2 y T4), se observa una disminución en el contenido de materia seca (MS) y un incremento de 6 y 20% en proteína cruda (PC) con respecto a los tratamientos correspondientes sin SULIBAL (T1 y T3); los tratamientos con rastrojo tuvieron menos proteína que los de alfalfa; el contenido de los otros nutrientes no varió entre tratamientos.

Cuadro 8.- Composición química de los tratamientos experimentales

	T1 Alfalfa, concentrado.	T2 Alfalfa, concentrado, SULIBAL.	T3 Rastrojo de maíz, concentrado.	T4 Rastrojo de maíz, concentrado, SULIBAL.
MS %	91.90	84.95	91.45	85.45
PC (N x 6.25) %	15.64	16.62	8.36	10.00
EE %	3.39	3.68	3.01	3.33
Cenizas %	9.55	8.85	9.93	9.19
FC %	24.01	22.15	27.08	24.94
ELN %	47.40	48.70	51.62	52.54
F D N %	34.61	31.13	40.86	36.81
F D A %	23.96	21.57	27.15	24.47
Hemicelulosa %	10.65	9.56	13.71	12.34
Celulosa %	16.4	14.77	17.95	16.18
Lignina %	7.76	6.98	9.38	8.46
TND *	66.15	67.52	64.62	66.12
EB Mcal	4.34	4.44	4.11	4.23
ED Mcal **	2.91	2.97	2.84	2.91
EM Mcal ***	2.39	2.44	2.17	2.24

*TND = FC (0.5) +PC (0.75) + ELN (0.75) + EE (0.9) * 2.25.

** ED = TND* 4409 kcal.

*** EM = ED*0.82. (Mcal/kg de MS)

ELN = Extracto libre de nitrógeno.

FDN= Fibra detergente neutro.

FDA = Fibra detergente ácido.

CONSUMO

El tratamiento que tuvo mayor aceptación fue el T2 (alfalfa/ concentrado/ SULIBAL) con un consumo promedio de 1,291 g/d de MS, seguido del T1 (alfalfa/ concentrado) con 1,148 g/d y del T3 (rastrajo/ concentrado/ SULIBAL) con 1,023 g/d , observándose diferencias significativas ($P<0.05$) en el consumo de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y de nitrógeno (N) con el T3 a base de rastrojo y concentrado (T3), que fue el tratamiento de menor consumo de MS en promedio por día (887 g/d).

El consumo de Nitrógeno se ve disminuido en los tratamientos T3 y T4 que contienen rastrojo 13.2 y 14.6 g/d respectivamente con diferencias estadísticas ($P<0.05$) con T1 y T2 (Alfalfa) donde el consumo de N es mayor: 31.8 y 33.5 g/d.

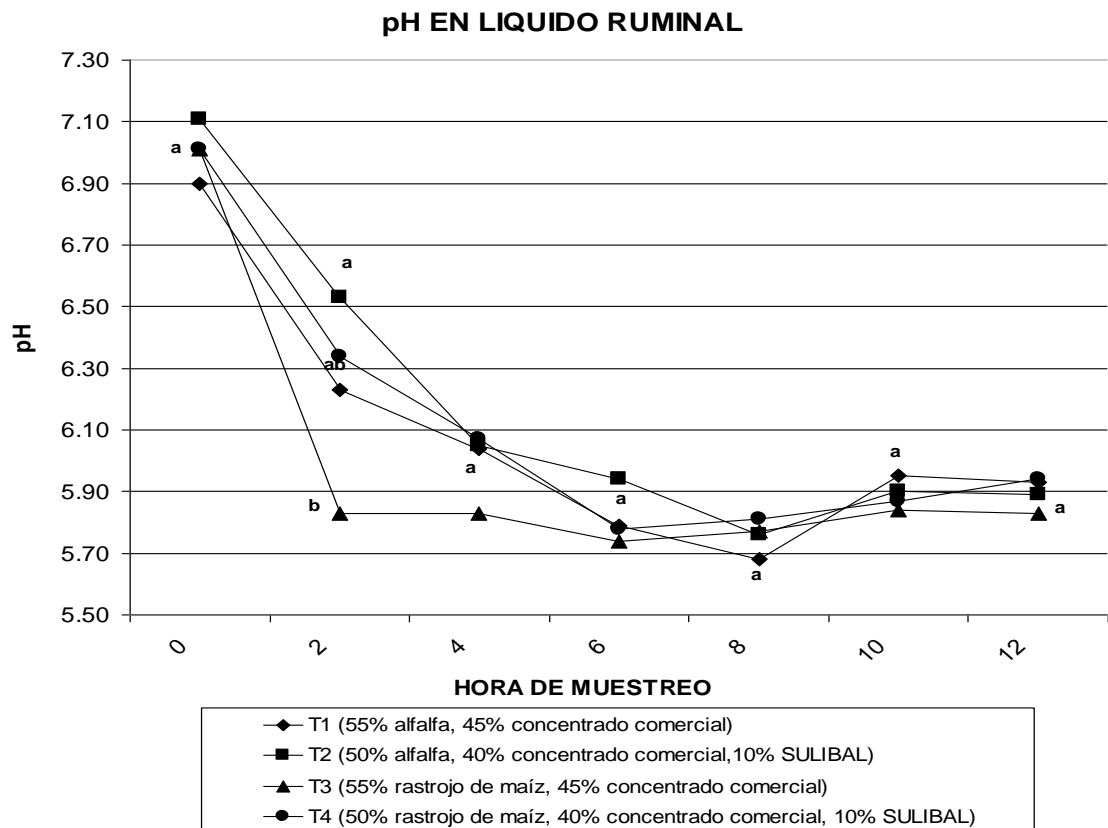
Cuadro 9. - Consumo de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y nitrógeno (N), g/día.

	T1	T2	T3	T4
	(alfalfa, concentrado)	(alfalfa, concentrado, SULIBAL)	(rastrajo de maíz, concentrado)	(rastrajo de maíz, concentrado, SULIBAL)
Consumo de MS (g/día)	1,148 a ± 88	1,291a ± 59	887 c ± 142	1,023 b ± 73
Consumo de MO (g/día)	1,038 a ± 79	1,177 a ± 54	799 c ± 128	929.2 b ± 66
consumo de N (g/día)	28.7 b ± 2.2	34.4 a ± 1.6	11.9 c ± 1.9	16.4 c ± 1.2

a, b, c. Literales distintas indican diferencia significativa ($P<0.05$) entre columnas.

pH RUMINAL

Se observa en la gráfica 1 una disminución progresiva del pH a partir de que se inició la alimentación hasta las 8 horas donde se estabiliza, advirtiéndose una caída importante a las 2 horas después de la ingesta, en el T3 (rastrajo con concentrado) siendo diferente estadísticamente de T2 y T4 que contienen SULIBAL, pues mantienen un pH entre 6.3 y 6.5 pero similar al tratamiento de alfalfa sin SULIBAL. Todos los tratamientos tienen un comportamiento similar a partir de las 6 hasta las 12 horas, ubicándose dentro de un rango cercano a 6. El pH más bajo (5.69) se observa con el T1 (alfalfa/concentrado) a las 8 horas después de iniciada la ingesta de alimento; a partir de este momento se incrementa el valor del pH en todos los tratamientos.



a, b, c, literales distintas muestran diferencia significativa ($P < 0.05$)

Gráfica 1.- Cinética de pH ruminal en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales

CONCENTRACIÓN RUMINAL DE AMONIACO

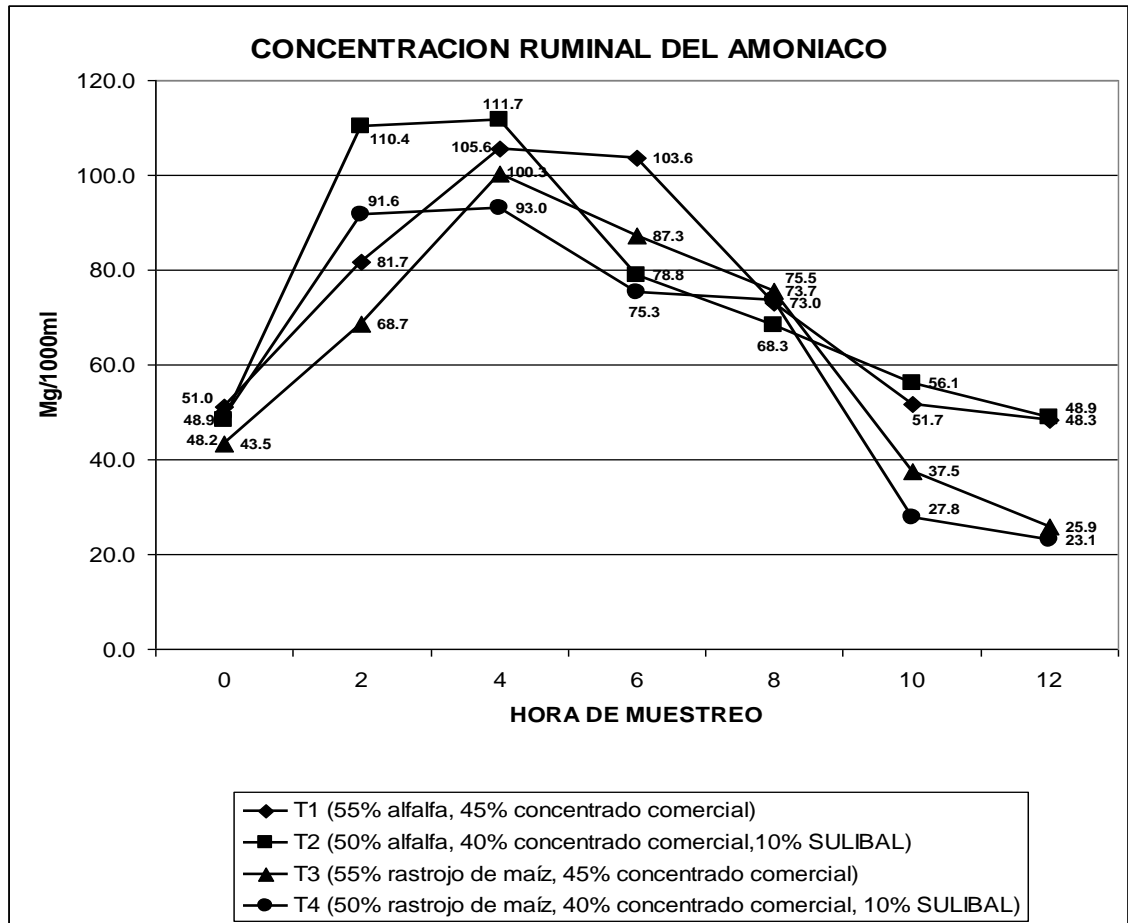
La producción de amoniaco ruminal (NH_3 mg/1000ml) promedio, fue mayor ($P < 0.05$) en los tratamientos a base de alfalfa y concentrado (T1:73.6 y T2: 74.6) que en los basados en rastrojo (T3:62.7 y T4: 61.9); dentro de cada tipo de forraje no hubo efecto significativo atribuible al SULIBAL. A la hora 2 se observa un incremento significativo en los tratamientos que contienen el SULIBAL (T2 y T4) sobre los tratamientos testigo (T1 y T3). A las 6 h, en el caso del rastrojo y a las 8 en el de la alfalfa la producción de amoniaco es igual dentro del tipo de forraje e inferior en el caso del rastrojo a los tratamientos con alfalfa. A la hora 12 se observa que T3 y T4 han caído drásticamente (26 y 23 mg/1000 ml de NH_3), siendo diferentes ($P < 0.05$) de T1 y T2 que se mantienen en niveles cercanos a los 50 mg/1000ml.

Cuadro 10.- Efecto de los tratamientos sobre la concentración de amoníaco (NH_3 mg/1000ml) ruminal.

Hora	T1 (alfalfa, concentrado)	T2 (alfalfa, concentrado, SULIBAL)	T3 (rastrojo de maíz, concentrado)	T4 (rastrojo de maíz, concentrado, SULIBAL)
0	51 ± 9.2 a	48.2 ± 6.1 a	43.46 ± 6 a	48.9 ± 7.1 a
2	81.7 ± 7 b	110.4 ± 6.8 a	68.7 ± 6 c	91.6 ± 9.7 bc
4	105.6 ± 10.5 b	111.7 ± 1.3 a	100.3 ± 8.9 b	93.0 ± 10.1 c
6	103.6 ± 8.7 a	78.8 ± 9.2 b	87.3 ± 9.6 b	75.3 ± 2.2 b
8	73 ± 10.6 a	68.3 ± 11.1 a	75.5 ± 4.5 b	73.7 ± 7.3 b
10	51.7 ± 7.5 a	56.0 ± 5.3 a	37.5 ± 7.8 b	27.8 ± 2.9 c
12	48.3 ± 9.9 a	48.9 ± 5 a	25.9 ± 4.1 b	23.1 ± 9.1 b
Promedio	73.6 ± 7 a	74.6 ± 4.4 a	62.7 ± 4.8 b	61.92 ± 5.9 b

a, b, c. Literales distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$) entre columnas.

Grafica 2.- Concentración de amoniaco ruminal en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales



CONCENTRACIÓN DE AGV'S EN EL LÍQUIDO RUMINAL

La producción total de ácidos grasos volátiles no muestra diferencia significativa entre los tratamientos experimentales con el mismo forraje (T1 y T2) (T3 y T4), pero es diferente significativamente ($P < 0.05$) entre los tratamientos con o sin SULIBAL. La producción porcentual es similar, solo se puede observar un incremento mínimo de ácido propiónico entre los tratamientos T3 y T4.

El efecto de la inclusión del SULIBAL sobre la producción total (mmol/ L) de los ácidos grasos volátiles (AGV's) muestra diferencia significativa entre los tratamientos con alfalfa (T1: 25.9 y T2: 24.6) y los que son a base de rastrojo (T3: 18.13 y T4: 16.65); mientras que la proporción es similar en los cuatro tratamientos, a excepción del ácido propiónico que incrementa en dos puntos porcentuales (20.4 %) en el T4 (rastrojo/concentrado/SULIBAL) respecto a lo observado en T3 (rastrojo/concentrado) que fue de 18.3 %, hasta equipararse a la producción observada en los tratamientos T1 y T2 a base de alfalfa.

Cuadro 11.- Efecto de la inclusión del SULIBAL sobre la producción total y porcentual de los AGV's.

AGV'S *	T1 (alfalfa, concentrado)		T2 (alfalfa, concentrado, SULIBAL)		T3 (rastrojo de maíz, concentrado)		T4 (rastrojo de maíz, concentrado, SULIBAL)	
	mmol	%	mmol	%	mmol	%	mmol	%
ACÉTICO	13.82 a	53.5	13.75 a	56.0	10.50 b	58.0	9.55 c	57.3
PROPIÓNICO	5.64 a	21.8	5.28 a	21.5	3.32 b	18.3	3.40 b	20.4
BUTÍRICO	4.17 a	16.1	3.78 ab	15.4	3.15 b	17.4	2.60 c	15.6
ISOBUTÍRICO	0.81 a	3.1	0.60 b	2.4	0.28 bc	1.6	0.35 b	2.1
VALÉRICO	0.50 a	2.0	0.40 b	1.6	0.29 c	1.6	0.25 c	1.5
ISOVALÉRICO	0.66 a	2.5	0.49 b	2.0	0.37 c	2.0	0.37 c	2.2
CAPROICO	0.11 a	0.4	0.11 a	0.5	0.10 a	0.5	0.06 b	0.4
ISOCAPROICO	0.12 b	0.5	0.15 a	0.6	0.09 c	0.5	0.07 c	0.4
HEPTANOICO	0.018 a	0.07	0.016 a	0.07	0.011 b	0.06	0.009 b	0.05
TOTAL	25.85 a	100	24.57 a	100	18.12 b	100	16.65 b	100

* Los valores son medias de 7 tiempos (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12), antes y después de ofertado el alimento.

DIGESTIBILIDAD *in vivo* Y METABOLISMO DEL NITRÓGENO

Cuadro 12.- Digestibilidad *in vivo* y metabolismo del nitrógeno, en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales.

		T1	T2	T3	T4
		(alfalfa, concentrado)	(alfalfa, concentrado, SULIBAL)	(rastroyo de maíz, concentrado)	(rastroyo de maíz, concentrado, SULIBAL)
Consumo de nitrógeno (g/d)		31.8 a	33.5 a	13.3 b	14.6 b
Nitrógeno en heces (g/d)		8.7 a	8.5 a	6.5 b	6.2 b
Nitrógeno en orina (g/d)		9.6 a	11.5 a	6.1 b	6.2 b
Nitrógeno retenido (g/d)		13.6 a	13.5 a	0.8 c	2.2 b
Digestibilidad del nitrógeno %		72.78 a	74.59 a	51.35 b	57.66 b

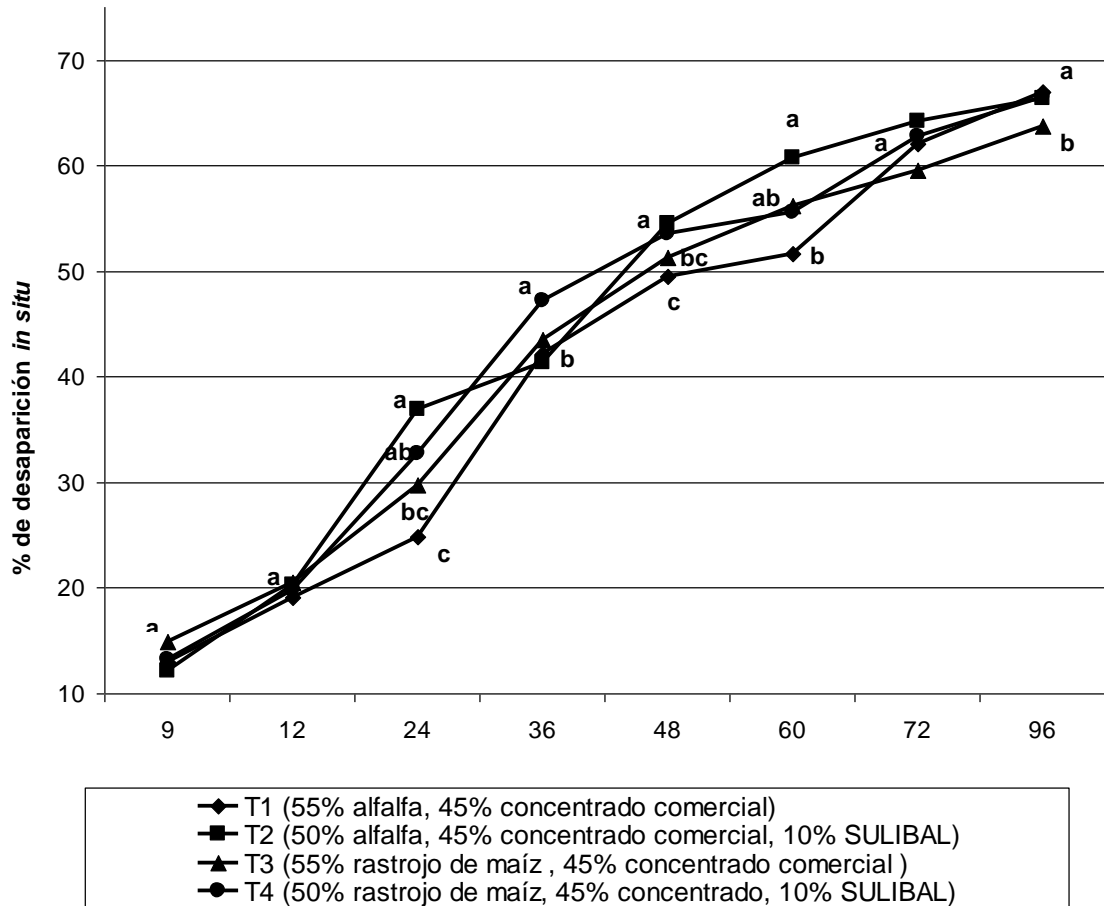
a, b, c. Literales distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$) entre columnas

En la tabla de digestibilidad *in vivo* y metabolismo del nitrógeno se observa que los tratamientos con rastroyo tienen una menor cantidad de nitrógeno que se manifiesta en el consumo y en la excreción en heces y orina. La digestibilidad *in vivo* del N fue estadísticamente mayor en los tratamientos con alfalfa que con rastroyo e iguales ($P < 0.05$) dentro de cada forraje, es decir no hubo efecto del SULIBAL.

La retención de N fue mayor en los tratamientos con alfalfa ($P < 0.05$) que con los de rastroyo de maíz; el SULIBAL mejoró la retención del N solo en el caso del rastroyo de maíz, que fue el tratamiento con menor aporte de N y además de baja digestibilidad; T4 (2.2 g/d) respecto al T3 (0.8 g/d).

DEGRADABILIDAD DE LA MATERIA SECA

DEGRADABILIDAD *in situ* DE LA MS



Grafica 3.- Cinética de desaparición *in situ* de la materia seca (MS).

La desaparición de la MS del rastrojo post incubación, no muestra diferencias significativas ($P < 0.05$) a las 9 y 12 horas para los cuatro tratamientos, sin embargo a las 24 si hay diferencia estadística significativa, observando una mayor degradabilidad en los tratamientos a los que se les adicionó el suplemento SULIBAL. A las 48 horas de incubación se tiene que desaparece el 50% de la MS en todos los tratamientos y aun se observa la diferencia entre los tratamientos que contienen SULIBAL y los que no lo tienen. A las 96 h de incubación no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a los que se les adicionó SULIBAL, T2 y T4 (67%) y el que contiene solamente

alfalfa y concentrado (T1); la degradación de la MS del tratamiento T3 (rastrajo de maíz- concentrado) fue estadísticamente ($P < 0.05$) inferior (64%).

Cuadro 13.- Fracción degradable y no degradable, tasa de degradación y tiempo medio ($t^{1/2}$ horas) de degradación de la materia seca (MS) del rastrojo de maíz con cada uno de los tratamientos experimentales.

		T1	T2	T3	T4
		(alfalfa, concentrado)	(alfalfa, concentrado, SULIBAL)	(rastrajo de maíz, concentrado)	(rastrajo de maíz, concentrado, SULIBAL)
Fracción soluble	a (%)	26.7 c	30.3 a	27.0 bc	27.9 ab
Fracción insoluble pero degradable	b (%)	53.4 c	59.8 a	54.2 c	55.6 b
Fracción degradable	a+b (%)	80.1 c	90.1 a	81.6 c	83.5 b
Fracción no degradable	100-(a+b) (%)	19.9 a	9.9 c	18.4 a	16.5 b
Tasa de degradación	kd	0.05 a	0.05 a	0.05 a	0.05 a
Tasa de pasaje	kp	0.02 a	0.01 a	0.02 a	0.02 a
Tiempo medio de degradación	$t^{1/2}$ (horas)	13.9 a	13.9 a	13.9 a	13.9 a
Degradabilidad verdadera	$kd/(kd+kp)$ (%)	71.9 c	83.7 a	73.0 bc	76.8 ab

a. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa ($P < 0.05$) entre columnas

En el cuadro 13 se observa que la degradabilidad verdadera del T2 (alfalfa/ concentrado/ SULIBAL) con un 83.68%, fue estadísticamente superior ($P < 0.05$) a los tratamientos que no contienen SULIBAL, no así al T4 (rastrajo/ concentrado/ SULIBAL) con 76.78% de degradabilidad. Entre los tratamientos de rastrojo de maíz, con y sin SULIBAL, no hubo diferencias significativas en la degradabilidad de la MS del rastrojo.

DERIVADOS DE PURINAS

Cuadro 14.- Derivados de purina excretados en la orina (mmol/día).

	T1 (alfalfa, concentrado)	T2 (alfalfa, concentrado, SULIBAL)	T3 (rastrajo de maíz, concentrado)	T4 (rastrajo de maíz, concentrado, SULIBAL)
NM (g/d)	15.40 ab	17.38 a	12.29 c	14.20 b
Pa(mmol/d)	21.18 b	23.91 a	16.90 d	19.54 c
DPe (mmol/d)	19.79 b	22.08 a	16.20 c	18.41 b

MN: Nitrógeno Microbiano.

Pa: Purinas Absorbidas.

DPe: Derivados de Purinas excretados.

En la excreción de derivados de purinas se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. El T2 (alfalfa/concentrado/SULIBAL) presentó una mayor excreción total de derivados de purinas (22.08 mmol/día) que se tradujo en la producción más alta de nitrógeno microbiano por día (17.38 g N/d) seguido del T1 (alfalfa/concentrado) con 19.79 mmol/día y del T4 (rastrajo/concentrado/SULIBAL) con 18.41, en el T3 (rastrajo/concentrado) se observó la excreción más baja, 16.20 mmol/día.

DISCUSIÓN.

Composición química

La composición química (g/100g MS) de los ingredientes utilizados para elaborar los tratamientos experimentales, no cambia respecto a los datos ya conocidos para cada uno (por ejemplo PC: alfalfa: 20, concentrado: 13.82, rastrojo de maíz: 5.06) a excepción del Suplemento Líquido de Bacterias Acidolácticas (SULIBAL) que al ser una combinación de ingredientes no conocida, con una concentración importante de NNP (urea, sulfato de amonio, pollinaza), no se tienen registros anteriores de su composición química. Sin embargo el análisis químico proximal realizado muestra que el SULIBAL es una fuente importante de nitrógeno (N), que se refleja en el aporte de proteína cruda (PC), por lo que, en los tratamientos donde se incluye, se incrementa en más de dos puntos porcentuales el contenido de PC (T2: 19.6 > T1: 17.3 y T4: 11.8 > T3: 9.2). Cabe hacer notar que los tratamientos experimentales no se ajustaron para que fueran isoproteicos, siendo más marcadas las diferencias en contenido de proteína debidas a los forrajes tan diferentes en este nutriente. Resultados similares han sido reportados con el uso de probióticos en vacas altas productoras (**Galina et al., 2009**).

pH ruminal

El comportamiento del pH ruminal fue muy similar a lo largo de las horas de muestreo en los cuatro tratamientos, a excepción del observado a la hora 2 post-alimentación del tratamiento 3 (rastrojo/ concentrado), donde baja drásticamente de 7.01 a 5.83, esto debido probablemente a una selección de ingredientes en la ración por los animales sobre el alimento concentrado, ocasionando con esto un mayor grado de acidez. Se puede observar como los tratamientos con SULIBAL (T2 y T4) en promedio mantienen al final de la curva una tendencia ascendente mayor que los Tratamientos testigo (T1 y T3). Esto difiere con resultados recientes en ovinos alimentados con probióticos, las

diferencias quizás sean producto de la utilización de promotores de la fermentación adicionados al probiótico que han probado mantener o elevar el pH ruminal (**Ortiz et al., 2009**).

Galina et al.(2004) empleando tratamientos similares (alfalfa y concentrado) reportaron un pH bajo (5.7 y 5.8) a las 4 y 6 horas después de la ingesta, parecido al encontrado con el T1 (alfalfa/concentrado) a la hora 6 (pH: 5.8). En trabajos realizados con microorganismos probióticos, **Newbold et al. (1995)** observaron que la presencia de *S. cerevisiae* incrementó el pH con respecto al grupo control, tanto *in vitro*: C (Control): 7.1, NCYC (Nacional Collection of Yeast Cultures): 7.2, YS (Yea-Sacc): 7.2, como *in vivo* (C: 6.46, NCYC 240: 6.53, NCYC 1026: 6.56, YS: 6.53) sin embargo, **Corona et al. (1999)** encontraron que específicamente con *S. cerevisiae* se reduce el pH ruminal, de 6.48 del grupo control a 6.29 y 6.33 de los grupos experimentales (Yea-Sacc y Levucell) respectivamente. **Por otro lado Ghorbani et al. (2002)**, utilizando bacterias probióticas (*Propionibacterium*, *Enterococcus faecium*), encontró un pH bajo, aun en el grupo control, (GC: 5.72, P15: 5.69, PE: 5.71). Otros estudios de **Raeth-Knigth et al., (2007)** empleando bacterias productoras de lactato (*L. acidophilus*) y bacterias que utilizan el lactato (*P. freudenreichii*) en vacas Holstein para modificar la fermentación ruminal reportan valores bajos de pH a la hora cero (6.42 en promedio), comparando este valor con el obtenido a la hora 0 de muestreo (7.01 en promedio), mientras que el valor más bajo de pH fue obtenido a las 3 horas post-alimentación (5.98), en el presente estudio la caída mas drástica fue a las 4 horas en el T3 (rastrojo/concentrado) donde se observó un valor de pH de 5.87, mientras que en promedio entre tratamientos el valor mas bajo (5.83) se obtuvo a la hora 8 post-alimentación. Los presentes resultados muestran que probablemente la acción sola de bacterias lácticas tenga una influencia mínima sobre el pH ruminal.

Concentración de Amoniacó Ruminal (NH₃)

La concentración de amoniacó a la hora 0 nos muestra valores similares entre los tratamientos con y sin SULIBAL, sin embargo a la hora 2 post-alimentación hay un incremento significativo en la concentración de NH₃, en los tratamientos con SULIBAL (T2 y T4): 101 mg/1000ml en promedio contra 75 mg/1000ml promedio obtenido en T1 y T3, que se puede atribuir al mayor consumo de nitrógeno con respecto a los testigos. A partir de esta hora se observa una disminución paulatina lo que sugiere que hay una utilización metabólica del nitrógeno, probablemente por la formación de proteína bacteriana (**Mwenya et al., 2004, Galina et al., 2007**).

En un experimento similar **Newbold et al. (1995)** empleando *S. cerevisiae* en preparados de extracto de malta obtenidos de la Nacional Collection of Yeast Cultures (**NCYC**) en Norwich, Inglaterra; observaron que *in vitro* se incrementó el contenido de NH₃ mg/d respecto al control (C: 43.8, NCYC 240: 48.5, NCYC 694: 62.2, NCYC 1026: 66.6, NCYC 1088: 63.6, YS : 52.0), mientras que *in vivo* se observó una disminución en la concentración de NH₃ mg/L (C: 171, NCYC 240: 170, NCYC 1026: 164, YS: 164) **Corona et al. (1999)** utilizando *S. cerevisiae* no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos utilizados, pero la concentración fue alta, 115 y 93.3 para los grupos experimentales que contienen *S. cerevisiae*. **Ghorbani et al. (2002)** emplearon dos bacterias probióticas *Propionibacterium*, una transformadora de lactato a propionato, acetato y CO₂ (P15); y *Enterococcus faecium* una productora de lactato (PE) y observaron que la concentración de NH₃ ruminal (mg/L) tendió a ser alta en los grupos experimentales sobre el grupo control (GC): 7.95, *Propionibacterium* (P15): 9.44, *E. faecium* (PE): 8.23

Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)

La producción total de AGV's se vio afectada por el forraje de la dieta, siendo mayor en los tratamientos a base de alfalfa (T1 y T2: 25.21 Mmol en promedio) que los tratamientos que contenían rastrojo (T3 y T4: 17.4 Mmol en promedio), **Raeth-Knigth et al. (2007)** al utilizar *L. acidophilus* (DFM1) y *P. freudenreichii* (DFM2) en vacas Holstein para modificar la fermentación ruminal no observaron diferencias en la proporción final de AGV's entre tratamientos y el grupo control, el porcentaje obtenido para ácido acético fue de 65.5, 63.9 y 64.8 respectivamente, mientras que en el presente estudio el promedio de ácido acético obtenido en los dos tratamientos con SULIBAL fue de 56.54 %. Sin embargo en la proporción de ácido propiónico se observa una paridad importante entre tratamientos conteniendo BAL (bacterias ácido lácticas) 21.5 % en T2 y 20.4 % en T4, con 21.7 % por DFM1. **Corona et al. (1999)** encontraron que los tratamientos donde se utilizó *S cerevisiae* no afectaron la concentración total de AGV's, sin embargo, Levucell (LC) comparada con Yea-Sacc (YS) el acetato fue mas bajo (GC: 67.1 %, YS: 69.0 %, LC: 66.4 %), el propionato (GC: 20 %, YS: 22.6 %, LC: 21.4 %) pero la concentración molar de butirato disminuyó con YS (GC: 12.8 %, YS: 10.4 %, LC: 12.1 %). **Newbold et al. (1995)** en su estudio *in vitro* observaron que los grupos con cepas de la Nacional Collection of Yeast Cultures (**NCYC**) obtuvieron mayor concentración AGV's totales (mM/d) respecto al grupo control (C) y al grupo Yea- Sacc (YS) (C: 27.8, NCYC 240: 28.2, NCYC 694: 32.4, NCYC 1026: 32.8, NCYC 1088: 33.5, YS: 25.8) e *in vivo* encontraron concentraciones mayores a 100 pero sin diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) **Ghorbani et al. (2002)** encontraron que la concentración total de los AGV's se observó mas elevada cuando se adicionó *Propionibacterium* solamente. **Galina et al. (2004)** reportan una concentración alta de AGV totales en rumen (mM/L), en los dos tratamientos utilizados, Rastrojo de maíz (CS) y SIUS (slow-intake urea suplement) CS/SIUS: 180.5 mM/L, y en alfalfa (AH) con concentrado (BC) AH/BC: 203 mM/L; también observaron una mayor aportación de ácido acético y dos ácidos grasos ramificados (isovalérico e isobutírico) por parte de la

combinación rastrojo de maíz y suplemento de ingesta lenta de urea (CS/SIUS) mientras que la mezcla de alfalfa y concentrado, resultados similares se observan entre las proporciones de los tratamientos T3 (rastrojo/ concentrado) y T4 (rastrojo/ concentrado/ tratamiento) con 2.02 y 2.22 % para isovalérico y 1.58% contra 2.08 % en isobutírico, respectivamente, (AH:BC) aportó mayor cantidad de ácido propiónico y valérico, el ácido butírico no tuvo grandes diferencias entre ambos tratamientos. Los datos de aumento en ácido propiónico, gluconeogénico podrían explicar los resultados en la producción de leche y ganancia de peso, como lo demuestra el aumento de glucosa e insulina sanguínea, demostrado recientemente en vacas lecheras suplementadas con un simbiótico (probiótico y prebiótico), aumentando significativamente la producción de leche (**Galina et al., 2009**).

Consumo de Materia Seca (CMS)

La composición de las raciones afectó el consumo voluntario de materia seca siendo mayor en los tratamientos que contenían alfalfa (T1 y T2) que en los tratamientos a base de rastrojo de maíz (T3 y T4), en ambos grupos de tratamientos el consumo de MS se incrementó en 130 y 110 g para cada uno, al agregar al alimento el SULIBAL, La inclusión del suplemento modificó el consumo total de MS, MO y N de los tratamientos, incrementado en T2 y T4 con respecto a sus testigos (T1 y T3), pero también el consumo de nutrientes es menor en los tratamientos con rastrojo de maíz, que se puede atribuir a la deficiencia de proteína del mismo. Puede ser que en las dietas con SULIBAL la mejoría del consumo de alimento haya sido favorecido, además, por la presentación que le da al alimento (menor presencia de polvo, aglutinación de partículas y mejora en la palatabilidad). El consumo del T2 (alfalfa/ concentrado/ SULIBAL) de 1,279.8 g fue aproximado al reportado por **Galina et al. (2004)** para una combinación de rastrojo y un suplemento promotor de la fermentación ruminal (SIUS), con 1,228 g/d, no así para la combinación de alfalfa y concentrado, que presentó un consumo bajo (988 g/d) en comparación con el T1, reportado en el experimento, este valor es mas parecido al consumo del T3 donde se combinó rastrojo y concentrado. Sin embargo consumos semejantes se observaron en el estudio realizado por **Corona et al. (1999)** donde adicionó *S. cerevisiae* y tampoco observó diferencias entre los grupos Control, Yea-Sacc y Levucell, (GC: 881, YS: 900, LC: 842).

Digestibilidad aparente *in vivo* y metabolismo del nitrógeno

La digestibilidad aparente *in vivo* del nitrógeno presentó diferencias significativas influenciado por el forraje base, los tratamientos con alfalfa (T1: 72.78a y T2: 74.59a) fueron mayores que los tratamientos con rastrojo de maíz (T3: 51.35b y T4: 57.66b) entre los tratamientos con el mismo forraje base, no se presentó diferencia significativa. El consumo de nitrógeno se vio influenciado por la naturaleza de los forrajes base en los tratamientos, siendo superior en aquellos donde se proporcionó alfalfa, no presentó variación por tratamientos en la excreción fecal y urinaria, sin embargo en la retención de nitrógeno, los tratamientos a base de rastrojo de maíz sí observaron diferencia estadística ($P < 0.05$) influenciada por el SULIBAL con valores de 2.2 g/d del T4, mayor que 0.8 g/d del T3, lo que repercute en una mejora significativa de la dieta; **Galina et al., (2008)** utilizando un ensilado enriquecido con bacterias acidolácticas (SL) y un suplemento nitrogenado de lento consumo (SNLC), no observaron diferencias en la digestibilidad aparente *in vivo* del nitrógeno entre tratamientos, pero sí observaron mayor retención de nitrógeno en los tratamientos experimentales (SL: 10.97 g/d y SNLC: 13.07 g/d) que en el tratamiento control de silo normal (SN) en el cual se obtuvieron 4.2 g/d. Estos resultados permitirían explicar el aumento en la digestibilidad observado en las observaciones del presente trabajo.

Degradabilidad de la Materia Seca (DMS)

La degradabilidad *in situ* de la materia seca se ve afectada con la adición del SULIBAL en la ración; se mejora la degradabilidad verdadera de la MS, T2: 83.7% > T1: 71.9 en tratamientos que incluyen alfalfa y T4: 76.8 > T3: 73.0 para los que contienen rastrojo, este comportamiento se puede adjudicar a la naturaleza de la ración, aunque como ya se ha discutido con anterioridad, la adición de bacterias y el proveer condiciones para que se desarrollen otras bacterias lactolíticas, que utilizan los carbohidratos de fácil fermentación, el NNP y la producción posterior de amoníaco, incrementan la degradabilidad, además esto se refuerza con la cantidad de AGV's producidos en los tratamientos a los que se les adicionó el SULIBAL. Similares resultados fueron reportados por **Corona et al.(1999)** en su estudio realizado con dos productos a base de levadura *S. cerevisiae*, Yea-Sec (YS) y Levucell (LC) (GC: 53.2, YS: 57.5, LC: 56.6). **Newbold et al. (1995)** Obtuvieron una desaparición de la materia seca *in vitro* a 48 horas de incubación, donde la presencia de *S. cerevisiae* derivó en una mayor digestibilidad que el control sobre las cepas de la National Collection of Yeast Cultures (**NCYC**) (C: 7.9 g, NCYC 240: 7.4 g, NCYC 694: 8.9 g, NCYC 1026: 8.1 g, NCYC 1088: 9.6 g, YS: 8.5 g) a excepción del NCYC 240 que observó una disminución (7.4 g). **Galina et al. (2004)** en un experimento similar, reportan para el rastrojo de maíz una desaparición de MS *in situ* de 53% a las 96 horas post incubación, siendo este un valor bajo en referencia al obtenido en el presente trabajo donde se observó una desaparición del 63 % de la MS, lo que puede indicar un mayor trabajo de bacterias celulolíticas.

Derivados de Purinas

La excreción diaria de los derivados de la purina se utilizó para estimar la proteína microbiana formada en el rumen, nuevamente se observa el efecto de la adición del SULIBAL (T2: 22.08 mmol/d y T4: 18.41 mmol/d) con una mayor aportación de nitrógeno microbiano (NM) en los dos tratamientos en los que fue utilizado. **Newbold et al. (1995)** utilizando dietas a base de forraje y concentrado adicionados con *S. cerevisiae* encontraron que el efecto no fue significativo entre el Grupo Control (GC) y los grupos de las cepas de la National Collection of Yeast Cultures (**NCYC**) y el grupo Yea-Sacc (YS) (GC: 7.26 mmol/d, NCYC 240: 8.94 mmol/d, NCYC 1026: 9.85 mmol/d, YS: 8.16 mmol/d), similares resultados cuando se utilizan bacterias lácticas han sido discutidos recientemente (**Ortíz et al., 2009; Galina et al., 2009**).

CONCLUSIÓN.

La adición del Suplemento Líquido de Bacterias Acidolácticas (SULIBAL) a los tratamientos repercutió positivamente en su aporte nutritivo, observándose un importante efecto en la fermentación microbiana de los forrajes en el rumen, se observó un comportamiento superior cuando se combinó con alfalfa que es un forraje altamente digestible.

Se puede concluir que el SULIBAL es una fuente importante de proteína cruda, que se puede utilizar como elemento mejorador de la dieta, sobre todo si esta es a base de forrajes toscos como el rastrojo de maíz, además incrementa el consumo, pues es palatable y funciona como aglutinante, lo que ocasiona que eleve el total de nitrógeno retenido, mejore la degradabilidad bacteriana del forraje, incrementando la producción de nitrógeno microbiano. Brinda condiciones óptimas para la proliferación de microorganismos ruminales que degradan la fibra de forrajes toscos, generando así una mayor cantidad de proteína microbiana pues mantiene los niveles aceptables de pH ruminal, no altera la producción de amoníaco ni la concentración de AGV's

LITERATURA CITADA.

Abas I., Kutay H. C., Kahraman R., Yasar N. T., Özcelik D., Ates F., Kacakci A. 2007. Effects of Organic Acid and Bacterial Direct-Feed Microbial on fattening performance of Kivircik-Male Yearling lambs. *Pakistan Journal of Nutrition* 6 (2): 149-154.

Akin D. E., Benner. R. 1988. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 1117-1125.

Anandan S., Dey A., Deb S. M. Sanjay Kumar, Harbola P.C. 1998. Effect of curds as probiotic supplement on performance of Cheghu crossbred kids. *Small Ruminant Research* 32 (1999): 93-96

Ángeles C. S. 1999. Desarrollo funcional del aparato digestivo en ovinos y su importancia en la producción. AMENA.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 23rd Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.: USA.

Araque C. 2001. La urea en la alimentación de los rumiantes. FONAIIP. Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado. Táchira, Venezuela.

Bateman J.V. 1970. *Nutrición Animal. Manual de Métodos Analíticos*. Ed. Herrero-Hernández. México: 60 pp.

Bernalier A., Fonty G., Bonnemoy F., Gouet P. 1992. Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Curr. Microbiol.*, 25: 143-148.

Birbe B. Herrera P. Colmenares O y Martínez N. 2006. EL CONSUMO COMO VARIABLE EN EL USO DE BLOQUES MULTINUTRICIONALES. X Seminario de Pastos y Forrajes.

Borneman W. S., Akin D. E. 1990. Lignocellulose degradation by rumen fungi and bacteria: ultrastructure and cell wall degrading enzymes. En: D. E. Akin, L. G. Ljungdahl, J. R. Wilson y P. J. Harris (Eds.). Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants. Elsevier, Nueva York. pp. 325-339.

Caja G., González E., Flores C., Carro M.D., Albanell E. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. Madrid, 23 y 24 de octubre de 2003 XIX curso de especialización FEDNA.

Calsamiglia S., Castillejos L., Busquet M. 2005. Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno lechero. Madrid, 7 y 8 de noviembre de 2005. XXI curso de especialización FEDNA.

Carrillo L. 2003. Microbiología Agrícola 1. Ed. Salta: UNSA, v.1. p. Cap. 5.

Chaucheyras F. D. y Fonty G. 2002. Influence of probiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) on microbial colonization and fermentations in the rumen of newborn lambs. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2002; 14: 30-36.

Chen, B. X. 1995. *Neway Excel*. Rowett Institute, Aberdeen, Escocia.

Chen X. B. y Gomes M. J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. An overview of the technical details. International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen. AB2 9SB, UK.

Chesson A., Forsberg C.W. 1997. The Rumen Microbial Ecosystem. 2^o ed. Hobson P. y Stewart C. (eds.). Chapman & Hall Ltd, Andover, UK.

Chiofalo V., Liotta L., Chiofalo B. 2004. Effects of the administration of *Lactobacilli* on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. INRA, EDP Sciences. *Reprod. Nutr. Dev.* 44 (2004) 449–457 449

Corona L., Mendoza G.D., Castrejón F.A., Crosby, M.M., Cobos, M.A. 1999. Evaluation of two yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion en sheep fed a corn stover diet. *Small Ruminant Research* 31 (1999) 209-214.

Counotte G. H., Prins R. A., Janssen R.A.M., De Bie M.J.A. 1981. Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL[2-13C] lactate in the rumen of dairy cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 42:649

Cunningham J. G., 1999. *Fisiología Veterinaria*. Capítulo 30; Digestión: Procesos Fermentativos. 2a edición. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V., pp 375.

Czerkawski J. W., Cheng K. J. 1988. Compartmentation in the rumen. p. 361-385. En: P. N. Hobson (Ed.). *The rumen microbial ecosystem* . Elsevier Applied Science, Nueva York.

Dawson K. 1989. Effects of Microbial Supplements Containing Yeast and *Lactobacilli* on Roughage-Fed Ruminant Microbial Activities. University of Kentucky. Lexington.

Dehority B. A. 1993. Microbial ecology of cell wall fermentation. En: H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield y J. Ralph (Eds.). *Forage cell wall structure and digestibility* . ASA-CSSA-SSSA, Madison. pp. 425-453.

Delgadillo P. C. 1998. Mejoramiento de un sistema de alimentación parcialmente biosostenible en cabras bajo Pastoreo Racional Técnico Móvil. Tesis de Maestría. Posgrado Inter-insitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima.

Delgadillo P. C. 2001. Efecto de la complementación alimenticia de gramíneas tropicales con un alimento complejo catalítico sobre las variables de fermentación ruminal en bovinos y ovinos. Tesis de Doctorado. Posgrado Interinsitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima.

De Lucas T.J. Arbiza A.S. 2000. Producción ovina en el Mundo y México. Editores Mexicanos Unidos, s.a. México.

De Lucas T.J. Arbiza A.S. 2004. Situación y Perspectivas de la Producción de Carne Ovina en México. Memorias, Curso sobre Carne Ovina, noviembre 2004.

Elam N. A., Gleghorn J. F., Rivera J. D., Galyean M. L., Defoor P. J., Brashears M.M., Younts-Dahl S.M. 2003. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains NP45 and NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain O157 shedding of finishing beef steers. J. Anim. Sci. 81:2686–2698

Elías A. 1983. Digestión de pastos y forrajes. Capítulo IV 187-246 En Los pastos en Cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba: 675 pp

Evers G.W., Greene W., Carey J.B., Doctorian D.S. 1996. Feeding broiler litter to beef cattle. Texas Agricultural Experiment Station.

Farnworth E.R. 2001. Probiotics and prebiotics. En Handbook of Nutraceutical and functional foods [RE Wildman] Ed. CRC Press. Cap. 25: 407 – 422.

Fazaeli H., Tokasi M.V. 2003. Effect of urea-whey treatment on the chemical composition and digestibility of wheat straw. Animal Science Research Institute, P.O. Box 1483, 31585 Karaj, I.R.Iran

Fondevila M. 1998. Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 1998, 15: 87-106

Fonty G., Jobblin K. N. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. pp. 655-679. In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima (eds.). Academic Press, San Diego.

Fuller R. 1999. Probiotics for farm animals. In: G. W. Tannock (ed.) Probiotics: A Critical Review. p 15. Horizon Scientific Press, Wymondham, England.

Galina M. A., Guerrero C. M., Serrano G., Morlaes R., Haenlein G. 2000. Effect of complex catalytic supplementation with non protein nitrogen on ruminal ecosystem of growing goats pasturing shrub land in Mexico. Small Rum. Res. (36):33-42

Galina M., F. Perez-Gil F., Hummel J.D., Ortiz R.M.A., Ørskov E.R. 2003. Effect of slow intake urea supplementation on fattening of steers feed sugar cane tops (*Saccharum officinarum*) and maize (*Zea mays*) with or without SIUS. Ruminal fermentation, feed intake and digestibility. Lives Prod Sci. 83 (1): 1-11

Galina M.A., Hummel J.D., Sánchez M., Haenlein G.F.W. 2004. Fattening Rambouillet lambs whit corn stubble or alfalfa, slow intake urea supplementation or balanced concentrate. Small Ruminant Research 53: 89-98

Galina M.A., Guerrero M., Puga D.C. 2004 (a). Economical and Sociological development through management of fibrous forages. South African J. of Anim. Sci Vol 35 (Supplement 1): 15-17

Galina M. A., Guerrero M., Puga D. C. 2007. Fattening Pelibuey lambs with sugar cane tops and corn complemented with or without Slow Intake Urea Supplement. *Small Rum Res.*70:101-109.

Galina M. A., Ortiz-Rubio M. A., Delgado-Pertinéz M. y Pineda, L. J. 2007(a). Effect of a lactic probiotic supplementation on goat kids growth. 12th Seminar of the Sub-network FAO-CIHEAM on Sheep and Goat Nutrition. October 11-13, 2007 Thessaloniki (Greece).

Galina M. A., Ortiz-Rubio, M. A., Guerrero, M., Mondragón, D. F., Franco, N. J. y Elías, A. 2008. Efecto de un ensilado de maíz solo o inoculado con un probiótico láctico y adicionado con un suplemento nitrogenado de lento consumo en ovinos. *AVANCES EN INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA.* 12(2): 23-34.

Galina M., Chavez V.J., Pineda L.J., Hummel J.D., Ortiz M. y Delgado-Pertinéz, M. 2009. Effect of *Lactobacilli* probiotic supplementation on blood glucose, insulin and NEFA performance of dairy cattle during late pregnancy and early lactation. *Ruminant Physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare.* Wageningen Academic Publisher. The Netherlands: 512-513

Ghorbani G.R., Morgavi D.P. Beauchemin K.A., Leedle J.A.Z. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2002. 80: 1977-1986.

Grenet E., Breton A., Barry P., Fonty P. 1989. Rumen anaerobic fungi and plant substrates colonization as affected by diet composition. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 26: 55-70.

Gorgulu M., Siuta A., Yurtseven S., Ángel E., Kutlu H.R. 2003. Effect of probiotics on growing performance and health of calves. Cuban Journal of Agriculture Science. 37 (2): 125-129.

Havenaar R., Huisin't Veld, J. H. S. 1992. En: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. Vol. 1. B.J.D. Wood (ed.), Elsevier, New York

Hébraud M., M. Fèvre. 1988. Characterization of glycosides and polysaccharide hydrolases secreted by the rumen anaerobic fungi *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas comunis* and *Piromyces comunis*. J. Gen. Microbiol. , 134: 1123-1129.

Jarrige R. 1981. Ingestión y Digestión de los alimentos. En: Alimentación de los rumiantes. 29-53. INRA. Ed Mundi-Prensa. Madrid. España.

Jouany J. P., Ushida K. 1994. Plant cell-wall degradation by rumen protozoa. En: Microorganisms in ruminant nutrition. R.A. Prins y C.S. Stewart (eds.), Nottingham University Press, Nottingham. pp. 69-78.

Jouany J.P. 2006. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. Animal Reproduction Science. 96 : 250-264

Kamra D.N. 2005. Rumen Microbial Ecosistem. Special Section: Microbial Diversity. Current Science, Vol. 89, No 1, India Julio 2005.

Kumagai H., Kumagae S., Mitani K., Endo T. 2004. Effects of supplementary probiotics on dry matter intake, daily gain, digestibility, ruminal pH, faecal microbial populations and metabolites of two different diets of ewes. Journal Animal Science. 75 (3) 219-224.

Kung L. 2001. Direct Fed Microbials and Enzymes for Dairy Cows. Department of Animal & Food Sciences. University of Delaware.

Kung L. Jr., Kreck E. M., Tung R. S., Hession A. O., Sheperd A. C., Cohen M. A., Swain H. E., Leedle J.A.Z. 1996. Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. J. Dairy Sci. 80:2045-2051

Kung L. Jr., Hession A. O. 1995. Preventing in vitro lactate accumulation in ruminal fermentations by inoculation with *Megasphaera elsdenii*. J. Anim. Sci. 73:250–256.

Leng R.A. 1990. Factors affecting the utilization of “poor quality” forages by ruminant animals particularly under tropical conditions. Nutritional Research Reviews 3:277-303.

Leng R. T., Preston R., Sansoucy, Kunju G. 1991. Multinutrient blocks as a strategic supplement for ruminants. World Animal Review. 62 (2): 11-19.

Lumbbadeh W., Haddadin M.S., Al Tamimi M.A, Robinson R.K. 1999. Effect on the cholesterol content of fresh lamb of supplementing the feed of awassi ewes and lambs with *Lactobacillus acidophilus*. Meat Science 52(4) 381-385.

Maynard L. A., Loosli K.J., Hintz H.F., Warner R.G. 1981. Nutrición Animal. Capítulo 3: Procesos digestivos en diferentes especies animales. Pp. 22-48. Séptima edición. McGraw-Hill Book Co.,U.S.A.

Morales A. R. 2000. Evaluación del comportamiento productivo y desarrollo tecnológico de tres modos de producción. Tesis de Doctorado PICP. Universidad de Colima, México 215 pp.

Mwenya, B., Santoso, B., Sar, G., Gamo T., Kobayashi, I., Arai, I., Takashashi J. 2004. Effects of including β 1-4 galacta-oligosaccharides, lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. *Anim. Feed Science and Technology* 115:313-326

Newbold C.J., Wallace R.J., Chen X.B., McIntosh F.M. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811±1818.

Nisbet D. J., y Martin S.A. 1990. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:3515-3518.

Nisbet D.J. y Martin S.A. 1991. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Journal. Animal. Sci.*, 69, 4628-4633

Nocek J.E., Kautz W.P., Leedle J.A.Z., Allman J.G. 2000. Altering diurnal pH and in situ digestion in dairy cows with ruminal supplementation of direct-fed microbials and yeast. *J. Dairy Sci.*

Nocek J.E., Kautz W.P., Leedle J.A.Z., Allman J.G. 2002. Ruminal Supplementation of Direct-Fed Microbials on Diurnal pH Variation and In Situ digestion in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 85:429-433.

Nocek J.E., Kautz W.P., Leedle J.A.Z., Block E. 2003. Direct-Fed Microbials Supplementation of the Performance of Dairy Cattle During the Transition Period. *J. Dairy Sci.* 86:331-335.

Obispo N. 2005. El uso de las fuentes de nitrógeno no proteico en rumiantes. Revista Digital CENIAP HOY Número 8, mayo-agosto 2005. Maracay, Aragua, Venezuela.

Orpin C. G. 1983. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Animal Feed Science Technology*, 10:121-143.

Ørskov E.R., Hovell, F., Mould F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de alimentos (use of the nylon bag to evaluate feeds). *Prod. Anim. Trop.* 5:213-233

Ortiz H. A. 1999. Situación actual de la producción de ovinos en México. AMENA.

Ortiz-Rubio, M. A.; Ørskov, E. R.; Milne, J. Galina, H. M. A. 2007. Effect of different sources of nitrogen on in situ degradability and feed intake of Zebu cattle fed sugarcane tops (*Saccharum officinarum*). *Anim. Feed Sci. Technol.* 4-5:143-158.

Ortíz M.A., Galina M.A. y Pineda, J.L. 2009. Effect of a slow nitrogen intake supplementation with or without a lactic probiotic in pelibuey lamb growth. *Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats. Options Méditerranéennes. Serie A No 85: 309-314*

Owens F. N., Secrist D. S., Hill W. J. y Gill D. R. 1998. Acidosis in cattle: A Review. *J. Anim. Sci.* 76: 275-286.

Pedraza O. R. M. 2001. Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas in sacco y de producción de gas in vitro. Artículo reseña. *Rev. Prod. Anim.* Vol 13. No 1.

Pell A., Schofield P. 1993. Microbial adhesion and degradation of plant cell walls. En: Forage cell wall structure and digestibility. H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield y J. Ralph (Eds.). ASA-CSSA-SSSA, Madison. pp. 397-423.

Preston T.R. 1977. A strategy for cattle productions in the tropics. World Animal review. 21:11-17.

Preston T.R. 1989. Perspectivas para el uso de la melaza en la alimentación animal. En: La melaza como recurso alimenticio para la producción animal (Editor: T R Preston). GEPLACEA/PNUD. Serie Diversificación.

Preston T.R., Leng R. 1989. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles. Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. 1ª Edición en español. Consultorías para el desarrollo rural integrado en el Trópico (CONDRIT). Cali. Colombia.

Puga D.C., Galina M.A. 2004. Ecological use of fibrous forage with solar mobile fence grazing South African J. of Anim. Sci Vol 34 (Supplement 1):131-133.

Raeth-Knight M. L., Linn J. G. y Jung H. G. 2007. Effect of Direct-Fed Microbials on Performance, Diet Digestibility, and Rumen Characteristics of Holstein Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90:1802–1809.

Robleto L.A. Guerrero A.D. y Fariñas T. 1992. Comparación de dos niveles de urea en bloque de melaza sobre la ganancia de peso en borregos criollos. Livestock Research for Rural Development. Vol. 4, Num: 1, Julio 1992.

SAGARPA. 2000. SIAP. Estadísticas ganaderas. Estimación de consumo nacional aparente. <http://ganaderia.sagarpa.gob.mx/Dgg/CNAcap.htm>

SAGARPA. 2005. Estadísticas ganaderas. Estimación de consumo nacional aparente. <http://ganaderia.sagarpa.gob.mx/Dgg/CNAcap.htm>

SAS, Institute Inc. 2005. Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics. Version 9.1. Edition. Cary, North Carolina. USA.320 pp

Sansoucy R., Aarts, G. y Leng, R.A. 1986. Molasses-urea blocks as multivitamin supplements for ruminants. En: FAO Expert Consultation on Sugarcane as Feed (Editores: R. Sansoucy, G. Aarts, y T.R. Preston) FAO, Roma.

Santini F. J., Elizalde I. C. 1994. Digestión ruminal aspectos conceptuales e implicancias practicas en la suplementación de vacunos, cuaderno de actualización técnica 53:10-16.

Thivend P. 2001. Use of whey in feeding ruminants with particular reference to pollution problems. Ruminant Production Research Station, Animal Production and Health Research Centre (Institute National de la Recherche Agronomique), Theix -63110 Beaumont, France.

Toullec R., Mathieu C.M., Pion R. 1974 Utilisation des protéines du lactosérum par le veau préruminant à l'engrais. Digestibilité et utilisation pour la croissance. Ann. Zootech., 23(1): 75–87.

Vargas-Villamil L., Ku-Vera J., Vargas-Villamil F. y Medina-Peralta S. 2004. Modelo para la estimación de tres parámetros ruminales biológicos. INTERCIENCIA. Vol. 29. No 6 : 296-302.

Van Eys J., Den Hartog L. 2003. En: International One-Day Seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers. Lelystad.

Vinderola C. G., Prosello W., Ghiberto D., Reinheimer J. A.. 2000. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in Argentinian fresco cheese. J. Dairy Sci. 83:1905–1911.

Wallace R. J. 1994. Ruminant Microbiology, Biotechnology, and Ruminant Nutrition: Progress and Problems. J. Anim. Sci. 72: 2992-3003

Weimer P. J. 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster? J. Dairy Sci., 79: 1496 - 1502.

Yang W. Z., Beauchemin K. A., Vedres D. D. 2002. Effects of pH and fibrolytic enzymes on digestibility, bacterial protein synthesis, and fermentation in continuous culture. Anim. Feed Sci. Technol. 102: 137–150.