

Universidad Autónoma de Chihuahua
Facultad de Zootecnia y Ecología
Secretaría de Investigación y Posgrado



EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON *Candida norvegensis* SOBRE EL
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CORDEROS, LA DEGRADACIÓN *in*
situ Y EL VALOR NUTRITIVO DE FORRAJES FIBROSOS

POR:

M. C. JESÚS LÓPEZ MORONES

Disertación presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Doctor in Philosophia

Área Mayor: Nutrición Animal

Chihuahua, Chih., México

Marzo de 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Efecto del tratamiento con *Candida norvegensis* sobre el comportamiento productivo de corderos, la degradación *in situ* y el valor nutritivo de forrajes fibrosos. Disertación presentada por Jesús López Morones como requisito parcial para obtener el grado de Doctor in Philosophia, ha sido aprobada y aceptada por:

Ph. D. Carlos Ortega Ochoa
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo
Secretaría de Investigación y Posgrado

D. Ph. Agustín Corral Luna
Coordinador Académico de Posgrado

Ph. D. Oscar Ruíz Barrera
Presidente

23-Marzo-2017

Fecha

Comité:

Ph. D. Oscar Ruíz Barrera
D. Ph. Agustín Corral Luna
D. Ph. María Eduvigis Burrola Barraza
Dr. Juan Ángel Ortega Gutiérrez
Ph. D. Lorenzo Antonio Durán Melendez

© Derechos Reservados
JESÚS LÓPEZ MORONES
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO FRANCISCO
R. ALMADA KM. 1, CHIHUAHUA,
CHIH., MÉXICO C.P. 31453

MARZO 2017

AGRADECIMIENTOS

Esta disertación representa toda una nueva travesía de aprendizaje por la cual hay que agradecer a las personas cuya cooperación permitió la realización de dicho trabajo.

Primeramente a Dios por ser el eterno autor de todas las cosas y por disponer de los medios y bendiciones para que este logro sucediera.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua por permitirme integrarme como parte de la Facultad y darme la oportunidad de realizar el doctorado.

A mis profesores, que aportaron sus conocimientos y experiencia en las diversas áreas de aprendizaje.

Al Ph. D. Oscar Ruíz Barrera, a Yami, a Claudio, al personal del Laboratorio de Nutrición Animal y a mi comité por su apoyo en la realización de esta disertación.

A mis padres, les agradezco su apoyo, su guía y su confianza incondicional.

A mis demás familiares y amigos por compartir este caminar con su apoyo y compañía.

Al personal de las unidades pecuarias de la facultad de Zootecnia y Ecología por todo su apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la federación por su importante contribución con el apoyo económico que me fue otorgado por ellos.

DEDICATORIA

A mis padres

López López Jesús y Morones Armendáriz Teresa por todo el apoyo y el amor que me han brindado durante los diversos andares de la vida.

A los miembros de la Facultad de Zootecnia y Ecología

A Ph. D. Oscar Ruíz, a Dr. Juan Ángel Ortega Gutiérrez, a D. Ph. Agustín Corral Luna, a D. Ph. María Eduviges Burrola Barraza, a D. Ph Yamicela Castillo Castillo, a Dr. Felipe A. Rodriguez Almeida, a Ph. D. Lorenzo Antonio Durán Melendez, a Sofi y al resto del personal del laboratorio, la unidad de ovinos y laboratorio de alimentos balanceados de la Facultad de Zootecnia y Ecología por toda su ayuda, atención, apoyo, comprensión para dedicarme el tiempo necesario, explicarme y resolver todas mis dudas.

A mis familiares

Por brindarme su compañía, cariño y experiencias.

A mis amigos

Por brindarme su alegría y compartir conmigo muchas cosas durante esta etapa de mi vida.

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 20 de Agosto de 1983 en Chihuahua, Chih. México.

2003-2008	Licenciatura en Ingeniero Zootecnista en Sistemas de Producción en la Facultad de Zootecnia y Ecología en la Universidad Autónoma de Chihuahua.
2009-2011	Maestría en Nutrición Animal en la facultad de Zootecnia y Ecología.
2012-2016	Estudiante de Doctorado en Nutrición Animal en la Facultad de Zootecnia y Ecología.

RESUMEN GENERAL

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON *Candida norvegensis* SOBRE EL
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CORDEROS, LA DEGRADACIÓN *in*
situ Y EL VALOR NUTRITIVO DE FORRAJES FIBROSOS

POR:

M. C. JESÚS LÓPEZ MORONES

Doctor in Philosophia

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D. Oscar Ruíz Barrera

Para evaluar los efectos del probiótico de *C. norvegensis* sobre la digestibilidad *In situ* de la materia seca (DISMS) y el desarrollo de ovinos se llevaron a cabo dos experimentos. El primero consistió en medir el efecto de la levadura *C. norvegensis* sobre la DISMS, el contenido de amoníaco y ácido láctico en el rumen de vacas fistuladas ruminalmente, alimentadas con una dieta basal de alfalfa y rastrojo de maíz (50:50) durante dos periodos: en el experimento 1, las vacas recibieron la ración sin probiótico (T1) mientras que en el 2, se suplementó con 15 mL/kg de peso vivo (PV) de probiótico (T2). Fue utilizado un diseño experimental de switchback. Así la degradabilidad potencial (p) y la degradación efectiva ruminal (DE) de MS, FDN y FDA fue más alta en T2 mientras que la PC fue superior en T1 ($P \leq 0.05$). En el experimento dos se realizó

una prueba de comportamiento con 32 ovinos en crecimiento, alimentados con cuatro dietas (concentrado: forraje): T1=75:25, T2=50:50, T3=25:75 y T4=75:25. A excepción del T1, el resto fueron inoculados con probiótico en el alimento (15 ml/kg de PV). Se empleó un diseño experimental de bloques al azar. La prueba duró 105 d, Los animales se pesaron cada 15 d. La GDP fue mayor en T4, que además presentó el menor valor de CA ($P \leq 0.05$). En el consumo de materia seca (CMS) los T1 (control) y T4 resultaron ser los más destacados, además no mostraron diferencia significativa. Así el probiótico de *C. norvegensis* mostró efectos benéficos en digestibilidad ruminal *in situ* de fibra. Además contribuyó con el desarrollo de corderos como lo muestran la GDP y la CA.

ABSTRACT

EFFECTS OF *C. norvegensis* TREATMENT ON PRODUCTIVE PERFORMANCE OF LAMBS, *in situ* DEGRADATION AND NUTRITIVE VALUE OF FIBROUS FORAGES

BY:

JESUS LOPEZ MORONES

To assess the effects of probiotic *C. norvegensis* on *in situ* digestibility of dry matter (DISMS) and the development of sheep were carried out two experiments. The first was to measure the effect of the yeast *C. norvegensis* on DISMS and content of ammonia and lactic acid in the rumen of cows fistulated ruminally and fed a basal diet of alfalfa and corn stover (50:50) for two periods: in experiment 1, cows received the ration without *C. norvegensis* (T1) and 2, supplemented with 15 mL / kg of body weight (BW) of probiotic (T2). A switchback experimental design was used. So the potential degradability (p) and the effective ruminal degradation (ERD) of neutral detergent fiber (NDF) and fiber detergent fiber (ADF) was higher in T2 while the crude protein (CP) was higher in T1 ($P \leq 0.05$). In experiment two, a productive performance was carried out with 32 growing lambs, fed four diets (concentrate: roughage): T1 = 75%: 25%, T2 = 50: 50, T3 = 25: 75 and T4 = 75: 25. Except for T1, the rest were inoculated with the probiotic in food (15 ml / kg BW). An experimental randomized block design was used. Animals were weighed every 15 d for 105 d. The average daily gain (ADG) was higher in T4 high also has the lowest value of CA ($P \leq 0.05$). In the dry matter

intake (DMI) T1 and T4 were the most prominent and showed no difference. Thus the probiotic *C. norvegensis* showed beneficial effects on ruminal fiber digestibility in situ. Also *C. norvegensis* contributed to the development of lambs as shown by the ADG and FC.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN GENERAL.....	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xiv
LISTA DE GRÁFICAS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xvii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Probióticos.....	3
Microorganismos utilizados como probióticos.....	3
Obtención de los probióticos.....	3
Levadura <i>Candida norvegensis</i> Cepa 15.....	5
Antecedentes del Género <i>Candida</i> en la Alimentación de Rumiantes.....	6
Efectos de los Probióticos en el Ambiente Ruminal.....	6
Probióticos en el Comportamiento Productivo de Rumiantes.....	9
LITERATURA CITADA.....	11
ESTUDIO I. DEGRADABILIDAD RUMINAL <i>In situ</i> , ACIDO LÁCTICO Y AMONIACO DE RASTROJO DE MAÍZ EN BOVINOS PRODUCTORES	

DE CARNE ALIMENTADOS CON DIETAS INOCULADAS CON <i>candida norvegensis</i>	16
RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	19
INTRODUCCIÓN.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Descripción del Área de Estudio.....	22
Animales y Descripción de los Tratamientos.....	22
Técnica de Degradabilidad <i>In situ</i>	23
Análisis Químicos.....	23
Análisis Estadístico.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
Degradabilidad <i>In situ</i> de la Materia Seca (DISMS).....	27
Degradabilidad <i>In situ</i> de la Proteína Cruda (DISPC).....	31
Degradabilidad <i>In situ</i> de la Fibra Detergente Neutra (DISFDN) y la Fibra Detergente Ácido (DISFDA).....	34
Contenido Ruminal de Amoniaco (CRAMO).....	36
Contenido Ruminal de Ácido Láctico (AL).....	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
LITERATURA CITADA.....	47

ESTUDIO II. COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CONSUMO DE NUTRIENTES EN BORREGOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES DIETAS INOCULADAS CON <i>Candida norvegensis</i>	52
RESUMEN.....	53
ABSTRACT.....	55
INTRODUCCIÓN.....	56
MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
Descripción del Área de Estudio.....	58
Unidades Experimentales.....	58
Tratamientos y Dietas de los Ovinos.....	58
Procedimiento Experimental.....	59
Análisis Estadístico.....	62
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	64
Ganancia Diaria de Peso (GDP).....	64
Conversión Alimenticia (CA).....	68
Consumo de Materia Seca (CMS).....	70
Fibra Detergente Neutra y Acida Consumidas (FDNC y FDAC).....	72
Proteína Cruda Consumida (PCC).....	75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	78
LITERATURA CITADA.....	80

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Ejemplos de microorganismos usados como probióticos...	4
2	Composición química del rastrojo de maíz.....	24
3	Parámetros de degradabilidad ruminal <i>In situ</i> de la materia seca por tratamiento.....	28
4	Parámetros de degradabilidad ruminal <i>In situ</i> de proteína cruda por tratamiento.....	32
5	Parámetros de degradabilidad ruminal <i>In situ</i> de la fibra detergente neutro por tratamiento.....	37
6	Parámetros de degradabilidad ruminal <i>In situ</i> de la fibra detergente ácido por tratamiento.....	38
7	Composición por ingrediente de las raciones experimentales de la prueba de comportamiento.....	60
8	Composición química de las raciones experimentales de la prueba de comportamiento.....	61
9	Efecto de la levadura sobre los valores promedio de ganancia diaria de peso, eficiencia de conversión alimenticia y consumo de materia seca, proteína cruda, FDN y FDA (base seca) de las cuatro raciones experimentales.....	65

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Degradabilidad <i>In situ</i> de materia seca en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.....	30
2	Degradabilidad <i>In situ</i> de la PC en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.....	33
3	Degradabilidad <i>In situ</i> de FDN en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.....	39
4	Degradabilidad <i>In situ</i> de FDA en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.....	40
5	Comportamiento del AMO en las muestras de líquido ruminal a través de las horas del experimento.....	42
6	Comportamiento del AL en las muestras de líquido ruminal a través de las horas del experimento.....	44
7	Efecto de la levadura sobre los valores de ganancia diaria de peso en las cuatro dietas experimentales.....	66
8	Efecto de la levadura sobre los valores de peso vivo en las cuatro raciones experimentales.....	67
9	Efecto de la levadura en la conversión alimenticia en las cuatro raciones experimentales.....	69
10	Consumo de materia seca de los ovinos en las cuatro raciones experimentales.....	71
11	Consumo de FDN de los ovinos en las cuatro raciones experimentales.....	73

12	Consumo de FDA de los ovinos en las cuatro raciones experimentales.....	74
13	Consumo de PC de los ovinos en las cuatro raciones experimentales.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

a	Fracción soluble
AGV's	Ácidos grasos volátiles
AL	Ácido láctico
AMO	Amoniaco
b	Fracción degradable
B. S.	Base seca
CA	Conversión alimenticia
CT	Consumo total
CMS	Consumo de materia seca
DIS	Degradabilidad <i>In situ</i>
DISFDA	Degradabilidad <i>In situ</i> de la fibra detergente ácido
DISFDN	Degradabilidad <i>In situ</i> de la fibra detergente neutro
DISMS	Degradabilidad <i>In situ</i> de la materia seca
d	Días
EE	Extracto etéreo
E. E.	Error estándar
FD	Fracción digestible
FDA	Fibra detergente ácido
FDN	Fibra detergente neutro
FDAC	Fibra detergente ácido consumida

FDNC	Fibra detergente neutro consumida
Fi	Fracción indigestible
g/kg	Gramos por kilogramo
g/día	Gramos por día
GDP	Ganancia diaria de peso
h	Horas
Kilos/1kgA	Kilos por un kilogramo de alimento
Kg/día	Kilogramos por día
lag	Período lag
µg/ml	Microgramos por mililitros
ml/kg	Mililitros por kilogramo
µm	Micrómetros
Mm/ml	Milimoles por mililitro
MO	Materia orgánica
MS	Materia seca
MSNM	Metros sobre el nivel del mar
PC	Proteína cruda
PCC	Proteína cruda consumida
PF	Peso final
pH	Potencial de hidrógeno
PI	Peso inicial

T1	Tratamiento uno
T2	Tratamiento dos
T3	Tratamiento tres
T4	Tratamiento cuatro
V.P.	Valor de P

INTRODUCCIÓN GENERAL

El desarrollo y mantenimiento de los animales es influenciado por su capacidad de asimilación de nutrientes. Debido a esto las funciones digestivas de los rumiantes juegan un papel fundamental en las variables de comportamiento en la producción ganadera (Müller *et al.*, 2015).

De acuerdo con Kannan *et al.* (2014) las continuas prohibiciones con aditivos como los antibióticos, el costo elevado de insumos como el maíz (Leibtag, 2008) y la escasez de zonas de pastoreo (Tamburello *et al.*, 2014), han promovido la búsqueda de opciones que permitan disminuir costos de producción sin afectar la salud de animales y humanos. Una alternativa viable es el uso de aditivos tales como los probióticos, que poseen la capacidad de mejorar las funciones de los microorganismos ruminales, contribuyendo a reducir la inversión en el concepto de alimentación en las explotaciones de ovinos, caprinos y bovino, mediante la utilización de ingredientes baratos. Por lo tanto una mejora en la funcionalidad del tracto digestivo de los rumiantes y pre rumiantes, que favorezcan el ambiente ruminal para el desarrollo de microorganismos benéficos como las bacterias y hongos celulolíticos, podría convertirse además en beneficios posteriores como un mejor grado de conversión alimenticia y mayor ganancia diaria de peso, que se reflejaría en importantes ahorros de índole alimenticia (Abdel-Aziz *et al.*, 2015; Gadekar *et al.*, 2015; Puniya *et al.*, 2015). Sin embargo existen pocos estudios en relación al uso de cepas de levaduras diferentes a las *Saccharomyces* que promuevan mejoras ruminales y hagan más

eficaz la producción animal, ya que se debe investigar sobre otras alternativas más económicas. Marrero *et al.* (2014) mostraron que *Candida tropicalis* tiene potencial para ser usada como aditivo en animales que consumen dietas fibrosas. Otro microorganismo que anteriormente ha demostrado en estudios *in vitro* tener atributos que pueden estabilizar las condiciones en el interior del rumen y favorecer el desarrollo de flora nativa capaz de desdoblar incluso las fracciones menos digestibles de la fibra, es la *Candida norvegensis* cepa 15 (Castillo-Castillo *et al.*, 2016; Ruíz *et al.*, 2016). De acuerdo a lo anterior los objetivos del estudio fueron: 1) Evaluar los efectos del probiótico a base de *Candida norvegensis* en la cinética de fermentación ruminal *In situ* de forrajes de rastrojo de maíz, con la finalidad de probar la hipótesis que asevera un incremento en la capacidad de digestión de fibra por parte del rumen, pudiendo así dilucidar si los rumiantes pueden aprovechar forrajes de baja calidad nutritiva mediante el uso de dicho aditivo. 2) Evaluar los efectos de dicho probiótico en el desarrollo de ovinos mestizos en crecimiento alimentados con cuatro diferentes dietas, una de ellas rica en concentrado, pero ausente de probiótico, para poner a prueba la hipótesis que sostiene que el aditivo de *Candida norvegensis*, al incrementar las funciones digestivas de los rumiantes, principalmente en el aprovechamiento de fibras, puede permitir a dichos animales alimentarse y desarrollarse adecuadamente con ingredientes de baja calidad nutritiva, contribuyendo así a reducir costos de alimentación.

REVISIÓN DE LITERATURA

Probióticos

El concepto de probiótico fue introducido por primera vez por Lilly y Stillwell (1965), que lo definieron como un factor de origen microbiológico que estimula el desarrollo de otros microorganismos. Fuller (1989) definió a los probióticos como un suplemento alimenticio con microorganismos vivos que afectan benéficamente al huésped animal mejorando su equilibrio microbiano intestinal. Sin embargo una propuesta más acertada fue expuesta por F.A.O. (2006), los probióticos son organismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas proporcionan o generan efectos benéficos a la salud del animal.

Microorganismos utilizados como probióticos. Existen diversos tipos de cepas benéficas que según Rosmini *et al.* (2004), pueden ser bacterias y hongos (Cuadro 1). Su selección para incluirse en la dieta de alguna especie animal está ligada al tipo de explotación en el que se va a emplear. Como ejemplo, en animales monogástricos es muy frecuente utilizar bacterias lácticas cuyos efectos muestran benéficos en la regulación de la microbiota intestinal entre otros beneficios, sin embargo en rumiantes que son capaces de producir grandes cantidades de lactato en el retículo-rumen, se trata de incluir microorganismos que utilicen ácido láctico para producir otros compuestos y así ayudar a regular el pH ruminal (Caja *et al.*, 2003).

Obtención de los probióticos. La selección de los cultivos microbianos benéficos debe de ir en función del hospedero en el que se van a emplear, para

Cuadro 1. Ejemplos de microorganismos usados como probióticos

Microorganismos	Género	Especies
Bacterias lácticas no esporuladas (¹ G+)	Lactobacilos (<i>Lactobacillus</i>)	L. acidophilus
	Bífidobacterias (<i>Bifidobacterium</i>)	B. bifidum
	Estreptococos (<i>Streptococcus</i>)	S. lactis
	Enterococos (<i>Enterococcus</i>)	E. faecium
	Lactococos (<i>Lactococcus</i>)	L. lactis
	Pediococos (<i>Pediococcus</i>)	P. acidilactici
	Leuconostoc (<i>Leuconostoc</i>)	L. mesenteroides
Bacterias lácticas esporuladas (¹ G+)	Sporolactobacilos (<i>Sporolactobacillus</i>)	S. inulinus
Bacterias no lácticas esporuladas	Bacilos (<i>Bacillus</i>)	B. subtilis
	Bacterias propiónicas (<i>Propionibacterium</i>)	P. freudenreichii
Hongos	Sacaromicetos (<i>Saccharomyces</i>)	S. serevisiae
	Aspergilos (<i>Aspergillus</i>)	A. niger

¹G+= Bacterias gran positivas
Caja *et al.*, 2003.

ello se debe tener conocimiento previo de cómo dichos microorganismos interactúan con el huésped, pudiéndose evitar efectos nocivos (Duwat *et al.*, 2000). Vargas *et al.* (2004a) y Vargas *et al.* (2004b) emplearon el método de cultivo por aislamiento de Lactobacilos y Bifidobacterias utilizando agares, Rogosa (Rogosa *et al.*, 1951); otros autores trabajaron sobre producción de microorganismos encapsulados, con los métodos de micro encapsulación (Zhang *et al.*, 2015).

Levadura *Candida norvegensis* Cepa 15

Las levaduras del género *Cándida* son caracterizadas por tener tamaños de 2 a 4 μm , formas de globo, cilíndricas alargadas, raramente puntiagudas. Se reproducen por medio de yemas y pueden presentar pseudomicelos desarrollados o ausentes, crece en baja presencia de oxígeno, sus colonias son de color blanco o crema, lisas y de forma ovoide, no producen pseudohifas ni cápsulas, son negativas a la hidrólisis de urea (Legrato, 2004), crecen a 37 °C y fermentan principalmente glucosa y no requiere sodio para su desarrollo (Angulo-Montoya, 2010). La cepa *C. norvegensis* fue aislada, seleccionada e identificada por Castillo-Castillo *et al.* (2015) en subproductos de la industria manzanera, además de observar que dichos microorganismo tienden a disminuir en el ambiente ruminal la concentración de nitrógeno amoniacal, ácido láctico, así como la producción de gas metano, estabilizando el ambiente ruminal con pH que rondan el valor neutro, lo que favorece el desarrollo de microorganismos

degradadores de carbohidratos estructurales, que a su vez producen proteínas y ácidos grasos volátiles.

Antecedentes del Género *Candida* en la Alimentación de Rumiantes

Castillo-Castillo *et al.* (2016) y Ruíz *et al.* (2016) han mostrado las capacidades de la *Candida norvegensis* como mejoradora del ambiente ruminal observando a su vez que dichos organismos microscópicos podían mejorar las condiciones ruminales como el pH favoreciendo el desarrollo de microorganismos celulolíticos ya sean bacterias u hongos, incrementando la degradabilidad de la fibra en condiciones anaeróbica o en baja presencia de oxígeno, lo que a su vez produjo nutrientes de suma importancia en rumiantes como la proteína microbiana y los ácidos grasos volátiles (AGV's), además de reducir la presencia de metano, y amoniaco. Otro estudio relacionado es el reportado por Angulo-Montoya (2010) en el que la *C. norvegensis* cepa 15 mostró una preferencia por la glucosa como fuente de energía por sobre otros carbohidratos como la sacarosa y la lactosa para su desarrollo, solo utilizó manganeso como elemento traza y no requirió de la adicción de vitaminas en el medio de cultivo. Como fuente de nitrógeno esta levadura utilizó triptona y no denotó requerimientos de sodio (Ruiz *et al.*, 2016).

Efectos de los Probióticos en el Ambiente Ruminal

En estudios sobre degradabilidad *In situ*, Ely *et al.* (1982) emplearon una especie de *Candida* junto con lactobacilos para medir su efecto en la degradabilidad de ensilajes, sin encontrar relevancia en los efectos de los

probióticos en cuestión. Sin embargo en otro experimento se reportó el uso de *Candida kefir* en vacas Holstein fistuladas destacando un mayor desdoblamiento de proteína cruda y materia seca a comparación del grupo de control (Mwenya *et al.*, 2005). En el ambiente ruminal, según lo reportado por Ja-Kyeom *et al.* (2010) la utilización de bacterias productoras de ácido láctico, bacterias utilizadoras de ácido láctico y levaduras entre las que destacan los siguientes cultivos: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Propionibacterium*, *Megasphaera elsdenii*, *Prevotella bryantii*, *Saccharomyces* y *Aspergillus*, se encontró que las levaduras contribuían significativamente en la reducción de la presencia de oxígeno disminuyendo la producción de lactato, lo que a su vez mejoró la degradabilidad de los alimentos y la fermentación ruminal; las bacterias productoras de ácido láctico así como las utilizadoras del mismo, también contribuyeron con la regulación de la presencia del lactato produciendo y utilizando el ácido láctico, contribuyendo así en el desarrollo de microorganismos celulolíticos mejorando por lo tanto la degradabilidad de las fracciones menos aprovechables de los alimentos vegetales. Siendo así los probióticos en el medio ambiente ruminal tienden a reducir la presencia de lactato y ácido láctico alrededor de 20 %, además de las trazas de oxígeno, manteniendo un pH ligeramente ácido (6.5 ± 0.3) y en algunos casos mínimamente básico (7.4 ± 0.2), promoviendo con ello el desarrollo de los microorganismos celulolíticos que tienden a utilizar carbohidratos no estructurales y nitrógeno no protéico en la producción de proteína microbiana y ácidos grasos volátiles, situación que aparte

de producir nutrientes tiende a reducir la presencia de amoniaco en el rumen hasta en un 50 % (Krehbiel *et al.*, 2003; Qadis *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2015; Julien *et al.*, 2015; Tristant y Moran, 2015). Las bacterias acidolácticas también han mostrado beneficios en el tracto intestinal, como en el trabajo de LeJeune y Wetzel (2006) donde utilizaron cultivos de *Lactobacillus acidophilus* con el fin de reducir la presencia de *Escherichia coli* O157 en el intestino de bovinos adultos, en donde las bacterias acidolácticas llegaron primero a los sitios de colonización además de la regulación del pH intestinal. Musa *et al.* (2009), afirmaron que los probióticos bacterianos funcionan muy bien en aves, cerdos y en otros monogástricos, además de los pre-rumiantes, pero las levaduras funcionan mejor en los rumiantes debido a su capacidad para degradar celulosa o bien como promotores de condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos celulolíticos. Lo anterior promueve a las levaduras como uno de los mejores candidatos en la engorda de ganado de carne ya sea bovino, ovino o caprino. Rossow *et al.* (2014) indagaron en el uso de alimentos microbianos vivos en las dietas de rumiantes y encontraron que los probióticos ayudaban a reducir los problemas de acidosis en ganado lechero, manteniendo un pH ruminal de 7.4 en los animales tratados. Además se han reportado efectos de reducción del riesgo de presentar acidosis en ganado estabulado alimentado con dietas altamente fermentables, adicionando cultivos utilizadores de ácido láctico o mezclas de estos con cultivos productores de lactato (Ghorbani *et al.*, 2002). Sin embargo existen datos como los reportados por Cabrera *et al.* (2000) quienes mostraron

que la *Saccharomyces cerevisiae* no mejoró la degradabilidad de la fibra en novillos mestizos (*Bos taurus* x *Bos indicus*), situación que pudo deberse a que los microorganismos comerciales en ocasiones no están activos ya que se utilizan en polvo (en forma de esporas) y tienden a ser menos eficaces que las presentaciones líquidas (Saxelin *et al.*, 2010). Basso *et al.* (2014) tampoco lograron mejorar la degradabilidad aparente de la materia seca en su estudio con Lactobacilos en dietas de ovinos.

Probióticos en el Comportamiento Productivo de Rumiantes

Whitley *et al.* (2009) trabajaron con probióticos comerciales en la alimentación de cabras Boer reportando beneficios en el desarrollo de los animales obteniendo una ganancia de peso promedio de 0.17 kg/día en los ovinos alimentados con probióticos, contra los 0.10 kg/día del grupo de control. Al mejorar las funciones digestivas de los animales, los probióticos también pueden optimizar el desarrollo de estos, Lopez *et al.* (2015) en su trabajo con su probiótico Sorbifauna y Hongos *Pennisetum pupureum*, en la alimentación de corderos Pelibuey en crecimiento, encontraron una notable mejora en la ganancia diaria de peso (0.14 kg/día) a comparación del grupo control (0.11 kg/día) que no contenía probióticos. Tripathi y Karim (2010) también presentaron resultados favorables en el desarrollo de ovinos alimentados con probióticos en este caso compuestos por levaduras. En otro experimento con el probiótico Y5-39, los ovinos en crecimiento tratados con él mostraron mejores resultados de conversión alimenticia y ganancia diaria de peso, 0.545 ± 4.9 kg/día del grupo

tratado contra 0.482 ± 4.17 kg/día del grupo de control (Sadrsaniya *et al.*, 2015). De acuerdo con Mokhber-Dezfouli *et al.* (2007) un probiótico en el que se inoculó *Candida pinotopesti* en adición a otros microorganismos, ayudó a incrementar parámetros productivos como, la ganancia diaria de peso y la estatura de los animales, además de disminuir la presencia de diarrea en los animales alimentados con dicho aditivo. Mahyuddin y Winugroho (2010) utilizaron un probiótico a base de *Candida utilis* consiguiendo mejoras en la calidad de la canal de bovinos productores de carne. Ando *et al.* (2006) utilizaron diferentes cepas de *Candida utilis* en degradación de granos y forrajes in vitro, mostrando que los microorganismos no solo incrementaban la degradabilidad de las fibras si no que mejoraban el aprovechamiento de los lípidos. Marrero *et al.* (2014) hablan de una mejora en la utilización de carbohidratos no estructurales cuando existía presencia de *Candida tropicalis* en la dietas de rumiantes mejorando además su condición general.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Aziz, N. A., A. Z. Salem, M. M. El-Adawy, L. M. Camacho, A. E. Kholif, M. M. Elghandour y B. E. Borhami. 2015. Biological treatments as a mean to improve feed utilization in agriculture animals, an overview. *J. Integ. Agric.* 14:534-543.
- Ando, S., Y. Nishiguchi, K. Hayasaka, H. Iefuji y J. Takahashi. 2006. Effects of *Candida utilis* treatment on the nutrient value of rice bran and the effect of *Candida utilis* on the degradation of forages *In vitro*. *Asian Australasian J. of Anim. Sci.* 19:806.
- Angulo-Montoya, C. 2010. Crecimiento y requerimientos nutricionales de la levadura *Candida norvegensis* como activador ruminal. Disertación doctoral. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. Mex.
- Basso, F. C., A. T. Adesogan, E. C. Lara, C. H. S. Rabelo, T. T. Berchielli, M. A. Teixeira y R. A. Reis. 2014. Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs. *J. of Anim. Sci.* 92:5640-5650.
- Bernard, J. K. 2015. Milk yield and composition of lactating dairy cows fed diets supplemented with a probiotic extract. *Prof. Anim. Scient.* 31:354-358.
- Cabrera, E. J. I., M. G. D. Mendoza, I. E. Aranda, C. Garcia-Bojalil, G. R. Barcena, G. R., y J. J. A. Ramos. 2000. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. *Anim. Feed. Sci. and Tech.* 83:49-55.
- Caja, G., E. Gonzalez, C. Flores, M. D. Carro y E. Albanell. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. Página 183 en el XIX Curso de Especialización de la FEDNA. Universidad de León. Madrid. España.
- Castillo-Castillo, Y., O. Ruiz-Barrera, M.E. Burrola-Barraza, Y. Marrero-Rodriguez, J. Salinas-Chavira, C. Angulo-Montoya, A. Corral-Luna, C. Arzola-Alvarez, M. Itza-Ortiz y J. Camarillo. 2016. Isolation and characterization of yeasts from fermented apple bagasse as additives for ruminant feeding. *Braz. J. of Microbiol.* Aceptado para publicación.

- Duwat, P., B. Cesselin, S. Sourise y A. Gruss. 2000. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival. *Int. J. Food. Microbiol.* 55:83-86.
- Ely, I. O., N. J. Moon y E. M. Sudweeks. 1982. Chemical evaluation of *Lactobacillus* addition to alfalfa, corn, sorghum, and wheat forage at ensiling. *J Dairy Sci.* 65:1021-1026.
- F.A.O. 2006. Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales, y directrices para su evaluación. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Córdoba, Argentina.
- Fuller, R. 1989. Probiotics: Their development and use. *J. Applic. Bact.* 66:365-368.
- Gadekar, Y. P., A. K. Shinde, A. Sahoo y S. A. Karim. 2015. Effect of probiotic supplementation on carcass traits and meat quality of Malpura lambs. *J. Small Rumin.* 21:306-310.
- Ghorbani, G. R., D. P. Morgavi, K. A. Beauchemin y J. A. Z. Leedle. 2002. Effects of Bacterial Direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80:1977-1985.
- Ja-Kyeom, S., K. Seon-Woo, K. Myung Hoo, S. D. Upadhaya, K. Dong Keun y K. H. Jong. 2010. Direct-fed microbials for ruminant animals. *Asian Aust. J of Anim. Sci.* 23:1657-1667.
- Julien, C., J. P. Marden, E. Auclair, R. Moncoulon, L. Cauquil, J. L. Peyraud. Y C. Bayourthe. 2015. Interaction between live yeast and dietary rumen degradable protein level: effects on diet utilization in early-lactating dairy cows. *Agric. Sci.* 6:1-13.
- Kannan, S., L. Hernandez, A. Herrera, B. Jimenez, M. Miller, P. Perales y P. Subburaj. 2014. Genesis of antibiotic resistance (AR) III: trifling risk of AR pathogens induced infectious diseases from regulated concentrated animal feeding operations. *J FASEB.* 28:986-997
- Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang y S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81:120-132.
- Legrato, M. J. 2004. Principles of specific-gender medicine. 1a ed. Editorial Elsevier Academic Press. Estados Unidos de América.

- Leibtag, E. 2008. Corn prices near record high, but what about food costs. *Amb. Wav.* 6:10-15.
- LeJeune J. T. y A. N. Wetzel. 2006. Preharvest control of *Escherichia coli* O157 in cattle. *J. Anim. Sci.* 85:73-80.
- Lilly, D. M. y R. H. Stillwell. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Sci.* 147:747-748.
- López, Y., J. Arece, F. Ojeda y M. Molina. 2015. Effect of the inclusion of the Sorbifauna probiotic in the diet of confined weaned sheep. *Rev. Pastos y Forrajes.* 8:202-206.
- Mahyuddin, P., y M. Winugroho. 2010. Effect of combination of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* + *Candida utilis*) and herbs supplementation in finishing diet on carcass characteristics of beef cattle. *J. Tropic. Anim. Agric.* 35:251-256.
- Marrero, Y., Y. Castillo, O. Ruiz, E. Burrola y C. Angulo. 2014. Feeding of yeast (*Candida* spp.) improves In vitro ruminal fermentation of fibrous substrates. *J. Integ. Agric.* 14:514-519.
- Mokhber-Dezfouli, M. R., P. Tajik, M. Bolourchi y H. Mahmoudzadeh. 2007. Effects of probiotics supplementation in daily milk intake of newborn calves on body weight gain, body height, diarrhea occurrence and health condition. *J. Biol. Sci.* 10:3136-3140.
- Müller, D. W., J. Fritz, P. Steuer, A. Schwarm, M. Kreuzer, M. Clauss. 2015. Digesta kinetics in gazelles in comparison to other ruminants: Evidence for taxon-specific rumen fluid throughput to adjust digesta washing to the natural diet. *Comp. Biochem. Physiol.* 185:58–68.
- Musa H. H., S.L. Wu, C.H. Zhu, H.I. Seri y G.Q. Zhu. 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Advances.* 8:313-321.
- Mwenya, B., B. Santoso, C. Sar, B. Pen, R. Morikawa, K. Takaura y J. Takahashi. 2005. Effects of yeast culture and galacto-oligosaccharides on ruminal fermentation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88:1404-1412.
- Puniya, A. K., A. Z. Salem, S. Kumar, S. S. Dagar, G. W. Griffith, M. Puniya y R. Kumar. 2015. Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review. *J. Integ. Agric.* 14:550-560.

- Qadis, A. Q., G. O. Y. A. Satoru, K. Ikuta, M. Yatsu, A. Kimura, S. Nakanishi, y S. A. T. O. Shigeru, 2014. Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves. *J. Vet. Med. Sci.* 76:877-885.
- Rogosa, M., J. A. Mitchell y R. F. Wiseman. 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. *J. Bact.* 62:132-133.
- Rosmini M. R., G. J. Sequeira, I. Guerrero-Legarreta, L. E. Martí, R. Dalla-Santina, L. Frizzo y J. C. Bonanza. 2004. Producción de prebióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Rev. Mex. Ing. Quim.* 3:181-191.
- Rossow, H. A., D. DeGroff y M. Parsons. 2014. Performance of dairy cows administered probiotic in water troughs. *Prof. Anim. Sci.* 30:527-533.
- Ruiz, O., Y. Castillo, C. Arzola, E. Burrola, J. Salinas, A. Corral, M. E. Hume, M. Murillo y M. Itza. 2016. Effects of *Candida norvegensis* live cells on *in vitro* oat straw Rumen fermentation. *Asian Australasian J. Anim. Sci.* 29:211-218.
- Sadraniya, D. A., A. P. Raval, S. R. Bhagwat y A. Nageshwar. 2015. Effects of probiotics supplementation on growth and nutrient utilization in female Mehsana buffalo calves. *J. In Vet.* 92:20-22.
- Saxelin, M., A. Lassig, H. Karjalainen, S. Tynkkynen, A. Surakka, H. Vapaatalo y K. Hatakka. 2010. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 144:293-300.
- Tamburello, L., F. Bulleri, D. Balata y L. Benedetti-Cecchi. 2014. The role of overgrazing and anthropogenic disturbance in shaping spatial patterns of distribution of an invasive seaweed. *J. Appli. Eco.* 51: 406-414.
- Tripathi, M. K. y S. A. Karim. 2010. Effect of individual and mixed live yeast culture feeding on growth performance, nutrient utilization and microbial crude protein synthesis in lambs. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 155:163-171.
- Tristant, D. y C. A. Moran. 2015. The efficacy of feeding a live probiotic yeast, Yea-Sacc®, on the performance of lactating dairy cows. *J. Appli. Anim. Nutr.* 3:90-95.

- Vargas E. M., C. J. Gómez, M. E. Parra y M. A. Romero. 2004 a. Producción de microorganismos probióticos como aditivo para alimentos concentrados para ganado vacuno (Primera Parte). Rev. de Ingen. Uni. Andes. 19:166-176.
- Vargas E. M., C. J. Gómez, M. E. Parra y M. A. Romero. 2004 b. Producción de microorganismos probióticos como aditivo para alimentos concentrados para ganado vacuno (Segunda Parte). Rev de Ingen. Uni. Andes. 20: 23-33.
- Whitley, N. C., D. Cazac, B. J. Rude, D. Jackson-O'Brien y S. Parveen. 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. J. Anim. Sci. 87:723–728.
- Zhang, B., T. Zhang, Q. Wang, y T. Ren. 2015. Microorganism-based monodisperse microcapsules: encapsulation of the fungicide tebuconazole and its controlled release properties. RSC Adv. 5:25164-25170.

**ESTUDIO I. DEGRADABILIDAD RUMINAL *In situ* Y CONTENIDO RUMINAL
DE ÁCIDO LÁCTICO Y AMONIACO EN VACAS ALIMENTADAS CON
DIETAS INOCULADAS CON *Candida norvegensis***

RESUMEN

DEGRADABILIDAD RUMINAL *In situ* Y CONTENIDO RUMINAL DE ACIDO LÁCTICO Y AMONIACO EN VACAS ALIMENTADAS CON DIETAS INOCULADAS CON *Candida norvegensis*

POR:

M. C. JESÚS LÓPEZ MORONES

Doctor in Philosophia

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D. Oscar Ruíz Barrera

El presente experimento consistió en evaluar la degradabilidad *in situ* de la MS y la variación en el contenido de amoníaco y ácido láctico en el rumen utilizando rastrojo de maíz como material de incubación ruminal. Se utilizaron tres vacas productoras de carne con cánulas ruminales las cuales fueron alimentadas con una dieta basal de alfalfa y rastrojo de maíz (50:50) durante dos periodos de treinta días: en el 1, las vacas recibieron la ración sin probiótico (T1) y en el 2, se suplementó con 15 mL/kg de peso vivo (PV) de probiótico (T2). Se utilizó un diseño experimental de switchback en la DISMS (p). Así “p” de MS FDN y FDA fue más alta en el T2 mientras que en PC fue superior en el T1 ($P \leq 0.05$). La degradación efectiva ruminal (DE) de MS, FDN y FDA fue mayor en T2, mientras que en PC existió más degradación en T1 ($P \leq 0.05$). El contenido de amoníaco

fue mayor en el T1, mientras que en ambos tratamientos existió muy poca presencia de ácido láctico. Se concluyó que el probiótico mostró efectos favorables en la degradación ruminal de la fibra del rastrojo de maíz, así como un aprovechamiento menor de la PC en comparación con el T1. La baja presencia de ácido láctico pudo deberse a la dieta reducida en carbohidratos no estructurales.

ABSTRACT

In situ RUMINAL DEGRADABILITY, LACTIC ACID AND AMMONIA OF CORN STOVER IN BEEF CATTLE DIETS INOCULATED WITH *Candida norvegensis*.

BY:

JESUS LOPEZ MORONES

This experiment involved the determination of *in situ* degradability of dry matter and levels of ammonia and lactic acid in the ruminal content of a sample of roughage. Three cows were used and fitted with ruminal cannulas which were fed with a basal diet of alfalfa and corn stover (50:50) for two periods of 30 days each: the first, cows received the rations without the addition of probiotic (T1) and second were supplemented daily with 15 mL / kg BW of the probiotic (T2). A switchback experimental design was used. Results for *in situ* DM degradation (p) showed that “p” for NDF, ADF were better in T2, and in CP, T1 was the highest ($P \geq 0.05$). Regarding to the effective ruminal degradation (ERD) of DM, NDF, and ADF T2 had the highest value, and in CP, T1 was the highest again ($P \leq 0.05$). As a conclusion, there is evidence that the probiotic improved ruminally, the capacity of the animals to degrade structural carbohydrates such as the contained in the corn stover.

INTRODUCCIÓN

Los procesos ruminales permiten el aprovechamiento de sustratos difíciles de digerir para muchos animales. Tal es el caso de la celulosa, la hemicelulosa (Elghandour *et al.*, 2015).

Sin embargo según Puniya *et al.* (2015) la eficiencia de dichos procesos puede ser optimizada con la ayuda de aditivos alimenticios, como los probióticos, que además de mejorar las capacidades digestivas de los huéspedes, también influyen favorablemente en las funciones inmunes de su organismo, mejorando con esto la condición general de los hospederos. Siendo así, se ha estado investigando desde hace algún tiempo el uso de aditivos con microorganismos vivos tanto en la alimentación humana como animal (Williams, 2010; Abdel-Aziz *et al.*, 2015), lo que llevó al aislamiento de la *Candida norvegensis* cepa 15 por medio de los trabajos de Castillo-Castillo *et al.* (2016) y la demostración de sus posibles aplicaciones en la nutrición de rumiantes con la contribución de los experimentos de Ruiz *et al.* (2016) ya que según lo reportado por dichos autores, la *Candida norvegensis* puede fungir como estabilizador ruminal, que contribuye con la creación de un ambiente favorable para microorganismos degradadores de carbohidratos estructurales, lo que podría traducirse en un incremento de las capacidades digestivas de los rumiantes, permitiéndoles ser capaces de aprovechar forrajes de baja calidad nutricional (Rossow *et al.*, 2014; Elghandour *et al.*, 2015). Pero existe poca información de estos efectos en pruebas de campo con dichos herbívoros. Así el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del

probiótico a base de *Candida norvegensis* en la cinética de fermentación ruminal *In situ* de forrajes de rastrojo de maíz, con la finalidad de probar la hipótesis que asevera un incremento en la capacidad de digestión de fibra por parte del rumen, pudiendo así dilucidar si los rumiantes pueden aprovechar forrajes de baja calidad nutritiva mediante el uso de dicho aditivo, para finalmente sustituir al menos en parte ingredientes costosos de las dietas de rumiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua; ubicada en el Km 1 del Periférico Francisco R. Almada, a una altitud de 1435 msnm, y con una temperatura media anual de 18.2 °C con una precipitación media anual de 387.5 mm³. Su localización geográfica es a los 28° 38' latitud Norte y 106° 04' longitud Oeste, en la Ciudad de Chihuahua, Chih. (INEGI, 2016).

Animales y descripción de los tratamientos

Se utilizaron 3 vacas adultas, dos de ellas de la raza Hereford y la restante de la raza Angus, (496 ± 1.5 kg de peso vivo promedio) a las cuales se les colocó una cánula ruminal permanente. Los animales fueron alojados en un corral con trampa sujetadora para un manejo más adecuado de los mismos. En la prueba se evaluaron dos tratamientos durante dos tiempos: en el primero los animales fueron alimentados con una dieta basada exclusivamente en forraje de alfalfa y rastrojo de maíz (50:50) y en el segundo se proporcionó la misma dieta pero incluyendo diariamente 15 ml/kg de peso vivo de probiótico a base de levaduras *C. norvegensis*. Ambos tiempos tuvieron una duración de 30 d (27 de alimentación y 3 de muestreos). La alimentación se realizó a las 10:00 a.m. y el agua fue administrada a libre acceso. La dosis de levadura fue equivalente en base seca a 3 gramos por día. El aislamiento de la *C. norvegensis* cepa 15 se llevó a cabo mediante las técnicas descritas por Castillo-Castillo *et al.* (2016).

Técnica de Degradabilidad *In situ*

Este experimento se realizó de acuerdo a los procedimientos descritos por Nozière y Michaelt-Doreau (2000) para lo cual se utilizaron bolsas de poliéster ANKOM para degradabilidad ruminal *In situ* de forraje con dimensiones de 10 x 20 cm y un tamaño de poro de 50 micrones (± 15). Las bolsas fueron llenadas por triplicado por cada tiempo de muestreo con tres gramos de la muestra de rastrojo de maíz previamente molido (Cuadro 2), sellada y colocadas en el rumen. Las muestras para cada tratamiento se tomaron directamente de pacas de rastrojo de maíz seco, y se molieron hasta alcanzar un tamaño de partícula de 2 mm para luego ser almacenada en una bolsa de plástico. Los tiempos de muestreo fueron a las 6, 12, 24, 48 y 72 h, en los que también se extrajo líquido ruminal para analizar la presencia de amoníaco y ácido láctico. Cuando se extrajeron las bolsas, estas fueron lavadas y puestas a secar en una estufa a 60°C durante 24 horas aproximadamente. Posteriormente se pesó cada bolsa y el residuo se almaceno para el análisis de degradabilidad *In situ* de materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente acido (FDA) y la degradabilidad efectiva (DE) de las variables antes mencionadas.

Análisis Químicos

La MS y la PC fueron determinadas mediante los análisis descritos por la A.O.A.C. (2005). La FDN así como la FDA fueron medidas por medio de los métodos descritos por Van Soest *et al.* (1991) utilizando un digestor de fibras ANKOM®. Mientras que el amoníaco fue analizado con las técnicas descritas por

Cuadro 2. Composición química de las muestras de rastrojo

Nutriente	Contenido en %
MS	90
PC	6.3
EE	1.3
FDN	68
FDA	55
CT	11.6

MS = Materia seca, PC = Proteína cruda, EE = Extracto etéreo, FDN = Fibra detergente ácido, FDA = Fibra detergente neutro, CT = Cenizas totales.

Bolleter *et al.* (1961), y el ácido láctico mediante lo descrito por Davidson (1949).

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos de la prueba de degradabilidad *In situ* fueron ajustados usando el modelo de Ørskov y McDonald (1979), modificado por McDonald (1981).

La ecuación fue la siguiente:

$$p = a + b (1 - e^{-c(t-lag)}) + ei$$

Donde “p” es la degradación ruminal, “a” es la fracción soluble (FS) o porción del alimento soluble en agua (pérdida por lavado), “b” es la fracción degradable, “c” es la tasa de degradación fraccional (h⁻¹). “a + b” es la degradabilidad potencial en el rumen de la MS. “t” es el tiempo (h), “lag” es un periodo de adaptación microbiano al medio, donde muestran poca actividad sobre los sustratos, por lo tanto, entre más difícil le resulte al microbio adaptarse al medio mayor será el lag (Arosio *et al.*, 2015). “i” es una constante de la tasa de pasaje ruminal. “e” es el exponente. En la determinación de la degradabilidad efectiva (DE) se utilizaron las constantes de 0.01 y 0.05 % h⁻¹ como valores de la tasa de flujo “k”, que son constantes empleadas principalmente en la DE de forrajes. Así la ecuación de degradabilidad efectiva fue la siguiente:

$$DE = a + (b \times c) / (c + k)$$

Se utilizó un diseño experimental Switch-Back, donde se consideraron como efectos fijos al tratamiento y al período, y como efectos aleatorios a los animales, a la interacción animal por tratamiento y a la interacción período por

animal, mientras que las variables respuesta fueron la degradación ruminal de MS, PC, FDN, FDA así como el porcentaje de amoníaco y ácido láctico. Los datos fueron analizados mediante el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2007) para determinar las posibles diferencias entre tratamientos. Se consideró como hipótesis nula (H0) que la dieta sin probiótico mostrara la misma digestibilidad que la dieta con probiótico, y como hipótesis alterna (H1) a que dichas dietas mostraran efectos diferentes. La comparación de medias se realizó mediante el comando lsmeans de SAS (SAS, 2007).

La ecuación del modelo Switch-Back fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_r\beta_j + \Gamma_k(\alpha_i) + \beta_j*\Gamma_k(\alpha_i) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:	Y_{ij}	= Variable respuesta.
	μ	= Media general.
	α_i	= Efecto del tratamiento.
	β_j	= Efecto del animal.
	$\alpha_r\beta_j$	=Efecto de la interacción tratamiento por animal
	$\Gamma_k(\alpha_i)$	= Efecto del período anidado en tratamiento.
	$\beta_j*\Gamma_k(\alpha_i)$	=Efecto de la interacción tratamiento por período
	ε_{ijk}	= Error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Degradabilidad *In situ* de la Materia Seca (DISMS)

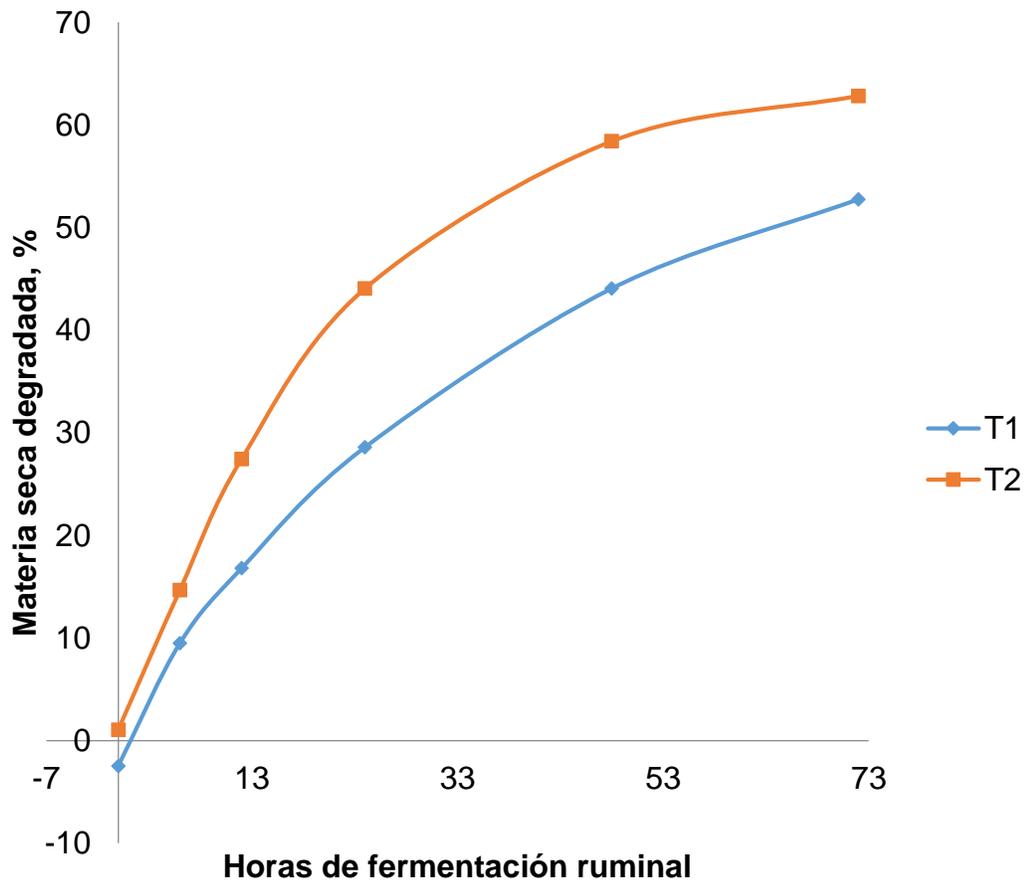
Se observó que la fracción soluble (a), la fracción digestible (b), así como la fracción indigestible (Fi) de la MS, no mostraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$), debido a que las muestras tenían el mismo contenido en ambos tratamientos (rastrajo de maíz). Mientras que la tasa de degradación fraccional (c) y el período lag (lag) presentaron una marcada diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$) siendo el tratamiento dos (T2) el que mostró el valor de “c” más alto que fue de 4.9 contra 2.4 del tratamiento uno (T1) coincidiendo con los resultados de Ishaq *et al.* (2015) en donde el uso de bacterias aisladas en el tracto digestivo de alces norteamericanos (*Alces alces*) permitió incrementar la capacidad para degradar MS en corderos incrementando la velocidad de aprovechamiento de la misma. Así en el comportamiento de los microorganismos ruminales sobre las muestras de rastrojo también se pudieron observar discrepancias entre tratamientos, ya que en el caso del T2 este careció de un período “lag”, mientras que el T1 presentó un “lag” de 2.83, mostrando que los microorganismos de el T2 no requirieron adaptarse al sustrato de rastrojo de maíz de las muestras (Arosio *et al.*, 2015). La prueba de degradabilidad efectiva mostró que el T2 incrementó la capacidad digestiva de los animales, ya que dicho tratamiento obtuvo mayores valores, 54.5 % vs 46.3 % de T1 con una tasa de degradación fraccional (k) de 0.01 y 34 % vs 23.4 del T1. Lo anterior está representado en el Cuadro 3. En cuanto a la degradación ruminal *in situ* (p) se presentó un mayor

Cuadro 3. Parámetros de degradabilidad ruminal *In situ* de la materia seca y degradabilidad efectiva por tratamiento

Parámetro de DIS	Tratamiento	
	1	2
a	4.0 ± 0.003	3.8 ± 0.000
b	59.9 ± 0.021	61.0 ± 0.005
Fi	36.0 ± 0.024	35.2 ± 0.005
c	2.4 ± 0.002 ^x	4.9 ± 0.003 ^y
lag	2.8 ± 0.000 ^x	0.0 ± 0.000 ^y
p	52.7 ± 0.044 ^x	62.8 ± 0.600 ^y
Degradabilidad efectiva		
Tasa de flujo:		
0.01	46.3 ± 0.008 ^x	54.5 ± 0.001 ^y
0.05	23.4 ± 0.000 ^x	34.0 ± 0.006 ^y

^{xy} Medias con diferente literal en la misma fila difieren significativamente.
DIS = Degradabilidad *In situ*, a = Fracción altamente digestible, b = Fracción soluble, Fi = Fracción indigestible, c = Tasa de degradación fraccional, lag = periodo lag, p = Degradación ruminal.

aprovechamiento del sustrato en el tratamiento dos (T2) desde los comienzos de la prueba hasta el final de esta, donde la degradación máxima a las 72 horas en el tratamiento uno (T1) fue de 52.7 %, mientras que en el T2 se degradó un 62.8 % de la muestra. Los resultados (Gráfica 1), muestran la existencia de un efecto significativo ($P \leq 0.05$) en la acción del probiótico experimental, denotando un mayor aprovechamiento de la materia seca que fue degradada de manera más eficiente en el T2, y si se considera que las muestras estaban compuestas principalmente por carbohidratos estructurales, tenemos entonces que los resultados coincidieron con lo reportado por Ruíz *et al.* (2016) que trabajaron con la *C. norvegensis* y observaron que esta aprovechaba algunos sustratos altamente digestibles además de favorecer la proliferación de microorganismos celulolíticos. Promkot *et al.* (2013) encontraron que el uso de la levadura YEFECAP en rumiantes mejoraba el aprovechamiento de la MS (64.2 % contra los 62.1 % del control). En los estudios de Zeoula *et al.* (2014) se pudo denotar que la adición de probióticos en las dietas de becerros productores de carne y crías de búfalo ayudo a mejorar la capacidad digestiva de estos, estabilizando el pH en el rumen reduciendo la presencia de lactato y favoreciendo a su vez la proliferación de bacterias deseables. Sin embargo, otro trabajo con bovinos lecheros, cuando se añadieron probióticos a la dieta los resultados no mostraron efectos significativos en cuanto a degradabilidad en el ambiente ruminal, pero si permitieron reducir las emisiones de metano en un 4 % (Tristant y Moran 2015). Sallam *et al.* (2014) demostraron que con el uso de probióticos se pudo



Gráfica 1. Patrón de degradabilidad *In situ* de materia seca en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.
 T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo

incrementar la degradabilidad de la materia seca en un 15%.

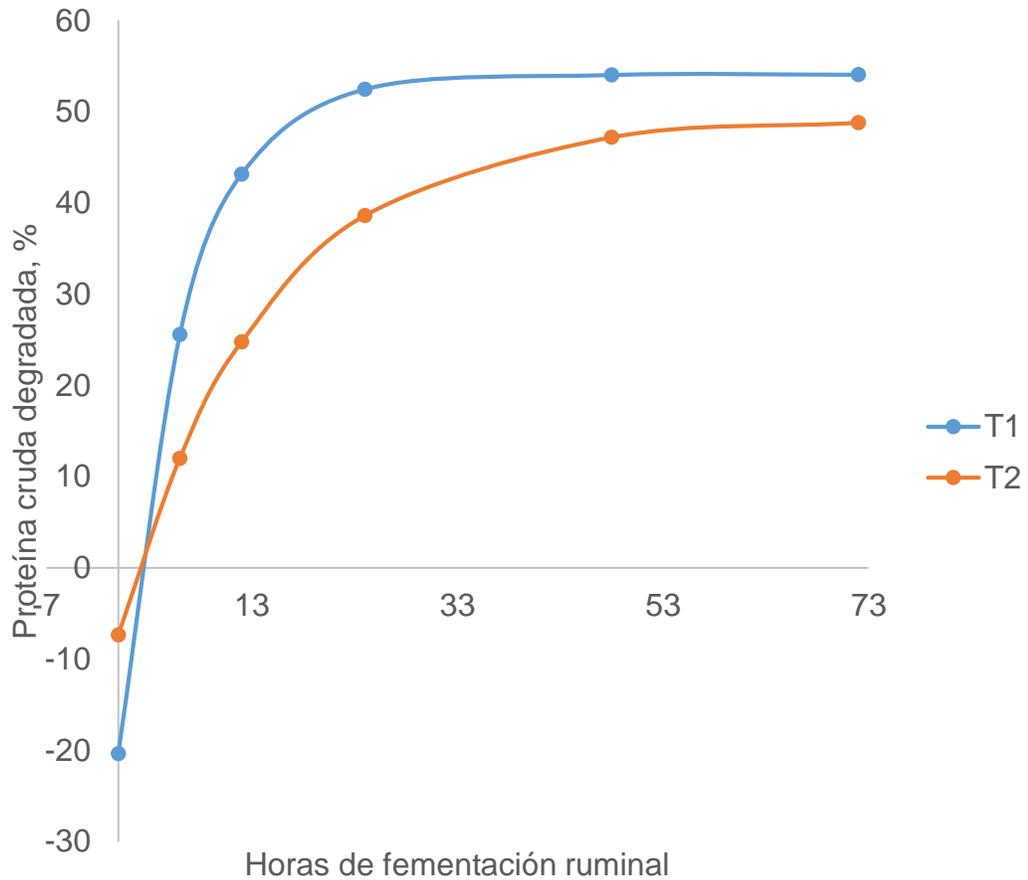
Degradabilidad *In situ* de la Proteína Cruda (DISPC)

Los resultados de degradación de PC no mostraron diferencia significativa en el efecto de tratamientos ($P \geq 0.05$) sobre la fracción digestible (b) y la fracción indigestible (Fi), ni el periodo lag (lag). Sin embargo si existió diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$) en la tasa de degradación fraccional (c). Así los valores de “c” fueron superiores en el T1 con 0.16 vs 0.07. En degradabilidad efectiva nuevamente el T1 superó al T2 ($P \leq 0.05$) con 49.6 % vs 38.1 % respectivamente con una “k” de 0.01 y 47.3 % vs 33.1 % con una “k” de 0.05 (Cuadro 4). En la degradación ruminal o digestibilidad ruminal *in situ* (p) existió diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$) en donde el tratamiento con probiótico (T2) mostró menor degradación de PC a partir de las 12 horas del experimento conservando esta tendencia hasta el final del mismo, momento en donde la degradación total del tratamiento T1 fue de aproximadamente 54.04 % y en el tratamiento T2 alcanzó un 48.8 % (Gráfica 2). Tales resultados debieron en parte su comportamiento a que en el T2 posiblemente proliferaron en mayor escala de microorganismos celulolíticos que aprovecharon los sustratos ricos en fibra para la síntesis de proteína microbiana, a comparación del T1 en el cual se desarrollaron en mayor medida microorganismos proteolíticos, situación que pudo ser el resultado de la acción del probiótico de *C. norvegensis* ya que dicha levadura tiende a estimular el desarrollo de organismos degradadores de fibra (Ruíz et al., 2016). Lo que también coincide con lo descrito por Fraga *et al.*

Cuadro 4. Parámetros de degradabilidad ruminal *In situ* de proteína cruda por tratamiento

Parámetros de DIS	Tratamiento	
	1	2
a	0.00 ± 0.000	0.0 ± 0.000
b	0.5 ± 0.015	0.5 ± 0.009
Fi	0.5 ± 0.013	0.5 ± 0.010
c	0.2 ± 0.069 ^x	0.1 ± 0.001 ^y
lag	3.1 ± 1.620 ^x	3.1 ± 1.600 ^y
p	54.0 ± 1.386 ^x	48.8 ± 0.947 ^y
Degradabilidad efectiva		
Tasa de flujo:		
0.01	49.6±0.010 ^x	38.1±0.007 ^y
0.05	47.3±0.037 ^x	33.1±0.004 ^y

^{xy} Medias con diferente símbolo en la misma fila difieren significativamente.
DIS = Degradabilidad *In situ*, a = Fracción altamente digestible, b = Fracción soluble, Fi = Fracción indigestible, c = Tasa de degradación fraccional, lag = periodo lag, p = Degradación ruminal.



Gráfica 2. Patrón de degradabilidad *In situ* de la proteína cruda en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento. T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo

(2014) ya que en su trabajo con probióticos en ganado encontraron que dichos aditivos microbianos influían favorablemente en el ambiente ruminal, tanto en la producción de energía como en la síntesis de PC. De la misma manera Julien *et al.* (2015) quienes trabajaron con levaduras, encontraron que en los tratamientos inoculados con dichos microorganismos se producía menor proteólisis ruminal con respecto al tratamiento control. Sin embargo, en otro experimento con levaduras en el desarrollo de corderos Awassi, la proteólisis fue incrementada junto con el aprovechamiento de la MS y la MO (Haddad y Goussons, 2004). Bezerra *et al.* (2016) no observaron un incremento en el desdoblamiento de PC, en cambio notaron favorecimiento en la síntesis de proteína microbiana cuando utilizaron bacterias acidolácticas en el desarrollo de cabras. Siendo así, la acción de los probióticos dentro del rumen en cuanto al aprovechamiento de las fracciones nitrogenadas varía de acuerdo a la especie de microorganismo que se utilice (Ushakova *et al.*, 2015).

Degradabilidad *In situ* de la Fibra Detergente Neutro (DISFDN) y la Fibra Detergente Ácido (DISFDA)

Los resultados del análisis de FDN no mostraron diferencias entre los tratamientos ($P \geq 0.05$) en los valores de la fracción digestible (b) e indigestible (Fi), a diferencia de la tasa de degradación fraccional (c) y el período lag (lag). Así, la composición de las muestras de rastrojo resultaron prácticamente iguales en la “b” y la Fi, pero la acción microbiana sobre los sustratos compuestos por carbohidratos estructurales resultó diferente, “c” fue ligeramente mayor en el T2

con 0.05 vs 0.04 del T1, además el período lag resultó más extenso en el T1 con 3.35 vs 2.945 del T2. En la degradación ruminal (p) se encontró significancia en la diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$), en donde el tratamiento dos (T2) mostró mayor aprovechamiento de las fracciones más digestibles de la fibra presente en las muestras. Con esto se confirma que existió más utilización del sustrato en el tratamiento inoculado con *C. norvegensis*, coincidiendo con lo encontrado en la prueba de degradabilidad *In situ* de materia seca (DISMS). Por lo tanto el aprovechamiento de FDN fue superior en el T2 mostrando una degradación de 58.2 % en comparación a los 54.1 % del T1. Los resultados de FDA no mostraron diferencias entre tratamientos ($P \geq 0.05$) en los parámetros de “b” y F_i , mientras que “c” y “lag” nuevamente discreparon, siendo ligeramente superior en “c” el T1 (0.04 vs 0.03 del T2), pero este último presentó “lag”, situación que no se pudo observar en el T2. Así mismo se presentó una diferencia significativa en los resultados correspondientes a FDA ($P \leq 0.05$), donde nuevamente el T2 fue superior pero esta vez en la degradabilidad de las porciones menos aprovechables de la fibra, mostrando una degradación (p) del 36.8 % a comparación del T1 que solo obtuvo un 35.8 %. Así la prueba de degradabilidad efectiva mostró que el T2 sobrepasó en cuanto a la degradabilidad de la FDN al T1 con 50.2 % a comparación de los 46 % del primer tratamiento considerando los dos valores de “k” 0.01 y 30.42 % vs 25.51 % respectivamente con un valor de “k” de 0.05; además en la degradabilidad aparente de la FDA también resultó superior ($P \leq 0.05$) el T2 con 32.3 % vs 17.06 del T1 considerando una “k” de 0.01

y con 17.1 % vs 16.7 del T1 tomando en cuenta un valor de “k” de 0.05 (Cuadros 5 y 6, Gráficas 3 y 4). Por lo tanto el mejor aprovechamiento de las fracciones de FDN y FDA pudieron deberse a una mejora en las condiciones ruminales que favorecieron el desarrollo de microorganismos celulolíticos dentro del rumen, y a pesar de haber mostrado una menor tasa de degradación fraccional en los resultados de FDA, un período “lag” menor pudo haber favorecido al T2, resultado que va de acuerdo con lo encontrado por Ghazanfar *et al.* (2015) ya que en su trabajo se destacó que la utilización de *Saccharomyces cerevisiae* en dietas de novillas destinadas al ganado lechero, mejoró el aprovechamiento tanto de FDN como de FDA entre otros nutrientes, optimizando así su desarrollo. Chaucheyras-Durand *et al.* (2015) encontraron que las levaduras como aditivo tienden a favorecer la colonización de los sustratos fibrosos, incrementando con esto su aprovechamiento. Otros estudios hablaron también de una mejora en el aprovechamiento de los nutrientes entre ellos las fracciones fibrosas por parte de los rumiantes cuando se adicionaban probióticos ya que aparte de mejorar las condiciones ruminales podían mejorar la eficacia del sistema inmune, entre otros beneficios (Elghandour *et al.*, 2015; Kehaliew *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2015). Sin embargo los resultados contrastaron con lo reportado por Cabrera *et al.* (2000) quienes demostraron que la *Saccharomyces cerevisiae* no mejoró la degradabilidad de la fibra en novillos mestizos (*Bos Taurus x Bos indicus*).

Contenido Ruminal de Amoniaco (AMO)

Existió diferencia significativa en los tratamientos ($P \leq 0.05$). El T1 (control)

Cuadro 5. Parámetros de degradabilidad ruminal *In situ* de fibra detergente neutro por tratamiento

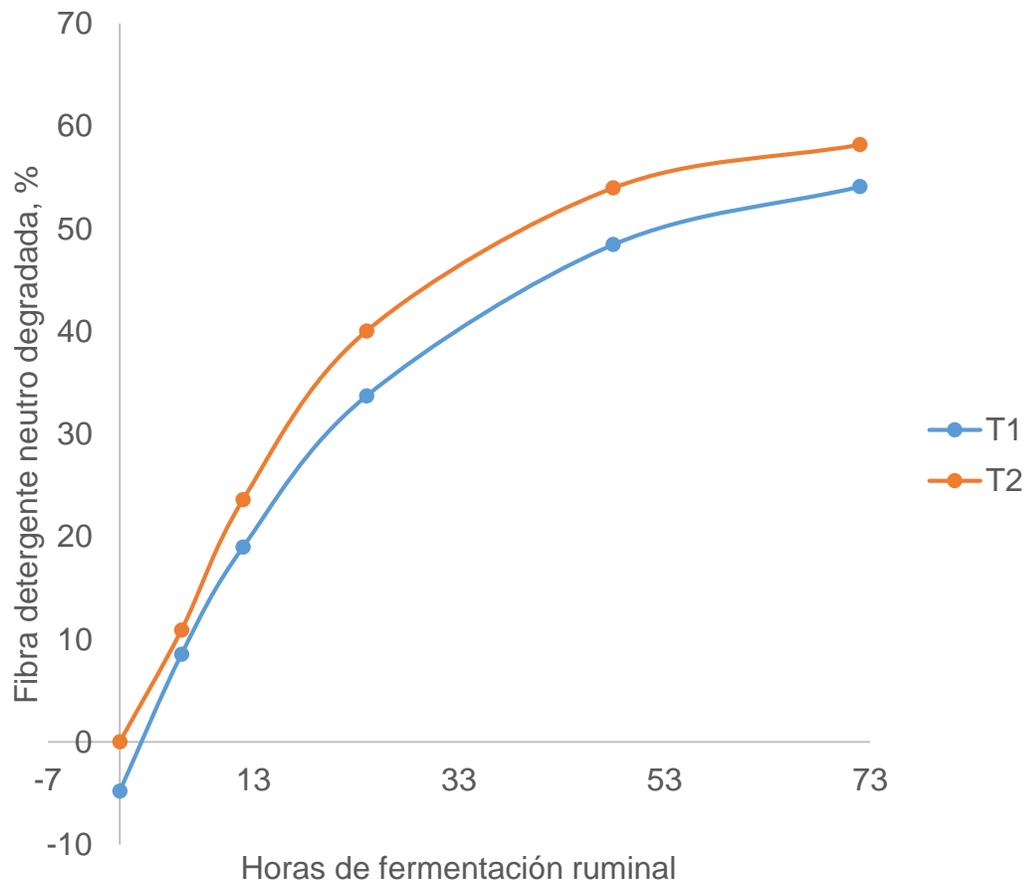
Parámetros de DIS	Tratamiento	
	1	2
a	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000
b	57.6 ± 0.001	49.1 ± 0.001
Fi	42.4 ± 0.002	51.2 ± 0.001
c	4.4 ± 0.003 ^x	7.0 ± 0.001 ^y
lag	3.3 ± 0.002 ^x	0.0 ± 0.001 ^y
p	54.1 ± 1.474 ^x	58.2 ± 0.225 ^y
Degradabilidad efectiva		
Tasa de flujo:		
0.01	46.0 ± 0.006 ^x	50.2 ± 0.002 ^y
0.05	25.5 ± 0.010 ^x	30.4 ± 0.003 ^y

^{xy} Medias con diferente literal en la misma fila difieren significativamente.
DIS = Degradabilidad *In situ*, a = Fracción altamente digestible, b = Fracción soluble, Fi = Fracción indigestible, c = Tasa de degradación fraccional, lag = periodo lag, p = Degradación ruminal.

Cuadro 6. Parámetros de degradabilidad ruminal *In situ* de fibra detergente ácido por tratamiento

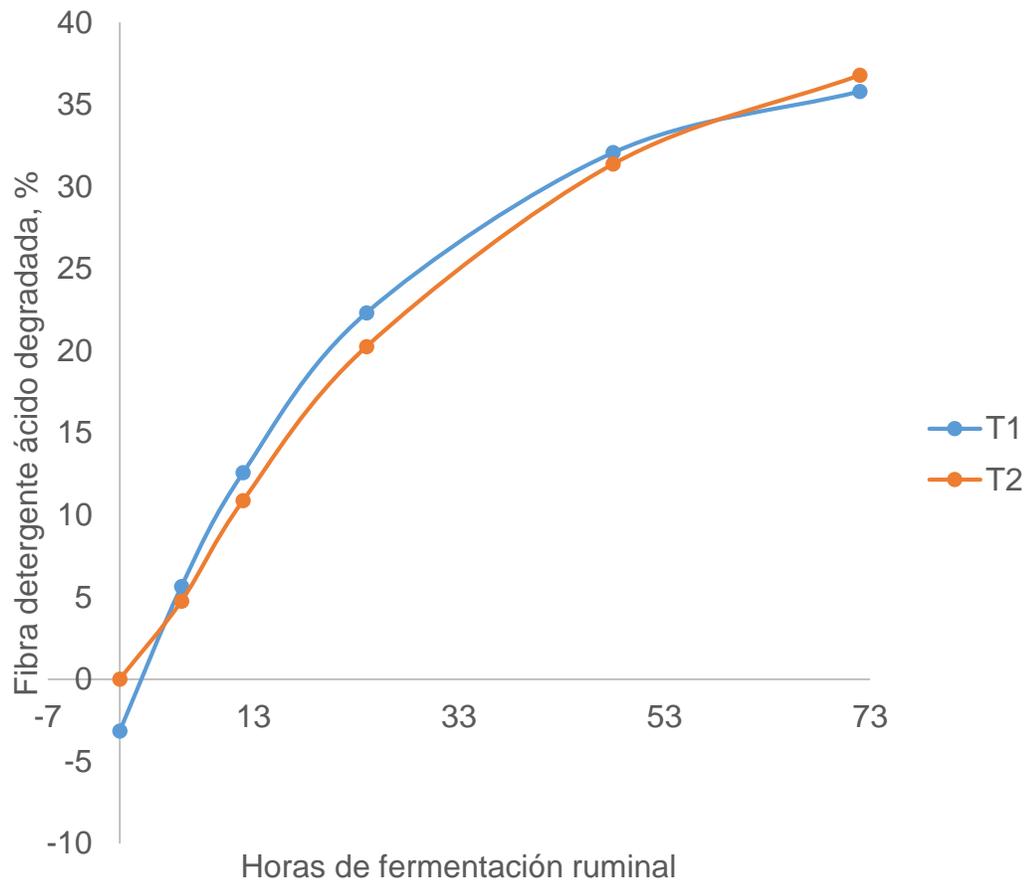
Parámetros de DIS	Tratamiento	
	1	2
a	0.0 ± 0.000	0.0 ± 0.000
b	0.6 ± 0.001	0.5 ± 0.001
Fi	0.4 ± 0.001	0.5 ± 0.001
c	0.0 ± 0.000 ^x	0.1 ± 0.002 ^y
lag	2.9 ± 0.001 ^x	0.0 ± 0.001 ^y
p	35.8 ± 0.247 ^x	36.8 ± 0.484 ^y
Degradabilidad efectiva		
Tasa de flujo:		
0.01	30.4 ± 0.001 ^x	32.3 ± 0.003 ^y
0.05	16.7 ± 0.001 ^x	17.1 ± 0.006 ^y

^{xy} Medias con diferente literal en la misma fila difieren significativamente.
 DID = Degradabilidad *In situ*, a = Fracción altamente digestible, b = Fracción soluble, Fi = Fracción indigestible, c = Tasa de degradación fraccional, lag = periodo lag, p = Degradación ruminal.



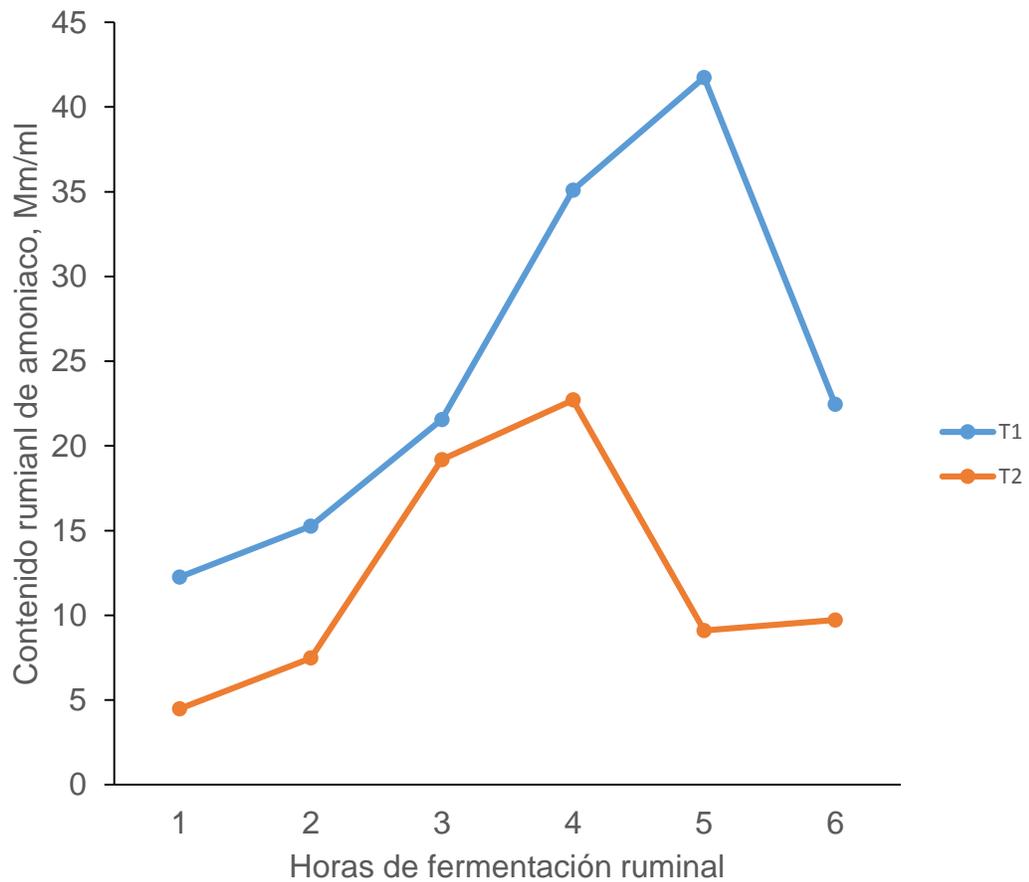
Gráfica 3. Patrón de degradabilidad *In situ* de fibra detergente neutro en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento.

T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo



Gráfica 4. Patrón de degradabilidad *In situ* de fibra detergente ácido en las muestras de rastrojo de maíz a través de las horas del experimento. T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo

mostró un comportamiento ascendente en AMO hasta las 48 h alcanzando alrededor de 41.74 Mm/ml, después dichos niveles comenzaron a descender mostrando su nivel mínimo a las 72 h. En el T2 el AMO mantuvo una tendencia ascendente hasta las 24 h alcanzando hasta 22.71 Mm/ml, para luego presentar un descenso a las 72 h. Cabe destacar que durante toda la prueba los niveles de AMO se mantuvieron superiores en el T1 (Gráfico 5), situación que pudo deberse a la acción microbiana, tanto del probiótico como del ecosistema ruminal habitual, coincidiendo con los resultados de la prueba de degradabilidad *In situ* de la PC donde en el T1 se degradó más proteína a comparación del T2. Por lo tanto al existir mayor degradación de las fracciones protéicas en el rumen, la presencia de amoníaco se vio incrementada ya que este es un subproducto de la digestión de los compuestos nitrogenados (Puniya *et al.*, 2015). Además como ya se ha observado con anterioridad la *Cándida norvegensis* contribuye en el aprovechamiento de glucosa y nitrógeno amoniacal hasta en un 50 % en animales tratados con probióticos vivos, así como la reducción de la presencia de elementos que pueden ser causales de aparición de acidosis, como el ácido láctico (15 % \pm 5 %) y el metano, lo que se traduce en un pH ruminal ligeramente básico que permite el desarrollo de bacterias y hongos degradadores de fibra que utilizan el amoníaco en la síntesis de proteína microbiana, lo que puede contribuir también en la explicación de los bajos niveles de amoníaco en el T2 (Lila *et al.* 2004; Bidarkar *et al.*, 2014; Ruíz *et al.*, 2016). Chaucheyras-Durand *et al.* (2008) expusieron datos acerca de la acción de los probióticos a base de

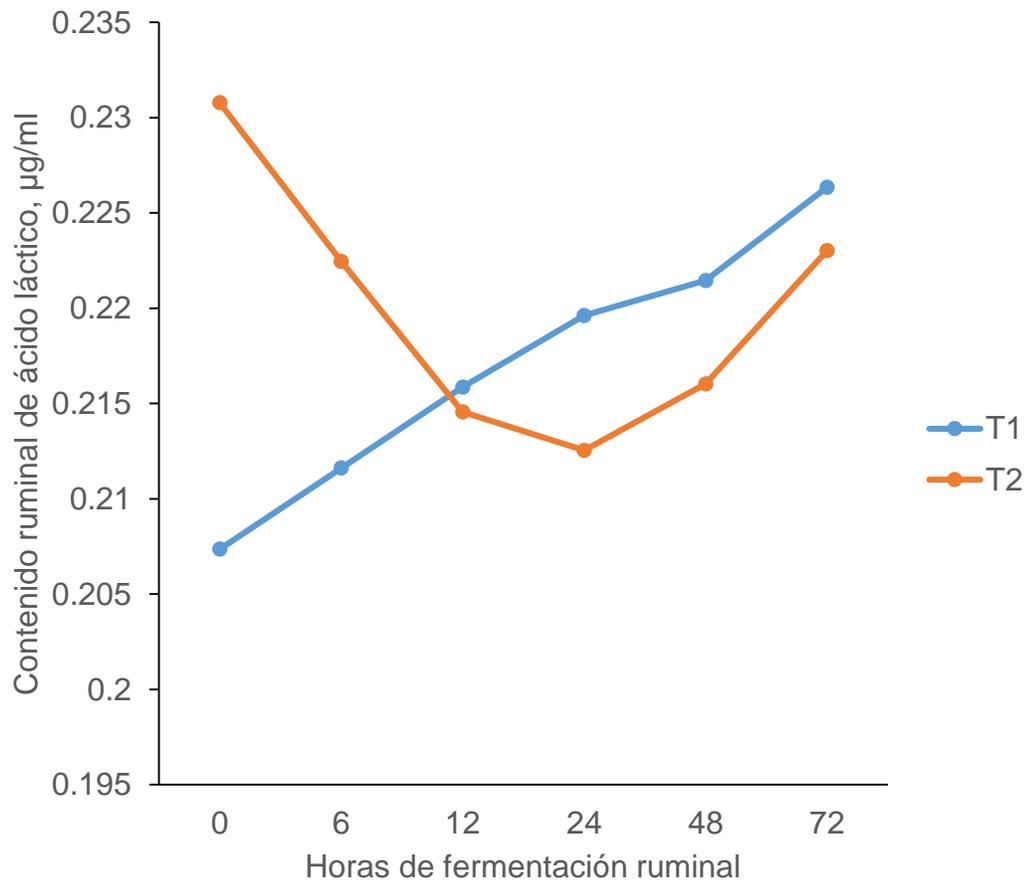


Gráfica 5. Comportamiento del amoniaco en las muestras líquido ruminal a través de las horas del experimento.
 T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo

levaduras en el metabolismo del nitrógeno, encontrando que dichos aditivos tienden a limitar la acción de las especies microbianas encargadas de la proteólisis, lo que reduce la presencia de AMO en el rumen. Así Promkot *et al.* (2013) mostraron que el incremento de microorganismos degradadores de proteínas en el rumen aumenta considerablemente la proteólisis (68.2 contra 64 %), lo que tiende a subir los niveles de AMO (Kang *et al.*, 2015).

Contenido Ruminal de Ácido Láctico (AL)

Los resultados no mostraron diferencia significativa entre tratamientos ($P \geq 0.05$). El T1 no denotó caída alguna en los valores de AL, el nivel fue de 0.207 $\mu\text{g/ml}$ aproximados hasta 0.226 $\mu\text{g/ml}$ a 72 h. El T2 mostró una tendencia descendente hasta aproximadamente las 24 horas del experimento (desde 0.231 hasta 0.212 $\mu\text{g/ml}$), momento en el cual los niveles de AL comenzaron a elevarse desde 0.212 $\mu\text{g/ml}$ hasta alcanzar los 0.223 $\mu\text{g/ml}$ a las 72 horas de estudio. Lo anterior se muestra en la Gráfica 6. A pesar de las diferencias en el comportamiento entre tratamientos los valores de ambos siempre se mostraron muy cercanos durante todo el experimento. El ligero descenso de los niveles de AL puede atribuirse a la acción del probiótico que contribuye en el control de los factores de acides ruminal, como lo describen los estudios de Ruíz *et al.* (2016), creando ambientes favorables para organismos celulolíticos. Situación que coincide con los resultados de digestibilidad de FDN y FDA. Guedes *et al.* (2008) también encontraron en su trabajo con *Saccharomyces cerevisiae* en fermentación



Gráfica 6. Comportamiento del ácido láctico en las muestras líquido ruminal a través de las horas del experimento.
 T1= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa; T2= Rastrojo de maíz, heno de alfalfa, 15 mL de probiótico / kg de peso vivo

ruminal de ensilajes de maíz, que la presencia de lactato se redujo con respecto al tratamiento control (0.66 y 0.59 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente). Sin embargo las fracciones de AL siempre fueron en aumento en ambos tratamientos desde las 24 horas, lo que pudo deberse a la oxigenación constante vía cánula que sufrieron los animales debido principalmente a los muestreos lo que conllevó a reducir la presencia de microorganismos como la *Megasphaera elsdenii*, que aprovechan ácido láctico además de reducir la eficiencia de la *Candida norvegensis* del probiótico ya que tanto la *M. elsdenii* como la *C. norvegensis* funcionan mejor en ambientes anaeróbicos, lo anterior permitió traer como consecuencia el crecimiento de otros microorganismos como los lactobacilos que producen ácido láctico y tienden a aparecer en mayor número cuando se reduce la población de la *M. elsdenii* (Muya *et al.*, 2015). Cabe destacar que las diferencias entre tratamientos no fueron significativas, por lo tanto el contenido de AL se mantuvo muy cercano entre un tratamiento y otro. Además, los valores de AL resultaron muy bajos (0.22 $\mu\text{g/ml}$ en promedio en el T1 y 0.21 $\mu\text{g/ml}$ en el T2) comportamiento que puede ser explicado por la dieta compuesta exclusivamente de forrajes, cuya fermentación ruminal propicia una producción menor de ácidos orgánicos (Lorenz y Gentile, 2014; Plaizier *et al.*, 2014). Así en ninguno de los dos tratamientos se pudieron observar niveles de AL superiores a los 5 $\mu\text{g/ml}$ (Kraut y Madias, 2015).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El tratamiento inoculado con probióticos a base de *Candida norvegensis* (T2), presentó mayores valores en la degradación del rastrojo de maíz, así como en el desdoblamiento de fibra, mientras que el T1 fue superior solo en la degradación de proteína. Además los resultados mostraron que el contenido de amoníaco fue mayor en el tratamiento sin probiótico, posiblemente debido a que el amoníaco fue utilizado en la formación de proteína microbiana por los microorganismos celulolíticos. Los niveles de ácido láctico se comportaron ligeramente distintos pero se mantuvieron bajos en ambos tratamientos probablemente debido a la escasa cantidad de carbohidratos no estructurales en las dietas de los animales. Así, el probiótico mostró potencial como aditivo alimenticio para rumiantes ya que mejoró la capacidad de aprovechamiento de carbohidratos estructurales de los bovinos productores de carne involucrados en el estudio, sin embargo aún hacen falta estudios microbiológicos del ambiente ruminal para determinar qué tipo de bacterias u hongos estimulo su inclusión en las dietas. Además podría realizarse un experimento similar utilizando técnicas menos invasivas con la finalidad de no afectar el ecosistema del rumen y poder medir con más precisión los efectos del probiótico en cuestión.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Aziz, N. A., A. Z. Salem, M. M. El-Adawy, L. M. Camacho, A. E. Kholif, M. M. Elghandour y B. E. Borhami. 2015. Biological treatments as a mean to improve feed utilization in agriculture animals, an overview. *J Integ Agric.* 14:534-543.
- Angulo-Montoya, C. 2010. Crecimiento y requerimientos nutricionales de la levadura *Candida norvegensis* como activador ruminal. Disertación doctoral. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. Mex.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International. 18a ed. AOAC International. Maryland, E. U. A.
- Arosio, P., T. P. Knowles y S. Linse. 2015. On the lag phase in amyloid fibril formation. *Physic. Chemist. Chem. Phys.* 17(12), 7606-7618.
- Bernard, J. K. 2015. Milk yield and composition of lactating dairy cows fed diets supplemented with a probiotic extract. *Prof. Anim. Sci.* 31:354-358.
- Bezerra, T. K. A., A. R. R. de Araujo, E. S. do Nascimento, J. E. de Matos-Paz, C. A. Gadelha, T. S. Gadelha y M. S. Madruga. 2016. Proteolysis in goat "coalho" cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *Food Chem.* 196:359-366.
- Bidarkar, V. K., P. S. Swain, S. Ray y G. Dominic. 2014. Probiotics: Potential alternative to antibiotics in ruminant feeding. *Tren. Vet. Anim. Sci.* 1:1-4.
- Bolleter, W. T., J. C. Bushman y P. W. Tidwell. 1961. Spectrophotometric determination of ammonia as indophenol. *Anal. Chem.* 33: 592-594.
- Cabrera, E. J. I., M. G. D. Mendoza, I. E. Aranda, C. Garcia-Bojalil, G. R. Barcena y J. J. A. Ramos. 2000. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 83:49-55.
- Castillo-Castillo, Y., O. Ruiz-Barrera, M.E. Burrola-Barraza, Y. Marrero-Rodriguez, J. Salinas-Chavira, C. Angulo-Montoya, A. Corral-Luna, C. Arzola-Alvarez, M. Itza-Ortiz y J. Camarillo. 2016. Isolation and characterization of yeasts from fermented apple bagasse as additives for ruminant feeding. *Braz. J. of Microbiol.* Aceptado para publicación.

- Chaucheyras-Durand, F., N. D. Walker y A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 145:5-26.
- Chaucheyras-Durand, F., A. Ameilbonne, A. Bichat, P. Mosoni, F. Ossa y E. Forano. 2015. Live yeasts enhance fibre degradation in the cow rumen through an increase in plant substrate colonisation by fibrolytic bacteria and fungi. *J. Appl. Microbiol.* 20:560-570.
- Davidson, J. 1949. The colorimetric determination of lactic acid in milk and milk products. *J. Dairy Res.* 16:209-216.
- Elghandour, M. M., A. Z. Salem, J. S. M. Castañeda, L. M. Camacho, A. E. Kholif, y J. C. V. Chagoyán. 2015. Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. *J. Integ. Agric.* 14:526-533.
- Fraga, M., K. Perelmuter, M. J. Valencia, M. Martínez, A. Abin-Carriquiry, C. Cajarville y P. Zunino. 2014. Evaluation of native potential probiotic bacteria using an in vitro ruminal fermentation system. *Ann. Microbiol.* 64:1149-1156.
- Ghazanfar, S., M. I. Anjum, A. Azim y I. Ahmed. 2015. Effects of dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on growth performance, blood parameters, nutrient digestibility and fecal flora of dairy heifers. *J. Anim. Plant Sci.* 25:53-59.
- Guedes, C. M., D. Gonçalves, M. A. M. Rodrigues y A. Dias-da-Silva. 2008. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 145:27-40.
- Haddad, S. G. y S. N. Goussons. 2004. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 1186:343-348.
- INEGI. 2016. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Sistema para la Consulta del Anuario Estadístico del Estado de Chihuahua. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/biblioteca/ficha.aspx?upc=702825065> 409. Consultado 16 Abril 2016.

- Ishaq, S. L., C. J. Kim, D. Reis y A. D. G. Wright. 2015. Fibrolytic bacteria isolated from the rumen of North American moose (*Alces alces*) and their use as a probiotic in neonatal lambs. *J. PLOS ONE*. 10:1-25.
- Julien, C., J. P. Marden, E. Auclair, R. Moncoulon, L. Cauquil, J. L. Peyraud. Y C. Bayourthe. 2015. Interaction between live yeast and dietary rumen degradable protein level: effects on diet utilization in early-lactating dairy cows. *Agric. Sci*. 6:1-13.
- Kang, S., M. W., K. Phesatcha y T. Norrapoke. 2015. Effect of protein level and urea in concentrate mixture on feed intake and rumen fermentation in swamp buffaloes fed rice straw-based diet. *Tropical Anim. Health Prod*. 47:671-679.
- Kehaliew, G. K., G. Assefa, D. Fekadu y A. Zewdie-Wondatir. 2014. Growth performance of F1 Friesian X Boran crossbred dairy calves supplemented with effective microorganisms (EM) fermented wheat bran (Bokashi) in the central highlands of Ethiopia. *Glob. J. Sci. Fron. Res*. 14:1-7.
- Kraut, J. A., y N. E. Madias. 2015. Lactic acidosis. *NE J. Med*. 372: 2309-2319.
- Lila, Z. A., N. Mohammed. T. Yasui, Y. Kurokawa, S. Kanda y H. Itabashi. 2004. Effects of a twin strain of live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. *J. Anim Sci*. 82:1847-1854.
- Lorenz, I. y A. Gentile. 2014. D-lactic acidosis in neonatal ruminants. *J Vet Clin North America: Food Anim. Prac*. 30:317-331.
- McDonald, I. 1981. A revised model for estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agric. Sci*. 96:251-252.
- Muya, M. C., F. V. Nherera, K. A. Miller, C. C. Aperce, P. M. Moshidi y L. J. Erasmus. 2015. Effect of *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 dosing on rumen development, volatile fatty acid production and blood β -hydroxybutyrate in neonatal dairy calves. *J. Anim. Physi. Anim. Nutr*. 99:913-918.
- Nozière P. y B. Michaelt-Doreau. 2000. In sacco methods. *Farm animal metabolism and nutrition*. 10a ed. CABI Publishing. E. U. A.
- Ørskov, E. R. y I. McDonald. 1979. Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci*. 92:499-503.

- Puniya A. K., R. Singh y D. N. Kamra. 2015. Rumen microbiology: From evolution to revolution. 1a ed. Springer. E. U. A.
- Plaizier, J. K., S. Li, G. Gozho y E. Khafipour. 2014. Minimizing the Risk for Rumen Acidosis. Página 12 en Memorias de la XXIII Conferencia Triestatal de Nutrición Lechera, Ohio State University. Fort Wayne, Indiana. USA.
- Promkot, C., M. Wanapat y J. Mansathit. 2013. Effects of yeast fermented-cassava chip protein (YEFECAP) on dietary intake and milk production of Holstein crossbred heifers and cows during pre-and post-partum period. *Livest. Sci.* 154:112-116.
- Puniya, A. K., A. Z. Salem, S. Kumar, S. S. Dagar, G. W. Griffith, M. Puniya y R. Kumar. 2015. Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review. *J. Integ. Agric.* 14:550-560.
- Qadis, A. Q., G. O. Y. A. Satoru, K. Ikuta, M. Yatsu, A. Kimura, S. Nakanishi, y S. A. T. O. Shigeru, 2014. Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves. *J. Vet. Med. Sci.* 76:877.
- Rossow, H. A., D. DeGroff y M. Parsons. 2014. Performance of dairy cows administered probiotic in water troughs. *Prof. Anim. Sci.* 30:527-533.
- Ruiz, O., Y. Castillo, C. Arzola, E. Burrola, J. Salinas, A. Corral, M. E. Hume, M. Murillo y M. Itza. 2016. Effects of *Candida norvegensis* Live Cells on in vitro Oat Straw Rumen Fermentation. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 29:211-218.
- Sallam, S. M. A., A. M. Allam y S. A. Najadi. 2014. Comparison of Two Products of Direct-Fed Microbial Supplementation on the Nutrient Utilization and Ruminal Fermentation in Sheep. *J. Agric. Sci.* 6:159-167.
- SAS, 2007, User's Guide: Statistics, Version 9.6th Edition. SAS Institute, Inc., North Carolina, E. U. A.
- Tristant, D. y C. A. Moran. 2015. The efficacy of feeding a live probiotic yeast, Yea-Sacc®, on the performance of lactating dairy cows. *J. Appl. Anim. Nutr.* 3:90-95.

- Ushakova, N. A., R. V. Nekrasov, I. V. Pravdin, N. V. Sverchkova, E. I. Kolomiyets, y D. S. Pavlov. 2015. Mechanisms of the effects of probiotics on symbiotic digestion. *Bio.l Bull.* 42:394-400.
- Van Soest, P. V., J. B. Robertson, y A. B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Williams, N. T. 2010. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy.* 67:449-458.
- Zeoula, L. M., O. P. P. do Prado, L. J. V. Geron, J. R. F. Beleze, S. C. Aguiar y E. M. Maeda. 2014. Total digestibility and *In situ* degradability of bulky diets with the inclusion of ionophores or probiotics for cattle and buffaloes. *J Semin. Cienc. Agra.* 35:2063-2076.

**ESTUDIO II. COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CONSUMO DE
NUTRIENTES EN BORREGOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES DIETAS
INOCULADAS CON *Candida norvegensis***

RESUMEN

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CONSUMO DE NUTRIENTES EN
BORREGOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES DIETAS INOCULADAS CON

Candida norvegensis

POR:

M. C. JESÚS LÓPEZ MORONES

Doctorado en Philosophia

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D Oscar Ruíz Barrera

En este experimento se realizó una prueba de comportamiento con 32 ovinos en crecimiento, alimentados con cuatro dietas (concentrado: forraje): T1=75:25, T2=50:50, T3=25:75 y T4=75:25. A excepción del T1, el resto fueron inoculados con probiótico (15 ml/kg de PV). Se empleó un diseño experimental de bloques al azar. La prueba duró 105 d y los animales se pesaron cada 15 d. La GDP fue mayor en T4 tratamiento que a su vez denotó el menor valor de CA ($P \leq 0.05$). En el consumo de materia seca (CMS) T1 y T4 fueron los más destacados y no mostraron diferencia. Sin embargo, respecto al consumo de fibra el T2 obtuvo los valores más altos, probablemente debido a un efecto parcial del probiótico, en virtud de que cantidades elevadas de fibra en la dieta pueden deprimir el consumo voluntario como resultado del fenómeno físico de llenado de

rumen. Así el probiótico de *C. norvegensis* mostró efectos benéficos en el desarrollo de corderos como lo muestran la GDP y la CA.

ABSTRACT

GROWTH PERFORMANCE AND NUTRIENT INTAKE IN SHEEP FED WITH DIFFERENT DIETS INOCULATED WITH PROBIOTIC

BY:

JESUS LOPEZ MORONES

In this experiment, a growth performance testing was carried out with 32 growing lambs that were fed four diets varying in the ratio of concentrate: forage (C: F) (T1 = 75: 25, T2 = 50:50, T3 = 25: 75 and T4 = 75: 25). Except for the control treatment (T1), the other diets were inoculated with the probiotic (15 ml / kg BW). An experimental randomized block design was used. The trial lasted 105 d during which the animals were weighed every 15 d. The average daily gain (ADG) was significantly higher in T4 which also has the lowest value of CA ($P \leq 0.05$). Consumption of DM showed no difference between treatments. Thus, considering that the only difference with the control respect to T4 was the probiotic, a positive effect of this on the values of the variables under study is suggested. However, with respect to fiber intake, T2 obtained the highest value. As a conclusion, there is evidence that the probiotic contribute favorably to the development and growing of lambs, as show in ADG and FC.

INTRODUCCIÓN

En las explotaciones pecuarias siempre se debe contar con nutrientes que satisfagan las necesidades alimenticias de las especies de crianza (Mubi *et al.*, 2015). Sin embargo debido a problemas con ingredientes de baja calidad nutritiva como el rastrojo de maíz, la escasez de forrajes por falta de lluvias y sobrepastoreo, además del alza de precios de algunos granos de uso pecuario como el maíz, sumados a las continuas prohibiciones de aditivos como los antibióticos, han generado en algunos casos pérdidas considerables en los diversos hatos ganaderos del norte de México (Pour *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). La siembra de sorgo y maíz según Cardoen *et al.* (2015) proveen forrajes de bajo costo que pueden ser empleados en la engorda de ganado, sin embargo son de baja calidad nutritiva (NRC, 2000). Los ensilajes de forrajes secos, de acuerdo con Kung *et al.* (2015), han demostrado que la acción microbiana puede elevar el contenido de nutrientes de los rastrojos, pero existen otras alternativas como el uso de probióticos que se ha demostrado su capacidad para mejorar las funciones digestivas de los animales, permitiéndoles aprovechar de mejor manera nutrientes como las fibras. La investigación con este tipo de complemento alimenticio condujo a Castillo-Castillo *et al.* (2016) al aislamiento e identificación de la *C. norvegensis* cepa 15, microorganismo que demostró tener funciones reguladoras de pH ruminal que favorecen el desarrollo de microorganismos celulolíticos, así como de reducción de emisiones de metano. Así la *C. norvegensis* cepa15 fue señalada como un potencial activador ruminal

y recomendada para formar parte de raciones para rumiantes, sin embargo aún existen pocos datos reportados de su empleo en esta índole. Siendo así se planteó como objetivo de este estudio evaluar los efectos de dicho probiótico en el desarrollo de ovinos mestizos en crecimiento alimentados con cuatro diferentes dietas, una de ellas rica en concentrado, pero ausente de probiótico, para poner a prueba la hipótesis que sostiene que el aditivo de *Candida norvegensis*, al incrementar las funciones digestivas de los rumiantes, principalmente en el aprovechamiento de fibras, puede permitir a dichos animales alimentarse y desarrollarse adecuadamente con ingredientes de baja calidad nutritiva, contribuyendo así a reducir costos de alimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del Área de Estudio

El trabajo se llevó a cabo en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, ubicada en el Km 1 del Periférico Francisco R. Almada, a una altitud de 1435 msnm, y con una temperatura media anual de 18.2 °C con una precipitación media anual de 387.5 mm³. Su localización geográfica es a los 28° 38' latitud Norte y 106° 04' longitud Oeste, en la Ciudad de Chihuahua, Chih. (INEGI, 2016).

Unidades Experimentales

Para el presente trabajo se utilizaron 32 ovinos machos en crecimiento productores de carne, mestizos (pelibuey, dorper y katahdin), con un peso promedio inicial de 18.14 ± 0.2488 kg. Los animales fueron bloqueados por peso en cuatro grupos y estos fueron asignados al azar en 32 corraletas individuales de 2.5 X 2.5 m, con piso de tierra y techado de lámina, cada una con comederos y bebederos. Los ovinos fueron vacunados con Bovact ® y desparasitados con ivermectina e inyectados vía intramuscular con MUSE ® (vitamina E y selenito de sodio). Todos los individuos fueron marcados mediante aretes.

Tratamientos y Dietas de los Ovinos

Se probaron cuatro diferentes dietas: la número uno o control (T1) constó de 75 % de concentrado y 25 % de forrajes, la número dos (T2) 50 % de concentrado y 50 % de forrajes, la dieta tres (T3) 25 % de concentrado y 75 % de forraje y finalmente la número cuatro (T4) constó de las mismas proporciones

de nutrientes que el T1 (Cuadro 7). Las cuatro dietas constaron de 2.6 mcal/kg de energía metabolizable (EM) y 17 % de proteína cruda (PC). Todas las raciones a excepción del T1 fueron inoculadas con 15 ml/kg (3.0 g/día en base seca) de peso vivo de probiótico a base de *Candida norvegensis*. La composición química de las dietas se puede observar en el Cuadro 8.

Procedimiento Experimental

Los ovinos se separaron en ocho animales por tratamiento asignándole a cada grupo, una de las dietas a evaluar. Fueron alimentados una vez al día aproximadamente a las 8:00 horas, además se pesó y almacenó una muestra del alimento ofrecido y rechazado con la finalidad de determinar el consumo de PC, FDA y FDN de los borregos en prueba, para lo cual se llevaron a cabo dichas determinaciones mediante técnicas descritas por la AOAC (2005), en las muestras de alimento ofrecido a las cuales se les restaron los resultados obtenidos de las muestras de alimento rechazadas por los ovinos. El agua se ofreció a libre acceso. Los animales fueron pesados desde su llegada a los corrales y posteriormente cada 15 días mediante una báscula True-Test® con capacidad de 2000 kg y con cabezal True-Test® Ez Weigh. Para cada borrego se estimó la ganancia diaria de peso ($GDP \text{ kg / d} = \text{Peso inicial} - \text{Peso final} / \text{Edad en días}$), la conversión alimenticia ($CA = \text{Alimento consumido} / GDP$) y el consumo de materia seca (CMS) que fue determinado mediante la ecuación

$$CMS \text{ (kg / d)} = (EM / ENm) + (GE / ENg)$$

Cuadro 7. Composición por ingrediente de las raciones experimentales de la prueba de comportamiento

Ingrediente (%)	Tratamiento			
	1	2	3	4
Concentrado (%)	75	50	25	75
Maíz rolado	58.5	32.5	7.9	58.5
Rastrojo de maíz	15	30	30	15
Pasta de Soya	10	10	9.6	10
Alfalfa	10	20	45	10
Melaza	2.5	1	1.5	2.5
Urea	1.5	1.5	0.5	1.5
Sal	1	1	1	1
Premezcla de minerales	1	1	1	1
Grasa protegida	0.5	3	3.5	0.5

Cuadro 8. Composición química de las raciones experimentales de la prueba de comportamiento

	Tratamiento			
	1	2	3	4
MS	76.7	78.2	83.4	76.6
PC	17.09	17.45	17	17.16
EE	3.61	5.47	5.65	3.62
Cenizas	6.07	7.29	9.09	6.07
FC	8.42	14.30	18.50	8.40
EM	2.62	2.45	2.30	2.63

MS = Materia seca, PC = Proteína cruda, EE= Extracto etéreo, Cenizas = Cenizas totales (materia mineral), FC = Fibra cruda, EM = Energía metabolizable.

Donde EM = (energía de mantenimiento, Mcal / d) $0.56 \times$ Peso corporal metabólico $^{0.75}$ (NRC, 2000); GE = (ganancia de energía, Mcal / d) $0.276 \times$ GDP \times Peso corporal metabólico $^{0.75}$ (NRC, 2000); ENm = (energía neta de mantenimiento, Mcal / kg) 1.54 y ENg = (energía neta ganada, Mcal / kg) 0.88. (Canton *et al.*, 2009a; Canton *et al.*, 2009b y Macías-Cruz *et al.*, 2010). El coeficiente 0.293 fue obtenido considerando que el peso adulto aproximado de un macho Dorper \times Pelibuey \times Kathadin es de 120 kg (Canton y Quintal, 2007). Los valores de ENm y ENg fueron estimados mediante la composición química de la dieta de acuerdo a las tablas y procedimientos descritos en NRC (NRC, 2000).

Análisis Estadístico

El experimento se analizó mediante un diseño de bloques al azar, considerando como efecto fijo a los tratamientos y efecto aleatorio a los bloques. Las variables de respuesta fueron: CMS, GDP y CA. El análisis estadístico fue realizado utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2007). Los valores de $P \leq 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Se consideró como H0 a que todas las dietas mostraran los mismos efectos sobre las variables productivas de los ovinos, y como H1 a que las dietas mostraran efectos diferentes sobre las variables productivas de los animales del estudio. Se utilizó el comando lsmeans para la comparación de medias.

El modelo de bloques al azar fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ij} = Variables respuesta (GDP, CA, CMS, CPC, CFDN, CFDA).
 μ = Media general.
 α_i = Efecto del tratamiento.
 β_j = Efecto del bloque.
 ε_{ij} = Error

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados finales del experimento de comportamiento en ovinos pueden ser observados en el Cuadro 9.

Ganancia Diaria de Peso (GDP)

Se encontró diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$). El tratamiento cuatro (T4) obtuvo los mejores resultados con un promedio de 0.21kg/día de GDP y un peso promedio al final de la prueba (PF) de 40.58, mientras que el tratamiento dos (T2) obtuvo el mismo promedio de GDP y de PF que el tratamiento control (T4), situación que puede ser corroborada en las Gráficas 7 y 8. Dicho comportamiento va de acuerdo con lo encontrado en el experimento 1, debido a que en él se observó que el probiótico de *C. norvegensis* incrementó la capacidad de los microorganismos del rumen para aprovechar materia seca y fibra, situación que tiende a incrementar variables productivas como la GDP en rumiantes post destete (Whitley *et al.*, 2009). Además López *et al.* (2015) en su estudio con el probiótico Sorbifauna y hongos *Pennisetum pupureum* en el desarrollo de corderos Pelibuey, encontraron una notable mejora en la ganancia diaria de peso (0.136kg/día en promedio, contra los 0.130kg/día del grupo de control). Tripathi y Karim (2010) quienes trabajaron con levaduras (*Kluyveromyces marximanus* NRRL3234, *Saccharomyces cerevisiae* NCDC42 y *Saccharomyces uvarum* ATCC9080) inoculadas en el alimento de corderos en crecimiento, obtuvieron mejores resultados en el desarrollo de los ovinos alimentados con probióticos a comparación de los del grupo de control. Sin embargo los resultados contrastan

Cuadro 9. Efecto de la levadura sobre los valores promedio de ganancia diaria de peso, eficiencia de conversión alimenticia y consumo de materia seca, proteína cruda, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido (base seca) de las cuatro raciones experimentales.

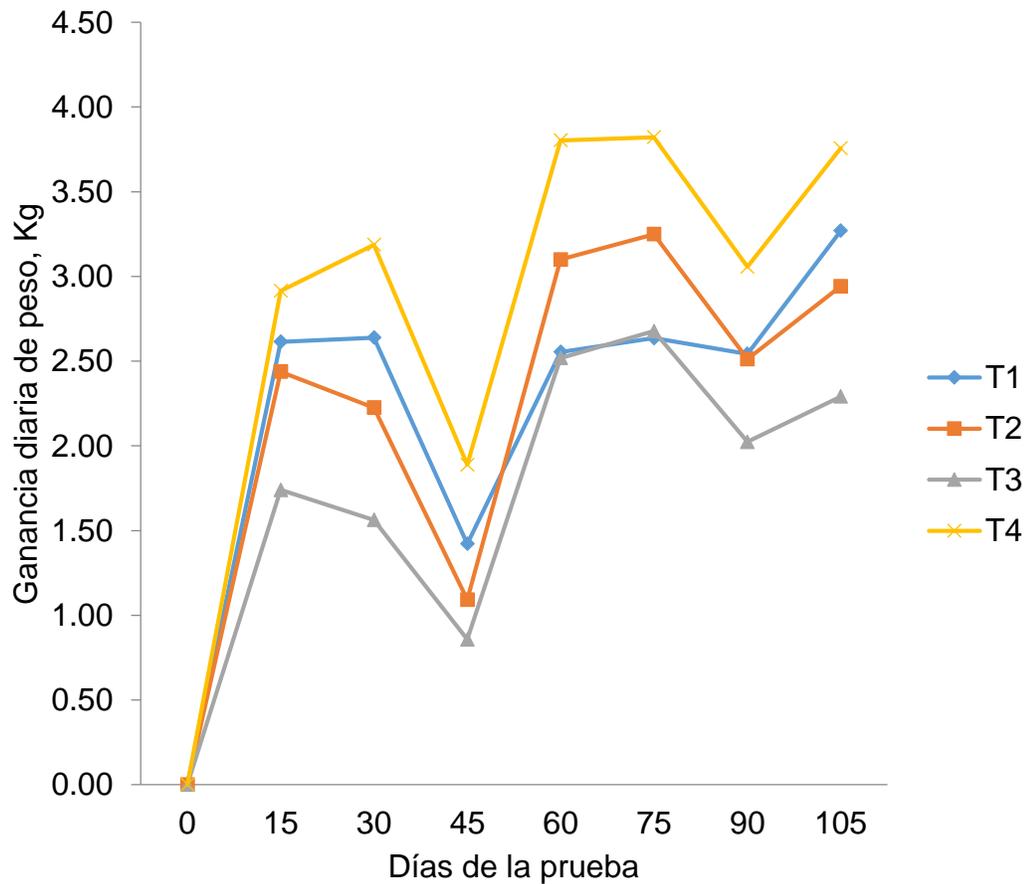
Característica	Tratamiento				E.E.
	1	2	3	4	
Corderos	8	8	8	8	
PI (Kg)	18.09	17.93	18	18.05	0.07
PF(Kg)	36.08 ^a	36.07 ^a	31.67 ^b	40.58 ^c	3.64
GDP (Kg/día)	0.17 ^a	0.17 ^a	0.13 ^b	0.21 ^c	0.14
CA	5.23 ^{ac}	4.86 ^{ab}	6.47 ^c	4.24 ^b	0.94
CMS (g/día)	889.50	827.10	841.12	891.78	63.83
PCC (g/día)	147.63 ^a	134.39 ^a	116.03 ^b	152.22 ^a	16.23
FDNC (g/día)	148.82 ^a	210.89 ^b	153.73 ^a	148.84 ^a	30.30
FDAC (g/día)	78.66 ^a	142.54 ^b	105.15 ^c	87.56 ^a	28.27

E.E. = Error estándar de la media.

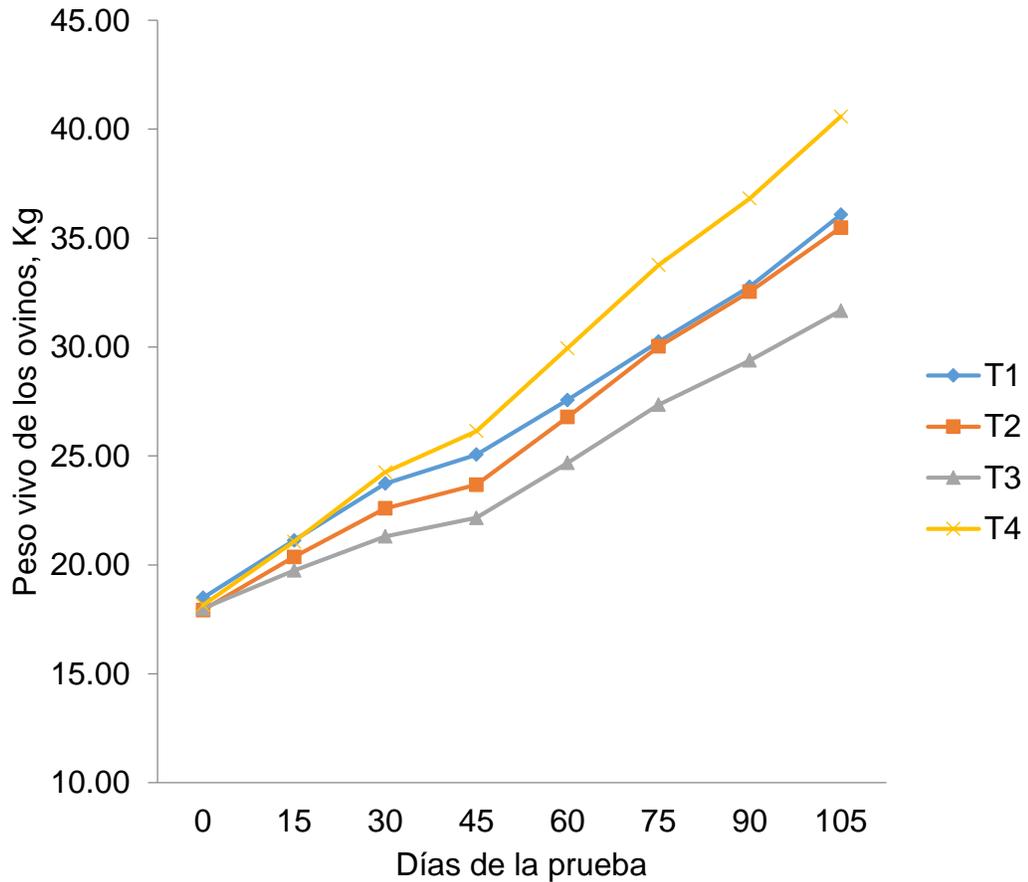
V.P. = Valor de P.

^{abc} Medias en la misma fila con diferente letra difieren significativamente.

PI = Peso inicial, PF = Peso final, GDP = Ganancia diaria de peso, CA = Conversión alimenticia, CMS = Materia seca consumida, PCC = Proteína cruda consumida, FDNC = Fibra detergente neutro consumida, FDAC = Fibra detergente ácido consumida.



Gráfica 7. Efecto de la levadura sobre los valores promedio de la ganancia diaria de peso en las cuatro raciones experimentales.
 T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo



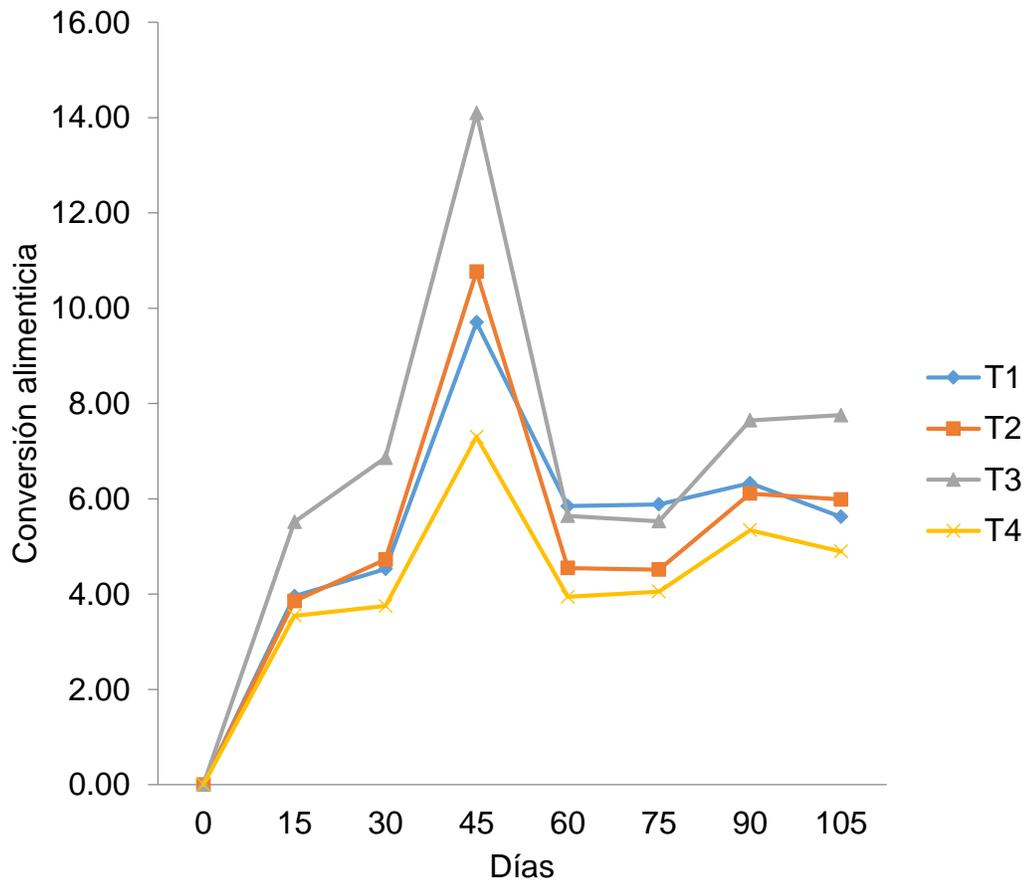
Gráfica 8. Efecto de la levadura sobre los valores promedio del peso vivo en las cuatro raciones experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo

con lo descrito por Tripathi *et al.* (2008) un estudio anterior del mismo autor en el que no se encontró significancia en el beneficio de los probióticos durante el desarrollo de corderos. Gadekar *et al.*, 2015 tampoco reportaron resultados favorables en cuanto al desarrollo de corderos Malpura alimentados con *Saccharomyces cerevisiae*. Cabe destacar que alrededor de los 45 días de la prueba disminuyó la GDP en casi todos los animales, situación que pudo deberse a la aparición de fugas de agua, que provocaron la interrupción del suministro en los bebederos, coincidiendo con lo expresado por McDonald *et al.* (2011) quienes en su estudio destacaron como los animales en crecimiento requieren de un sustento diario de agua de lo contrario presentan problemas de desarrollo. A los 90 días, a raíz de las lluvias, surgió un problema de encharcamiento de corrales que provocó situaciones de estrés en algunos animales, pudiendo afectar nuevamente la GDP (McEwen, 2000).

Conversión Alimenticia (CA)

Se encontró significancia en la diferencia entre tratamientos ($P \leq 0.05$). El T4 obtuvo el valor más bajo de CA con un promedio de 4.24, por lo que los animales alimentados con dicha dieta requirieron menor cantidad de materia seca para adquirir peso vivo. Nuevamente el T1 y el T2 se comportaron de manera semejante con 5.23 y 4.86 en promedio respectivamente (Gráfica 9). La inclusión del probiótico en las dietas pudo tener influencia ya que el tanto el T4 como el T2 mostraron menores valores con respecto al T1 (control). Así los resultados de la prueba de CA coincidieron con Kumar *et al.* (2014) quienes trabajando con



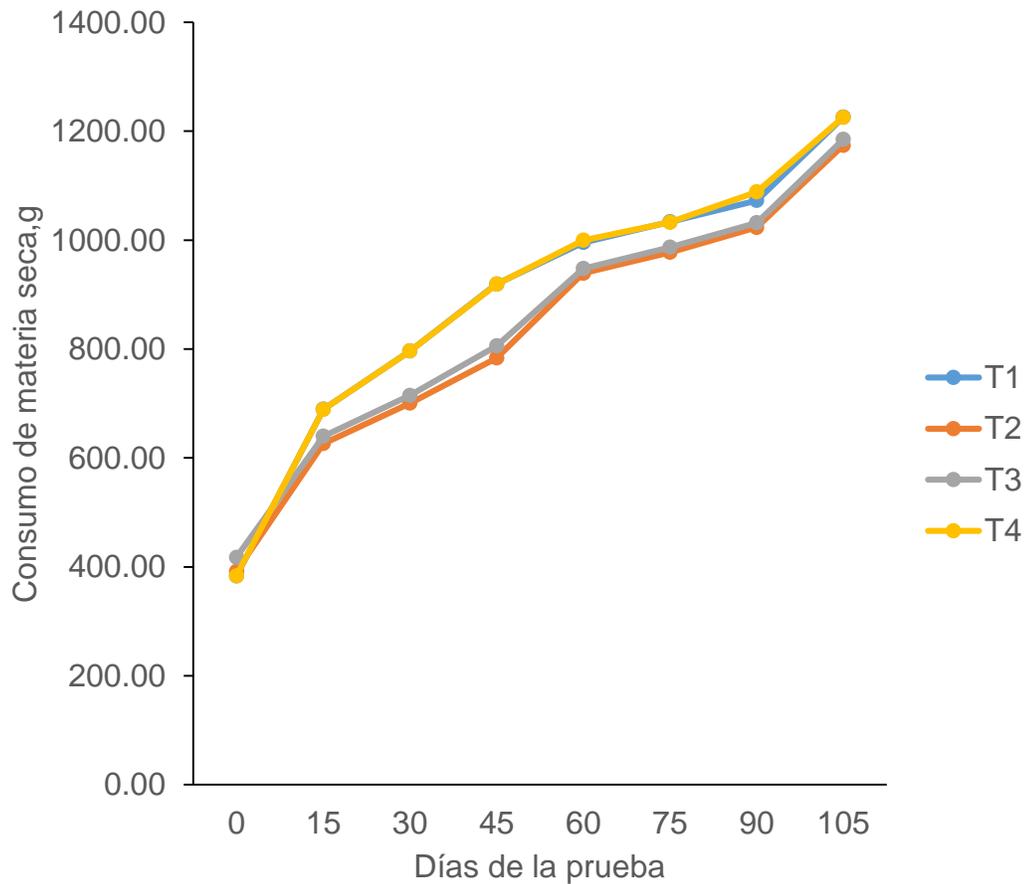
Gráfica 9. Efecto de la levadura sobre los valores promedio de la conversión alimenticia en las cuatro raciones experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo

Streptococcus gallolyticus en el desarrollo de cabras, pudieron dilucidar que los animales alimentados con dicha cepa mostraron mejor CA. Kim *et al.* (2007) en su estudio con probióticos en engorda de ovinos, observaron que el probiótico tuvo influencia favorable en la CA de los corderos de su experimento, además su desarrollo se vio influenciado por el tipo de ración utilizada. El comportamiento de los animales pudo deberse además a que la acción de los probióticos puede mejorar las condiciones ruminales, contribuyendo a desdoblar porciones menos digestibles de las fibras, proteger el tracto digestivo de patógenos, entre otras funciones aumentando el aprovechamiento de los nutrientes por parte del huésped (Abdelrahman and Hunaiti, 2008; Jang *et al.*, 2009; Musa *et al.*, 2009; Khalid *et al.*, 2011; Zapasnikienė y Juška, 2013; Sadrsaniya *et al.*, 2015).

Consumo de Materia Seca (CMS)

Existió diferencia significativa entre tratamientos ($P \geq 0.05$). El T1 y el T4 mostraron un comportamiento muy semejante, mientras que el T3 fue el que presentó menor aceptación por parte de los animales ($P \geq 0.05$). Lo anterior se puede observar en la Gráfica 10. La palatabilidad del T3 pudo deberse al alto contenido de rastrojo de maíz que lo constituía, ya que dicho ingrediente cuando se sirve solo o en grandes cantidades no tiene gran aceptación por los animales (Baumont *et al.*, 2000; Scharenberg *et al.*, 2007). Además fue servido a los animales en un tamaño de partícula inadecuado, mayor a 5mm (Minson, 1990; Inoue *et al.*, 1994; Hadjigeorgiou *et al.*, 2003) por carecer de una criba que



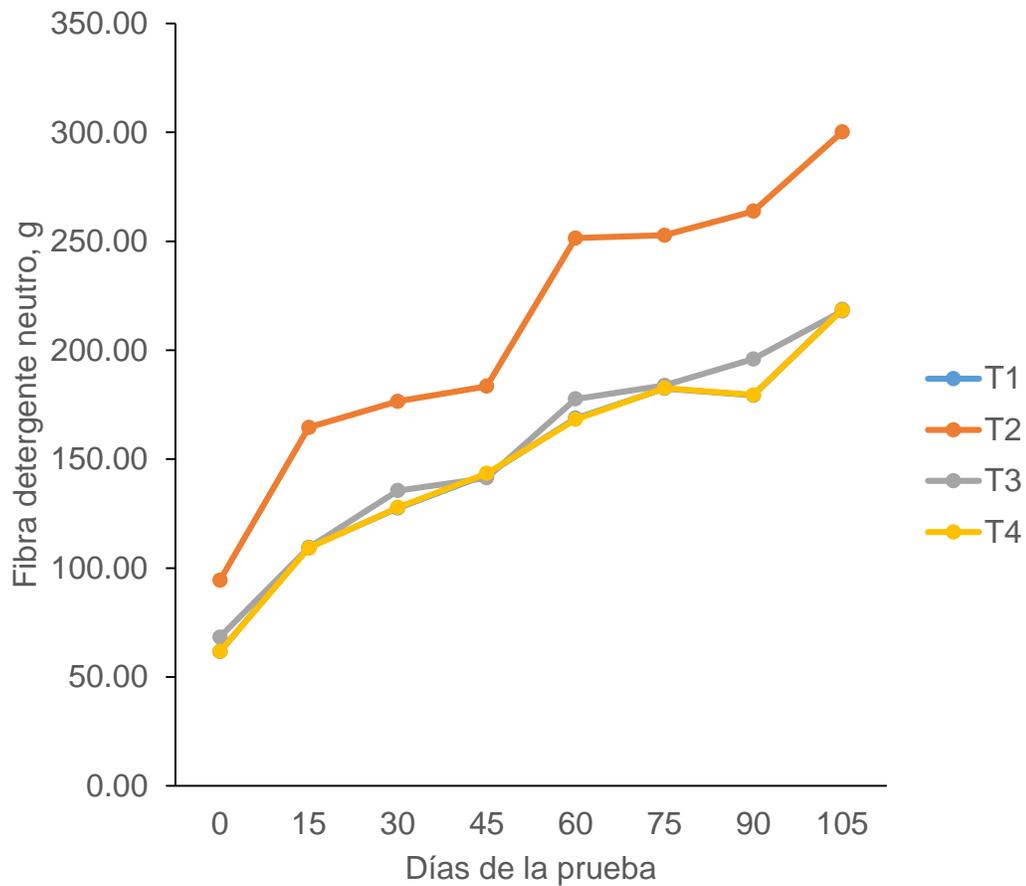
Gráfica 10. Consumo de materia seca de los ovinos en las cuatro dietas experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo

permitiera moler más finamente dicho insumo. Además se presentó una reducción del consumo alrededor de los 45 días del experimento, debido en gran parte a problemas de disponibilidad de agua, coincidiendo con lo expuesto por Detman *et al.* (2014) quienes describen como el acceso al agua influencia el consumo de las raciones en una explotación de esta índole. De acuerdo con Hackmann y Spain (2010) la edad de los animales también pudo haber afectado el CMS, ya que entre más crecían sus requerimientos diarios de alimento se vieron incrementados también. Finalmente, no se pudo observar una influencia favorable del probiótico de *C. norvegensis* en el consumo de las raciones inoculadas.

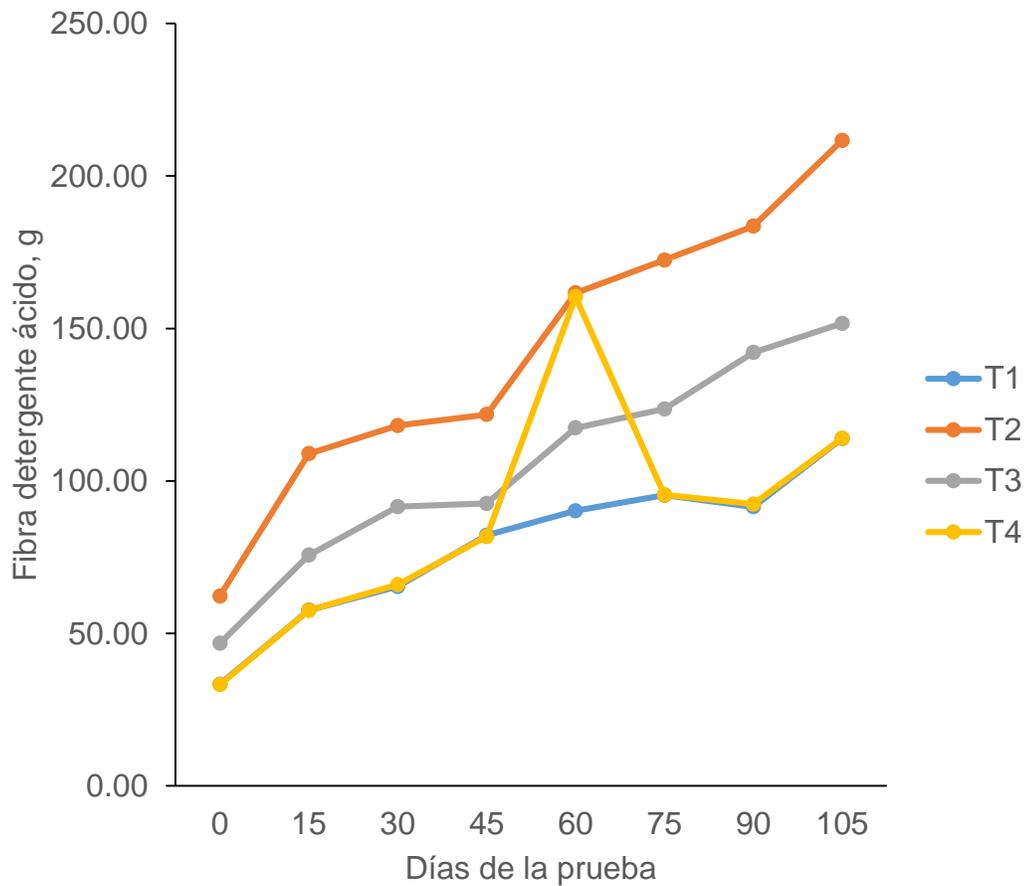
Fibra Detergente Neutro y Ácido Consumidas (FDNC y FDAC)

Existió significancia en el efecto de tratamientos ($P \leq 0.05$). El T2 resultó superior en el consumo de FDN, a pesar de tener un menor contenido de fibra que el T3 (Gráfica 11). En los resultados de la FDA se observó diferencias significativas entre tratamientos. Nuevamente el T2 se destacó de los demás en el consumo de carbohidratos estructurales (Gráfica 12). El comportamiento de los tratamientos pudo deberse al rechazo del T3 por parte de los animales, debido a las situaciones descritas con anterioridad en los resultados de consumo de MS, además del contenido más bajo en fibras del T1 y T4, cuya composición química los situó como las dietas con menor aporte de FDN y FDA. Así el contenido de fibra (Mancilla-Leytón *et al.*, 2014; Niderkorn *et al.*, 2014) además de la palatabilidad, pudieron haber jugado un papel fundamental en el aporte de dicho



Gráfica 11. Consumo de fibra detergente neutro de los ovinos en las cuatro dietas experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo



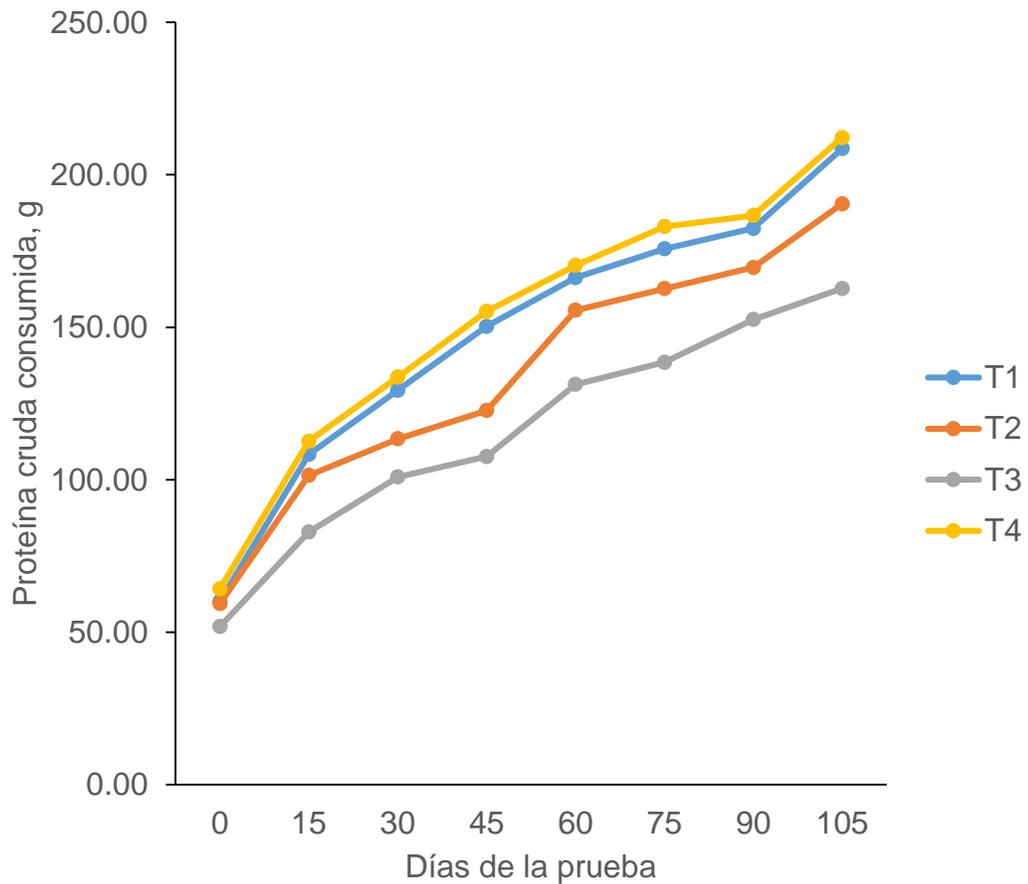
Gráfica 12. Consumo de fibra detergente ácido de los ovinos en las cuatro dietas experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo

nutriente en las dietas. Lo anterior coincidió con lo reportado por Paredes *et al.* (2014) en cuyo trabajo de alimentación de alpacas se pudo observar como el tratamiento uno (58.24 % de FDN), resultó tener más aceptación que los otros tres tratamientos (61.38, 66.31 y 70.22 % de FDN). Quiroz-Cardoso *et al.* (2015) en su experimento con tres diferentes dietas a base de frutos de acacia, en la alimentación de ovejas y cabras, la palatabilidad se vio afectada en parte por el contenido de FDA, ya que el tratamiento 3 que poseía menos FDA (383.8 g/kg de MS) de las tres dietas con frutas de acacia, presentó un índice de palatabilidad de 3.42, mientras que el tratamiento 4 dotado con el mayor contenido de FDA (611.3 g/Kg de MS), solo mostró un índice de palatabilidad de 1.43.

Proteína Cruda Consumida (PCC)

El consumo de PC presentó significancia en el efecto de tratamientos ($P \leq 0.05$). Siendo así el T4 resultó ser el de mayor aporte de PC ($P \leq 0.05$), a pesar de tener casi los mismos ingredientes que el T1 (Gráfica 13), por lo que el contenido de proteína del probiótico pudo haber incrementado el aporte de nitrógeno del T4. Así los resultados coinciden con lo reportado por Das *et al.* (2015) ya que en su trabajo con *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae* y *Lactobacillus plantarum*, la acción microbiana sobre los sustratos pudo cambiar el contenido de proteína en ellos. Además Zhu *et al.* (2013) observaron que el *Trametes versicolor* podía incrementar el contenido de PC al doble en un sustrato de rastrojo de maíz. Shrivastava *et al.* (2012) demostraron en su estudio de fermentación en estado sólido, que los hongos, en este caso *Ganoderma sp.*



Gráfica 13. Consumo de proteína cruda de los ovinos en las cuatro dietas experimentales.

T1= 75 % Concentrado, 25 forraje; T2= 50 % Concentrado, 50 % forraje; T3= 25 % Concentrado, 75 % forraje; T4= 75 % Concentrado, 25 % de forraje, 15mL de probiótico/kg de peso vivo

rckk02 son capaces de cambiar el contenido nutritivo de los alimentos fibrosos, ya que incrementó hasta en un 57.13% el contenido de proteína de paja de trigo. El T3 presentó un aporte de PC más bajo a comparación de los otros tratamientos ($P \leq 0.05$), a pesar de que todos ellos eran isoprotéicos, comportamiento que puede atribuirse además del contenido de proteína modificado en parte por la acción del probiótico, nuevamente a la baja palatabilidad del T3. Situación que concuerda con Neto *et al.* (2014) en donde el consumo del alimento influyó notablemente la obtención de proteína por parte de los animales de su estudio.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El tratamiento cuatro (T4) obtuvo los valores más favorables de ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA), sobrepasando en dichas variables al tratamiento control (T1) cuya única diferencia con el T4 era la ausencia de probiótico, además de que mostró un consumo igual de materia seca durante todo el experimento. Otro factor a considerar es que el tratamiento dos (T2) pudo igualar en desempeño al T1 a pesar de contar con menor porcentaje de concentrado. En la prueba de consumos de MS, FDN y FDA cabe denotar que existió una mejor aceptación de los tratamientos 1 y 4 por parte de los ovinos sin embargo a pesar de esto el tratamiento dos (T2) aportó una mayor cantidad de FDN y FDA a los animales del estudio, lo que sumado al contenido de probiótico podría explicar como el T2 prácticamente equiparó al T1 (a pesar de su aporte superior de PC) en la GDP y la CA, ya que el aditivo a base de *C. norvegensis* pudo haber mejorado el aprovechamiento de fibra de los borregos alimentados con el T2. Lo anterior coincidió por lo tanto con los resultados del experimento 1, en donde dicho microorganismo potenció la capacidad del rumen para desdoblar carbohidratos no estructurales. El T3 padeció del problema de palatabilidad por lo que es difícil determinar si también podría tener potencial para igualar el rendimiento del T1. Siendo así el probiótico a base de levaduras *Candida norvegensis* contribuyó favorablemente en el comportamiento de las dietas, mejorando así la condición general de los animales tratados. Sin embargo aún se necesitan más pruebas en situaciones más controladas como corraletas con

piso de concreto para evitar el encharcamiento de los corrales, instalaciones funcionales de bebederos y equipo más eficiente como un molino de forrajes que permita reducir más las partículas de rastrojo para evitar el rechazo. También se pueden realizar pruebas de comportamiento en aves y mamíferos mono gástricos para medir el desempeño del probiótico en especies no rumiantes.

LITERATURA CITADA

- Abdelrahman M. M. y D. A. Hunaiti. 2008. The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs. *Livest. Sci.* 115: 235-241.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International. 18a ed. AOAC International. Gaithersburg, Md.
- Baumont, R., S. Prache, M. Meuret y P. Morand-Fehr. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* 64:15-28.
- Canton, J. G. y J. A. Quintal. 2007. Evaluation of growth and carcass characteristics of pure Pelibuey sheep and their cross with Dorper and Katahdin breeds. *J. Dairy Sci.* 90:571-571.
- Canton G. J., Q. R. Bores, R. J. Baeza, F. J. Quintal, R. R. Santos y C. C. Sandoval. 2009-a. Growth and efficiency of pure and F1 Pelibuey lambs crossbred with specialized breeds for production of meat. *J. Anim. Vet. Adv.* 8:26-32.
- Canton G.J., Q. R. Bores, R. J. Baeza, F. J. Quintal, R. R. Santos, y C. C. Sandoval. 2009-b. Energy retention of F1 Pelibuey lambs crossbred with breeds for meat production. *J. Anim. Vet. Adv.* 8:2655-2661.
- Cardoen, D., P. Joshi, L. Diels, P. M. Sarma y D. Pant. 2015. Agriculture biomass in India: Part 1. Estimation and characterization. *Resour. Conserv. Recy.* 102:39-48.
- Castillo-Castillo, Y., O. Ruiz-Barrera, M.E. Burrola-Barraza, Y. Marrero-Rodriguez, J. Salinas-Chavira, C. Angulo-Montoya, A. Corral-Luna, C. Arzola-Alvarez, M. Itza-Ortiz y J. Camarillo. 2015. Isolation and characterization of yeasts from fermented apple bagasse as additives for ruminant feeding. *Braz. J. of Microbiol.* Aceptado para publicación.
- Das, A. J., D. Seth, T. Miyaji y S. C. Deka. 2015. Fermentation optimization for a probiotic local northeastern Indian rice beer and application to local cassava and plantain beer production. *J. Inst. Brew.* 121:273-282.
- Detmann E., M. P. Gionbelli y P. Huhtanen. 2014. A meta-analytical evaluation of the regulation of voluntary intake in cattle fed tropical forage-based diets. *J. Anim. Sci.* 92:4632-4641.

- Wittum, T. E. 2012. The challenge of regulating agricultural ceftiofur use to slow the emergence of resistance to extended-spectrum cephalosporins. *Appl Environ. Microbiol.* 78:7819-7821.
- Gadekar, Y. P., A. K. Shinde, A. Sahoo y S. A. Karim. 2015. Effect of probiotic supplementation on carcass traits and meat quality of Malpura lambs. *Indian J. Small. Rumin.* 21:306-310.
- Hadjigeorgiou, I. E., I. J. Gordon y J. A. Milne. 2003. Intake, digestion and selection of roughage with different staple lengths by sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 47:117-132.
- Hackmann, J. y J. N. Spain. 2010. A mechanistic model for predicting intake of forage diets by ruminants. *J. Anim. Sci.* 88:1108-1124.
- INEGI. 2014. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Sistema para la Consulta del Anuario Estadístico del Estado de Chihuahua. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/biblioteca/ficha.aspx?upc=702825065> 409. Consultado 16 Abril 2016.
- Inoue, T., I. M. Brookes, A. John, E. S. Kolver y T. N. Barry. 1994. Effects of leaf shear breaking load on the feeding value of perennial ryegrass (*Lolium pevenne*) for sheep. II. Effects on feed intake, particle breakdown, rumen digesta outflow and animal performance. *J. Agric. Sci.* 123:37-147.
- Jang D, Y. Oh, H. KyongPiao, L. GuoChoi, H. BongYun, J. HyeonKim, Y. Yong. 2009. Evaluation of probiotics as an alternative to antibiotic on growth performance, nutrient digestibility, occurrence of diarrhea and immune response in weaning pigs. *J. Anim. Sci. and Tech.* 51: 751-759.
- Khalid, M. F., M. A. Shahzad, M. Sarwar, A. U. Rehman, M. Sharif y N. Mukhtar. 2011. Probiotics and lamb performance: A review. *African J. Agric. Res.* 6:5198-5203.
- Kim, S. C., A. T. Adesogan, L. Badinga y C. R. Staples. 2007. Effects of dietary n-6: n-3 fatty acid ratio on feed intake, digestibility, and fatty acid profiles of the ruminal contents, liver, and muscle of growing lambs. *J. Anim. Sci.* 85:706-716.
- Kumar, K., L. C. Chaudhary, N. Agarwal y D. N. Kamra. 2014. Effect of feeding tannin degrading bacterial culture (*Streptococcus gallolyticus* strain TDGB 406) on nutrient utilization, urinary purine derivatives and growth

- performance of goats fed on *Quercus semicarpifolia* leaves. *J. Anim. Physiol.* 98:879-885.
- Kung, L., J. M. Lim, D. J. Hudson, J. M. Smith y R. D. Joerger. 2015. Chemical composition and nutritive value of corn silage harvested in the northeastern United States after tropical storm Irene. *J. Dairy Sci.* 98(3): 2055-2062.
- López, Y., J. Arece, F. Ojeda y M. Molina. 2015. Effect of the inclusion of the Sorbifauna probiotic in the diet of confined weaned sheep. *Pas. Forag.* 38:202-206.
- Macías-Cruz, U., F. D. Álvarez-Valenzuela, J. Rodríguez-García, A. Correa-Calderón, N. G. Torrentera-Olivera, L. Molina-Ramírez, y L. Avendaño-Reyes. 2010. Crecimiento y características de canal en corderos Pelibuey puros y cruzados F1 con razas Dorper y Katahdin en confinamiento. *Arch. Med. Vet.* 42:147-154.
- Mancilla-Leytón, J. M., R. Joffre y A. M. Vicente. 2014. Effect of grazing and season on the chemical composition of Mediterranean shrub species in Doñana Natural Park, Spain. *Journal of Arid Environments.* 108:10-18.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair y R. G. Wilkinson. 2011. *Animal Nutrition.* 7a ed. Editorial Prentice Hall. E.U.A.
- McEwen, B. S. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res.* 886:172-189.
- Minson, D. 1990. *Forage in ruminant nutrition.* 1a ed. Editorial Elsevier. E.U.A.
- Mubi, A. A., A. Midau y Z. Z. Uri. 2015. Evaluation of Nutrients Composition of some Selected Forages in the Livestock Research Farm Adamawa State University. *J. Anim. Sci. Adv.* 5:1151-1156.
- Musa H. H., S. L. We, C. H. Zhu, H. I. Seri, G. Q. Zhu. 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8: 313-321.
- Neto, J. V. E., G. dos Santos Difante, E. M. de Aguiar, L. S. Fernandes, H. C. B. Oliveira y M. G. da Trindade-Silva. 2014. Performance of meat sheep, chemical composition and structure of tropical pasture grasses managed under intermittent capacity. *Biosci. J.* 30:834-842.

- Niderkorn, V., C. Martin, R. Baumont, A. Hopkins, R. P. Collins, M. D. Fraser y R. P. H. Robson. 2014. Associative effects between forage species on intake and digestive efficiency in sheep. *Fut. Euro Grassl. Anim.* 3:951-960.
- NRC. 2000. *Nutrient Requirements of Beef Cattle: Update 2000*. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. E.U.A.
- Paredes, J., H. San Martín, J. Olazábal y M. Ara. 2014. Efecto del nivel de fibra detergente neutra sobre el consumo en la alpaca (*Vicugna pacos*). *Rev. Invest. Vet. Per.* 25:205-212.
- Pour, a. j., H. Aqababa y H. Eftekhari. 2015. Green chicken without antibiotics produced by replacing the methanol extract of alfalfa (*Medicago sativa*) and remove antibiotics and effects on liver function enzymes and poultry performance in terms of weight gain. *Cum. Sci. J.* 36:1747-1751.
- Quiroz-Cardosoa, F., S. Rojas-Hernándezb, J. Olivares-Pérezb, E. Hernández-Castroa, y R. Jiménez-Guillénc. 2015. Composición nutricional, consumo e índices de palatabilidad relativa de los frutos de tres acacias en la alimentación de ovejas y cabras. *Arch. Med. Vet.* 47:33-38.
- Sadrsaniya, D. A., A. P. Raval, S. R. Bhagwat y A. Nageshwar. 2015. Effects of Probiotics Supplementation on Growth and Nutrient Utilization in Female Mehsana Buffalo Calves. *J In Vet.* 92:20-22.
- SAS, 2007, *User's Guide: Statistics, Version 9.6th Edition*. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Scharenberg, A., Y. Arrigo, A. Gutzwiller, C. R. Soliva, U. Wyss, M. Kreuzer y F. Dohme. 2007. Palatability in sheep and in vitro nutritional value of dried and ensiled sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*), and chicory (*Cichorium intybus*). *Arch. Anim. Nutr.* 61:481-496.
- Shrivastava, B., P. Nandal, A. Sharma, K. K. Jain, Y. P. Khasa, T. K. Das y R. C. Kuhad. 2012. Solid state bioconversion of wheat straw into digestible and nutritive ruminant feed by *Ganoderma* sp. *Biores. Tech.* 107:347-351.
- Tripathi, M. K. y S. A. Karim. 2010. Effect of individual and mixed live yeast culture feeding on growth performance, nutrient utilization and microbial crude protein synthesis in lambs. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 155:163-171.

- Tripathi, M. K., S. A. Karim, O. H. Chaturvedi y D. L. Verma. 2008. Effect of different liquid cultures of live yeast strains on performance, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in lambs. *J. Animal Physiol* 92:631-639.
- Wang, K., L. Ou, T. Brown, R. C. Brown. 2015. Beyond ethanol: a techno-economic analysis of an integrated corn biorefinery for the production of hydrocarbon fuels and chemicals. *Biof Bioprod Bioref.* 9:190-200.
- Whitley, N. C., D. Cazac, B. J. Rude, D. Jackson-O'Brien y S. Parveen. 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. *J. Anim. Sci.* 87:723–728.
- Zapasnikienė, B. y R. Juška. 2013. The effect of probiotic SCD BIO LIVESTOCK™ on the weight of newborn lambs and their growth till weaning. *GMD Anim. Husb. Scient. Art.* 61:60-68.
- Zhu, Y., H. Zhang, Y. Zhang y F. Huang. 2013. Lignocellulose degradation, enzyme production and protein enrichment by *Trametes versicolor* during solid-state fermentation of corn stover. *AF J. Biotech.* 10:9182-9192.