

**UTILIZACIÓN DE UN HIDROLIZADO DE LA LEVADURA  
SACAROMYCES CEREVISEAE COMO ACTIVADOR DE LA  
FERMENTACIÓN RUMINAL EN RUMIANTES.**

**Ing. Lildrey Torres Hernández**

*Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Vía Blanca Km.3,  
Matanzas, Cuba.*

## Resumen.

En este trabajo se describen los efectos que trae consigo la utilización de un hidrolizado de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como activador de la fermentación ruminal en rumiantes. Se profundiza en el papel que juegan los microorganismos ruminales en el aprovechamiento de los alimentos fibrosos, así como la importancia que estos revisten en los procesos de síntesis y degradación que ocurren en el rumen. Se describe las técnicas que se utilizan para manipular la fermentación ruminal según el propósito que se desee y los procedimientos para obtener el hidrolizado, destacándose los mecanismos de acción que ejercen en la digestión de rumiantes.

*Palabras claves:* aditivos microbianos, microorganismos ruminales, fermentación ruminal.

---

## Introducción

Los animales rumiantes como vacunos, ovinos y caprinos, constituyen una de las principales fuentes de proteína animal para la alimentación humana. Esto los convierte en un sector importante dentro de la rama agropecuaria. Su papel en la cadena alimentaria es particularmente prominente ya que son capaces de digerir alimentos fibrosos y utilizar fuentes de nitrógeno no proteico, que el hombre ni los animales monogástricos pueden aprovechar, por carecer de las enzimas digestivas capaces de romper las uniones  $\beta$ 1-4 de la glucosa en las cadenas de los polisacáridos estructurales.

Los rumiantes se distinguen de los animales monogástricos por el desarrollo de tres compartimentos dispuestos antes del verdadero estómago o abomaso, (retículo, rumen y omaso) conocidos como preestómagos los cuales poseen una mucosa aglandular (epitelio sin capacidad de producir jugos con función digestiva) que facilita la degradación del alimento con la consecuente utilización de la fibra y el nitrógeno no proteico (Wu y Papas, 1997). Poseyendo el último de los cuatro (el abomaso) una estructura glandular equivalente a la del estómago simple en los monogástricos (Redondo, 2003).

De estos compartimentos, el rumen es el de mayor tamaño y el más importante desde el punto de vista metabólico. A pesar de ser un órgano aglandular que no secreta enzimas digestivas, cuenta con una de las baterías enzimáticas más potentes y complejas de la naturaleza aportada por los microorganismos que lo habitan como bacterias, hongos y protozoos que se encargan de los procesos degradativos y fermentativos que allí ocurren.

Los microorganismos ruminales viven en simbiosis con el animal rumiante el cual les ofrece un nicho ambientalmente favorable, con un suministro continuo de alimentos y remoción de productos finales, mientras que los microorganismos proveen un servicio digestivo, que proporciona grandes cantidades de energía disponible al animal hospedero (González, 2003; Citado por Sosa, 2006).

Los rumiantes tienen la posibilidad de aprovechar los productos fibrosos de origen vegetal debido a la acción de los microorganismos ruminales, sin embargo, aún su eficiencia está limitada como consecuencia de la ausencia de activadores de bacterias, hongos y protozoos que habitan en el ecosistema ruminal. Los polisacáridos de la pared celular de levaduras

estimulan el crecimiento microbiano. La utilización de un Hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* favorece la acción de los microorganismos ruminales en animales que consumen dietas fibrosas.

## Desarrollo

Características generales del sistema digestivo de los rumiantes.

Como se ha mencionado los rumiantes ocupan un lugar destacado dentro de la cadena alimenticia, puesto que ellos pueden digerir las paredes celulares de las plantas, a través de la fermentación ruminal.

La fermentación tiene lugar en el estómago pluricavitario, una región especial de amplia capacidad donde los alimentos permanecen un cierto tiempo y sufren la acción de una densa población microbiana que fermenta los carbohidratos y otros materiales de las plantas para producir principalmente ácidos grasos de cadena corta (AGCC), metano, dióxido de carbono y energía (ATP).

El estómago pluricavitario se ubica en el lado izquierdo de la cavidad abdominal y ocupa casi las 3/4 partes. Está formado por cuatro compartimentos netamente distinguibles: el retículo, el rumen, el omaso y el abomaso (Fig. 1). En los tres primeros compartimentos que preceden al abomaso, ocurre la degradación del alimento con la consecuente utilización de la fibra y el nitrógeno no proteico (Wu y Papas, 1997).

En estos compartimentos no hay glándulas ni se segrega mucus y la digestión ocurre gracias a las enzimas microbianas. La verdadera digestión ocurre en el abomaso que es el estómago glandular propiamente dicho.

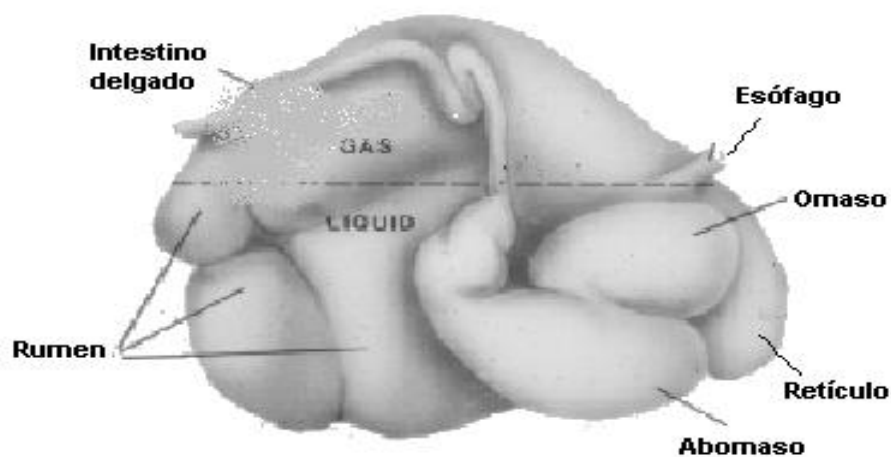


Fig. 1. Diagrama esquemático del estómago de un rumiante.

El rumen como sistema continuo de degradación y síntesis.

El rumen es una gran cámara de fermentación, el que garantiza las condiciones necesarias para la existencia y reproducción de los microorganismos que lo habitan. Es el reservorio más voluminoso del aparato digestivo de los rumiantes y representa del 70-75% del tracto gastrointestinal (Dehority, 2003) y del 50-60% de su volumen.

Se encuentra situado en el flanco izquierdo de la cavidad abdominal, está dividido por medio de pilares o tabiques en cuatro sacos. Los sacos mayores, el dorsal y el ventral, tienen comunicación entre sí y con el retículo, mientras que los sacos pequeños caudales no tienen comunicación con el exterior y se les denominan sacos ciegos dorsal y ventral (Fig.2).

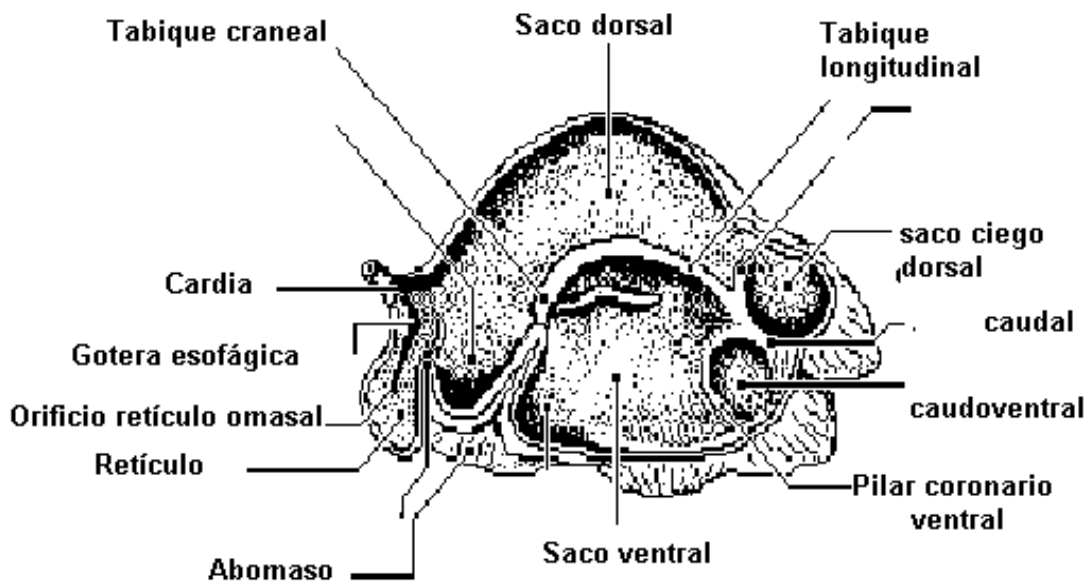


Figura 2.- Diagrama del retículo-rumen por su parte interna

Según Church (1979) el rumen se desarrolla anatómicamente a partir de la porción no secretora del estómago. El aparato digestivo de los rumiantes al nacer funciona muy parecido al de los monogástricos, debido a que el rumen tiene un desarrollo muy rudimentario.

Sin embargo, su especial pauta de motilidad ya está perfectamente establecida desde el nacimiento. El desarrollo del rumen implica, por lo tanto, la implantación de la masa microbiana y la capacidad de absorción de nutrientes, siendo importante el tiempo que transcurre entre el desarrollo morfofisiológico digestivo y los procesos digestivos de fermentación ruminal dada por la relación simbiótica establecida con los microorganismos ruminales (Orskov, 1988).

Se puede decir que el rumen es una cámara de fermentación anaeróbica, en la cual la población microbiana se mantiene al ingerir y masticar alimentos con regularidad, añadiendo tampones y eliminando los ácidos producidos, arrastrando los residuos alimenticios no digeribles y los productos microbianos y manteniendo condiciones apropiadas de pH, temperatura y humedad para el crecimiento de los microorganismos. Estos dependen del rumiante para disponer de las condiciones óptimas para su crecimiento, y el rumiante depende de los productos de fermentación anaeróbica de los alimentos fibrosos que ingiere y de la actividad biosintética microbiana, para cubrir sus propias necesidades nutritivas. (Yokohama y Jonson, 1988) (Citados por Rotger, 2005).

Según Martínez, (2005) dentro de las principales funciones del Rumen y los microorganismos ruminales podemos citar:

Digestión de los carbohidratos de las plantas como la celulosa, hemicelulosa, almidón y azúcares a glucosa.

Conversión de glucosa a ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente a acético, propiónico y butírico.

Digestión de la proteína de los alimentos.

Síntesis de proteína bacteriana.

Síntesis de vitaminas (hidrosolubles, principalmente vitaminas del complejo B y k)

Digestión de grasas.

Hidrogenación de grasas insaturadas.

Características del ambiente ruminal.

Según Thivent Fonty, Jouany, et al (1985), Williams (1991) y Dehority (2003), en condiciones normales de manejo y alimentación, el contenido ruminal se mantiene relativamente constante y se caracteriza por poseer un elevado contenido de agua (85-90%), una temperatura de 39-40 °C; una presión osmótica estable y un potencial de oxidación-reducción que varía entre -250 a - 400 mv. Este bajo potencial redox garantiza las condiciones de anaerobiosis necesarias para el desarrollo de los microorganismos que lo habitan. En el rumen existe un pH que se encuentra generalmente comprendido entre 6-7. El mismo se regula por varios factores, entre los que están el aporte de bicarbonatos y fosfatos procedentes de la saliva, que posee un pH de 8.3 y eliminación continua de productos finales del metabolismo, ya sea por absorción directa a través de sus paredes (AGCC y amoníaco), por pasaje a las partes bajas del tracto digestivo (residuos alimenticios, células microbianas) o por eructación.

También existe una atmósfera relativamente constante de gases que se sitúan a nivel del saco dorsal. Esta fase gaseosa se compone principalmente de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>), nitrógeno (N<sub>2</sub>), sulfuro de hidrógeno (SH<sub>2</sub>) e hidrógeno (H<sub>2</sub>).

Los microorganismos del rumen.

El rumen se encuentra densamente poblado por una gran variedad de bacterias, hongos y protozoos (Hungate, 1966 y Van Soest, 1994 ) (Citados por Delgado, 2006) que son responsables de los procesos digestivos que tienen lugar en el órgano. Estableciéndose una relación de simbiosis entre el animal y los microorganismos ruminales. Dentro de estos microorganismos encontramos bacterias, hongos y protozoos.

Bacterias.

Las bacterias son la mayor y más diversa población microbiana que está presente en el rumen. El número total de bacterias del contenido ruminal, bajo condiciones normales de alimentación, es aproximadamente  $10^9$  -  $10^{10}$  ufc/mL (Hoover y Miller, 1991; Nava y Díaz, 2003). Su principal función es digerir las paredes celulares de los forrajes y los otros sustratos presentes en los contenidos celulares, tanto de los forrajes como de los granos de cereales (Pan, Tanaka, Okubo et al, 2001).

Según Hungate en 1966, las bacterias del rumen se encuentran representadas por tipos morfológicamente variados: cocos, bacilos, vibrios, espirilos, espiroquetas, rosetas ovales y tetracocos. Éstas se encuentran en una gran variedad de géneros y especies, que se distribuyen en, por lo menos, 28 especies Gram positivas (+) y Gram negativas (-) funcionalmente importantes que se agrupan de acuerdo a su actividad (Nava y Díaz, 2003)

Pedreira, 2003 informó que de acuerdo a su actividad, los dos grupos bacterianos más importantes son los celulolíticos y los amilolíticos. Los primeros porque atacan la pared celular de los vegetales, con una baja producción de AGCC, utilizan  $\text{NH}_3$ , tienen un bajo costo de mantenimiento (0,05 g de CH / g masa microbiana / hora) y actúan a pH favorable (6.5-7.0). Los amilolíticos por su parte atacan carbohidratos no estructurales con alta producción de AGCC, utilizan  $\text{NH}_3$ , péptidos y aminoácidos, tienen alto costo de mantenimiento (0,15 g de CH / g masa microbiana / hora) y actúan a pH favorable (5.4-6.0).

Algunos de los principales grupos de bacterias, de acuerdo con el sustrato utilizado, son los siguientes:

Celulolíticas: *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*.

Hemicelulolíticas: *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*.

Amilolíticas: *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Streptococcus bovis*, *Succinomonas amilolítica*.

Proteolíticas: *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis*.

Pectina: *B. fibrisolvans* y *Lachnospira multiparus* y varios protozoarios.

Protozoos.

Los protozoos fueron los primeros organismos que se descubrieron en el rumen, por su tamaño relativamente grande. Estos microorganismos pueden afectar la velocidad de crecimiento del animal, la digestibilidad de la ración y la calidad y cantidad de la proteína microbiana disponible a nivel intestinal (González, 2003). En el rumen podemos encontrar protozoos ciliados, que poseen cilios, y flagelados, que tienen flagelo. Los ciliados presentan mayor concentración y actividad pertenecientes a dos ordenes fundamentales como se relacionan a continuación.

1) Orden Trichostomatida, Familia Isotrichidae, Géneros Isotricha, Dasytricha, Oligoisotricha, y predominan cuando la dieta es alta en almidón (grano).

2) Orden Entodinomorphida (cilios cerca del peristomo u orificio bucal; ingieren bacterias principalmente), Familia Ophryoscolecidae.

Los protozoos ciliados no solamente contribuyen a los procesos metabólicos en el rumen sino que además, son capaces de modular las características físico-químicas del ecosistema (Williams, 1991). Se ha demostrado que influyen en el volumen del órgano, la retención de la digesta, la composición y actividades de la comunidad microbiana presente, las concentraciones y proporciones de productos finales de la fermentación y en el pH ruminal (González, 2003). Los cambios en uno de estos indicadores influyen en la función ruminal y como consecuencia la digestión ruminal de proteína dietaria, materia orgánica y fibra será mayor en animales faunados.

Hongos.

En el rumen existen también hongos anaerobios, conocidos desde 1974, en una concentración de  $10^3$  a  $10^5$  mL<sup>-1</sup> fluido ruminal ejemplos de estos lo constituyen: *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis*; *Piromonas communis*, *Orpinomyces*.

Se plantea que la población de hongos anaerobios del rumen está directamente relacionada con el contenido en fibra de la dieta, y su proporción disminuye en dietas ricas en almidón o azúcares solubles (Grenet, Breton, Barry et al, 1989). Los hongos ruminales tienen capacidad enzimática de hidrolizar celulosa y xilano, aunque parece que no pectina (Fonty y Joblin, 1991, Hébraud y Fevre, 1988). Lógicamente, su actividad enzimática frente a estos substratos es variable dependiendo de su origen filogenético, en especial de su estructura rizoidal, pero se ha postulado que algunas especies, como *Neocallimastix frontalis*, *Piromyces comunis* y *Orpinomyces jonyonii* son tanto o incluso más eficientes en la digestión de los polisacáridos estructurales como las especies bacterianas más activamente celulolíticas.

La acción fúngica sobre la pared celular vegetal y su contribución a la digestión ruminal de ésta, parece estar muy relacionada con su activa colonización. Se ha observado mediante microscopía electrónica que las zoosporas son atraídas por quimiotactismo (Bauchop, 1989) (Citado por Fondevila, 1998), y se adhieren rápidamente a las partículas,

preferentemente en estomas y zonas de corte de los tejidos lignificados (esclerénquima, xilema), aunque los tejidos vegetales no lignificados (floema, parénquima medular) son los más rápidamente degradados. En este sentido, los hongos ruminales son especialmente activos frente a substratos muy lignificados (Joblin y Naylor., 1989). De hecho, aunque no está probada su capacidad de utilización de lignina como fuente de nutrientes, *N. frontalis* puede solubilizar pequeñas cantidades de lignina de la pared celular vegetal, probablemente debido a la solubilización de compuestos fenólicos, en mayor medida que las bacterias, aumentando la accesibilidad de los polisacáridos estructurales para las bacterias.

Por otra parte, la acción mecánica de los hongos sobre la pared celular vegetal disminuye la rigidez estructural de los forrajes y favorece la ruptura de las partículas de este aumentando también así la superficie accesible para la acción bacteriana.

Cuantitativamente, la magnitud de la contribución de los hongos a la digestión de la pared celular *in vivo* no está totalmente esclarecida. Fonty, Bonnemoy, Morvan, et al 1992 observaron que la presencia de hongos en el rumen no tiene un gran efecto sobre la desaparición de materia seca o la concentración de ácidos grasos volátiles, a pesar de que la actividad glucosidasa y polisacaridasa de la población microbiana adherida a las partículas aumenta apreciablemente.

Importancia general de los microorganismos ruminales.

Los microorganismos ruminales constituyen un elemento de vital importancia para el mantenimiento de los animales poligástricos, esto se refleja si se tiene en cuenta que del 55 al 85 % de la energía metabolizable (EM) total derivada del alimento consumido, es absorbida desde la pared ruminal como ácidos AGCC obtenidos a partir de la acción microbiana sobre este.

La mayoría de las bacterias y de los hongos, pero pocos protozoarios, pueden utilizar amoníaco. En vacas lecheras, la proteína microbiana sintetizada por las bacterias proteolíticas (en especial los géneros *Prevotella*, *Selenomonas* y *Butyrivibrio*) y las bacterias que sintetizan aminoácidos, proporciona casi el 60 % de los aminoácidos que llegan al duodeno, lo cual aumenta a 90 % en rumiantes alimentados con dietas bajas en proteína.

La proteína que puede aportar la masa microbiana ruminal representa lo siguiente, respecto al total disponible: 44 % en borregos, 48 % en vacas, 51 % en terneros, 45 % en novillos (alimentados con paja y grano de cebada), 39 % en novillos (alimentados con paja de cebada); además, proporciona todos los aminoácidos indispensables y 60 a 90 % del requerimiento energético y nitrogenado para los rumiantes.

En áreas donde existe escasez de este nutriente, la optimización de la proteína microbiana, a través de un uso eficiente de los recursos disponibles localmente, es un alcance sostenido y efectivo hacia la mejora en la producción de los rumiantes, aún en áreas que dispongan de fuentes proteicas, el aumento de la eficiencia biológica de la síntesis de la proteína microbiana es la clave para la mejora del costo de producción y reduce la contaminación con nitrógeno al ambiente (Orskov, 1997).



Angeles, 2002 plantea que en los rumiantes, la presencia de bacterias, protozoarios y hongos le permite cubrir hasta el 100% de sus requerimientos energéticos a partir de carbohidratos estructurales como celulosa, y hemicelulosa, le permite utilizar fuentes de nitrógeno no proteico (urea, amoníaco) para cubrir una parte de sus necesidades de proteína y además, los hace independiente de una suplementación de vitaminas hidrosolubles para cubrir sus requerimientos.

Gracias a los microorganismos ruminales cada 15 kg de materia seca consumidos por el animal, 10 kg son degradados y fermentados por lo que pueden ser aprovechados.

#### Manipulación de la fermentación ruminal.

El hombre puede realizar acciones que permitan aumentar o disminuir la eficiencia de los procesos que acontecen en el rumen. De este principio se deriva el concepto de manipulación de la fermentación ruminal, descrito por Marty, desde 1972 como alternativa para los países como Cuba, cuya base alimentaria para el ganado está compuesta por alimentos de baja calidad. Desde entonces este concepto se ha ampliado y en la actualidad comprende un conjunto de biotécnicas que se emplean para modificar la fermentación ruminal en dependencia del propósito que se desee. En los últimos 25 años se han realizado numerosas investigaciones con el objetivo de manipular el ecosistema ruminal, y de esta forma, conseguir mejoras en la eficiencia de los sistemas productivos (Castro-Madrigal y Jimeno-Vinatea, 2001).

Las estrategias de manipulación del rumen pueden ser indirectas, a través de la manipulación de la dieta. Estas prácticas incluyen el empleo de diferentes fuentes de alimentos; así como el tratamiento físico, químico o biológico de la dieta para proteger las proteínas dietarias o los almidones, de su degradación en el rumen, o mejorar la utilización de los carbohidratos estructurales por los microorganismos ruminales. La manipulación directa consiste en el empleo de aditivos que actúan a nivel ruminal para regular los procesos que acontecen en este órgano y lograr una mayor eficiencia en la utilización de los alimentos. Esta vía de manipulación también comprende la acción directa en los microorganismos, tal es el caso de la defaunación o la introducción de especies genéticamente modificadas (Galindo, Marrero, González, et al ,2006).

#### Manipulación del rumen mediante aditivos.

El rango de compuestos utilizados como aditivos es muy amplio y se agrupan en las siguientes cinco categorías según su función (Gorrachategui-García, 2001):

Tecnológicos (conservantes, aglutinantes)

Sensoriales (colorantes, aromatizantes y saborizantes)

Nutricionales (vitaminas, aminoácidos, minerales y oligoelementos)

Coccidiostáticos

Zootécnicos (antibióticos promotores del crecimiento, enzimas y microorganismos)

Desaparecen así la antigua categoría de “microorganismos” y el término “prebióticos” por demasiado generales, y se sustituye por la de “aditivos zootécnicos” en la que se incluyen los microorganismos y enzimas (Caja, Gonzáles, Carro et al., 2004).

Estas sustancias provocan modificaciones de los procesos digestivos y metabólicos de los animales, que se traducen en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos y en mejoras significativas de la ganancia de peso. En los animales rumiantes adultos, provocan un aumento de la producción de ácido propiónico, una disminución de la producción de metano y de ácido láctico, y una disminución de la degradación proteica y de la desaminación de los aminoácidos. Todos estos cambios producen un aumento de la eficiencia del metabolismo energético y nitrogenado en el rumen (Carro y Ranilla 2005).

A continuación veremos algunos aspectos relacionados con las diferentes sustancias o aditivos utilizados como manipuladores de la fermentación ruminal.

Aditivos microbianos.

La creciente preocupación acerca del uso de antibióticos y otras sustancias utilizadas como aditivos en la alimentación de los animales, ha despertado el interés por el estudio de otros compuestos como es el caso de aquellos que tienen un origen microbiano (Castro-Madrigal y Jimeno-Vinatea, 2001).

La terminología asociada con la incorporación de cultivos de microorganismos a las dietas de rumiantes es inconsistente y a la vez confusa. El término probiótico se definió como “un suplemento alimenticio microbiano vivo, con efecto beneficioso para el animal hospedero, que mejora el balance microbiano intestinal” (Fuller, 1989). Sin embargo, Vanbelle y Focant 1995) señalan que muchos investigadores utilizan el término probiótico para referirse a “recuentos de bacterias viables ácido lácticas, seleccionadas y concentradas” (*Lactobacillus*, *Streptococcus*). En 1989 la US FDA (Food and Drug Administration) propuso a los fabricantes que utilicen el término aditivo microbiano (o DMF, direct fed-microbial) en lugar de probiótico, y lo define como una fuente de microorganismos viables, que incluye bacterias, hongos y levaduras (Castro-Madrigal y Jimeno-Vinatea, 2001) (Citados por Sosa, 2007).

Las bacterias como aditivo microbiano, se emplearon inicialmente por sus efectos post ruminales beneficiosos, basados en el mantenimiento del equilibrio de la microbiota del tracto digestivo, limitando la proliferación de especies potencialmente patógenas (Fuller, 1999; Brashears, Gallean, Loneragan et al., 2003 y Younts-Dahl, Galyean, Loneragan et al., 2004)(Citados por Sosa, 2006). Sin embargo, ciertos aditivos microbianos de origen bacteriano pueden además, mejorar las funciones ruminales (Ghorbani, Morgavi, Beauchemin et al., 2002; Nocek, Kautz, Leedle et al., 2002 y Beauchemin ,Colombatto, Morgavi et al., 2003) (Citados por Sosa, 2006). La acción de estos microorganismos a nivel ruminal tiene efectos diferentes a los que ocurren en el tracto post-ruminal o en los animales monogástricos, pues, generalmente, los aditivos microbianos en el rumen, actúan en la composición de la comunidad microbiana y su actividad (Castro-Madrigal y Jimeno-Vinatea, 2001).

Dentro de las bacterias que se utilizan en la alimentación de rumiantes encontramos algunas aisladas del rumen y otras de origen no ruminal pertenecientes fundamentalmente a los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* y *Propionibacterium* (Kamra y Agawal, 2004) (Citados por Sosa, 2006) .

Las bacterias pertenecientes al género *Lactobacillus* se encuentran dentro de las más estudiadas como aditivos microbianos en rumiantes. Con la adición de *L. acidophilus* a la dieta de estos animales se observó un aumento en la ganancia de peso, el consumo de materia seca, la digestibilidad del alimento y la eficiencia de conversión alimentaria. Existen productos basados en este tipo de bacterias que han sido evaluados en rumiantes. Tal es el caso de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus rhamnosus* con los que se encontró un aumento en la ganancia de peso y en la producción de leche así como, mayor contenido de proteína y grasa al evaluar estos mismos microorganismos encontraron que las vacas que los consumieron produjeron más leche, y con mayor contenido de proteínas y sólidos no grasos.

Es cierto que las bacterias han demostrado ser eficiente activadoras de la fermentación ruminal, sin embargo los productos más difundidos en las dietas de rumiantes consisten en extractos de la fermentación de *Aspergillus oryzae* y cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*, o ambos.

Desde hace algunos años se han venido utilizando los cultivos microbiales vivos y sus extractos, particularmente de *Aspergillus oryzae* y *Saccharomyces cerevisiae* como aditivos alimenticios. Su uso generalizado como agentes manipulantes de la fermentación ruminal los ha hecho llamar aditivos microbianos alimenticios de uso directo Wallace y Newbold (1992) (Citado por Wallace, 1994). En promedio, los datos publicados indican que los aditivos microbianos pueden beneficiar la alimentación del rumiante (desde el punto de vista de la ganancia de peso vivo y producción de leche) en un rango similar a los ionóforos (mejoras del 7 o 8%), en este caso por el incremento en el consumo de alimento más que a la eficiencia alimenticia. Sin embargo, los efectos son altamente variables y existen muchos remanentes por establecer de sus efectos dependiendo de su dosis en la dieta.

Utilización de levaduras como activadoras de la fermentación ruminal.

Las levaduras son microorganismos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Desde un punto de vista botánico, se trata de hongos unicelulares de los que existen unas 600 especies agrupadas en 60 géneros. De ellos, el género *Saccharomyces* es el que ofrece un mayor interés industrial y aunque consta de 41 especies, *Saccharomyces cerevisiae* es la que brinda una mayor aplicación. Los cultivos de esta especie son capaces de sobrevivir bajo las condiciones más adversas, comportándose de hecho como anaerobios facultativos, de manera que aunque no aparecen como inquilinos habituales del tracto digestivo, mantiene su viabilidad en el tiempo después de haber sido introducidas en éste.

Resultan, asimismo, fáciles de cultivar tanto en el laboratorio como a escala industrial utilizando para ello un medio de cultivo que contenga azúcares, sales minerales y una pequeña cantidad de extracto de levaduras o peptona. Las células de levaduras incorporan a su estructura nutrientes del medio, resultando en una masa fúngica cuya composición

química aproximada es de 40% de proteínas, 15% de ácidos nucleicos, 25% de polisacáridos, 15% de lípidos y 5% de compuestos hidrosolubles como nucleótidos, aminoácidos, vitaminas y minerales. Simultáneamente liberan sustancias de desecho como nucleótidos, aminoácidos, azúcares, factores de crecimiento y enzimas, entre otras (Alvarez, 1995).

Como se ha expresado las levaduras (*Saccharomyces* spp.) constituyen uno de los microorganismos más utilizados en alimentación animal, tanto en monogástricos como en rumiantes. Se plantea que las mejores respuestas en rumiantes se han observado en el caso de vacas lecheras, y los efectos reconocidos se atribuyen al aumento de la celulólisis ruminal y del flujo de proteína microbiana al intestino (Van Vauren, 2003).

Existen diferentes hipótesis acerca de los mecanismos de acción que emplean las levaduras para ejercer sus efectos en la digestión de los rumiantes (Howie, 1999). La mayor parte de las investigaciones dirigidas en este sentido, se han realizado con dietas con altos niveles de concentrado. Dentro de los mecanismos propuestos se encuentra el abastecimiento, por parte de las levaduras, de ácidos orgánicos o vitaminas que estimulan el crecimiento de bacterias y hongos (Nisbet y Martin, 1991, Chaucheyras, Fonty, Bertin et al, 2000), y la producción de pequeños péptidos estimulantes. (Dawson y Girard, 1997).(Citado por Marrero 2005)

Otros efectos que se encuentran, cuando se adicionan estos microorganismos en dietas para rumiantes, se explican por la estimulación del crecimiento de *Selenomona ruminantium*. Esta bacteria consume lactato, lo que provoca una estabilización del pH en niveles cercanos a la neutralidad y favorece el crecimiento de las bacterias celulolíticas y por ende de sus acciones fermentativas, lo cual conlleva a un incremento del apetito y el consumo de materia seca.

Existen estudios que plantean que la inclusión de levaduras produce un reordenamiento del funcionamiento del rumen por la estimulación de las poblaciones acetogénicas que compiten con las metanogénicas por la utilización del hidrógeno (Chaucheyras, Fonty, Bertin et al, 2005). La reducción de la actividad de las bacterias productoras de metano y una estimulación en la formación de los AGCC (Rader, 2003; García y Trujillo.,2005) modifica el metabolismo de la energía glucosídica de la masa microbiana y consecuentemente de las proteínas digeribles (Anon, 1999). El uso de levaduras propone una opción para disminuir las grandes pérdidas económicas que por este concepto ocurren a nivel mundial, así como la contaminación ambiental que este gas provoca. (Gamo, Santoso, Shiozak et al, 2003).

Las bacterias ácido lácticos presentes en el intestino de los animales tales como *Lactobacilus*, *Bifidobacterias*, y *Streptococcus* previenen los patógenos de la colonización intestinal compitiendo con ellos por nutrientes esenciales y sitios de adhesión y por la producción de ácidos orgánicos y otras sustancias que hacen el medio ambiente intestinal desfavorable a estas. La actividad de las bacterias ácido lácticas natural puede ser estimulada alimentando al animal con productos basados en levaduras, las que contienen las enzimas y nutrientes que las bacterias necesitan. Según estos mismos autores esta posibilidad es considerada más promisoría que alimentando con los productos basados sólo

en el empleo de las bacterias ácido lácticas, las cuales aun si sobreviven a los procesos industriales y la digestión gástrica y crecen lo suficientemente rápido en los intestinos, esto no es suficiente para que sea igual tal como ocurre con la flora natural óptima. Diferentes autores plantean que la adición de levaduras a preparados probióticos formulados con *Lactobacillus* mejora la absorción de nutrientes por parte de estos microorganismos lo que provoca una alta formación de ácido láctico y un descenso en el pH intestinal, además de que se produce una estimulación del sistema inmunitario.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* ha demostrado ser muy útil en este tipo de mezclas de microorganismos con propiedades probióticas para reforzar el efecto esperado de tal producto o para obtener los propios beneficios derivados de su uso. Esta mezcla de bacterias ácido lácticas y levadura *S. cerevisiae*, así como otras sustancias como enzimas y ácidos orgánicos se conocen como las “mezclas probióticas” y se utiliza con éxito en sustitutos lecheros para terneros, cerditos, mezclas alimenticias para aves, vacas lecheras y cerdos (Gunther, 1995).

Otro ejemplo del empleo de productos con mezclas probióticas es el denominado YEASTURE, el cual está formulado a base de un cultivo de levadura *S.cerevisiae*, bacterias vivas de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, y *Bacillus*, así como por enzimas, constituyendo estos tres los promotores de crecimiento más importantes para el desarrollo del ganado bovino, porcino y de las aves. Las ventajas de este producto sobre el uso de los antibióticos radican en que no tiene efectos residuales y no causa mutaciones en los microorganismos, incidiendo de forma positiva sobre la protección del medio ambiente. El cultivo de levadura aumenta la proporción y calidad de la leche, así como el crecimiento del animal, mientras que las enzimas convierten los nutrientes indigeribles en nutrientes accesibles mejorando de esta forma la digestibilidad de los alimentos; por último, las bacterias vivas fundamentalmente las ácidas lácticas contribuyen a mantener el equilibrio de la flora intestinal y se favorece de esta forma la salud animal.

Wu y Papas (1998), plantearon que aunque la mayoría de los probióticos son bacterias, también es recomendable el uso de estos productos elaborados a partir de levaduras ya que se ha visto que las mismas juegan un rol importante en la producción. Estas aunque usualmente no son parte indígena del TGI, son capaces de crecer en este, principalmente al nivel de rumen y su modo de acción viene dado por un mejoramiento en la palatabilidad de la dieta junto con la producción de vitaminas del complejo B, aminoácidos esenciales, minerales quelatos, enzimas digestivas, acetatos y otras sustancias tales como lípidos, polipéptidos, glicolípidos, esteroides, y ergosterol.

Hidrolizados de levaduras.

Cuando muere una célula de levadura, cesan las transformaciones químicas normales precisas para la conservación de la vida, pero con la muerte no se apaga la actividad de las enzimas de la célula y por ello en la célula muerta tienen lugar transformaciones químicas relacionadas con la actividad de las enzimas. Este proceso se llama autólisis o digestión y puede ser controlada teniendo lugar en un óptimo de temperatura de 45-55 oC. Se ha encontrado que a 30 oC y 60 oC transcurre con marcada lentitud.

La hidrólisis a escala comercial generalmente tiene lugar en un proceso discontinuo, usando grandes vasos que contienen una mezcla de enzima sustrato en solución acuosa. El proceso se controla a través de los principales parámetros en dependencia del tipo de hidrólisis. Los parámetros críticos a monitorear en la producción a escala comercial son temperatura, tiempo de hidrólisis y pH entre otros (Kollar, Sturdik y Sajbidor, 1992). La hidrólisis se continúa hasta obtener las características deseadas del producto como pueden ser: Una adecuada distribución de aminoácidos y oligosacáridos; una distribución conveniente de pesos moleculares y una cantidad de proteínas y carbohidratos intactos razonable, entre otros indicadores de calidad.

Para la obtención de los productos de hidrólisis de la pared de levaduras se han empleado principalmente las hidrólisis química y térmica siendo la hidrólisis enzimática con el empleo de enzimas microbianas la de más escasa aplicación (Frost y Moss, 1987). Houngh Chen y Hsu, 1994 desarrollaron un método para extraer, mediante hidrólisis, los componentes de la pared de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, para ello utilizaron una combinación de hidrólisis básica con hidrólisis enzimática, alcanzando un alto rendimiento de  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,6 glucanos, quitina y mananoproteínas con este procedimiento. Similares resultados alcanzaron Hartland, Sietsma y Wessels (1994), pero en este caso mediante hidrólisis con NaOH precedida de destrucción mecánica con agitador rotatorio y perlas de vidrio.

Rinsum et al (1991) desarrolló un método para la extracción de manoproteína de la pared de *S. cerevisiae* mediante hidrólisis básica y posterior separación de la mezcla de oligosacáridos por cromatografía de afinidad con sepharosa 6L unida a concanavalina A.

Lupashin, Ratner y Kulaeval (1992) emplearon la hidrólisis térmica para la obtención de una nueva glicoproteína de la pared de *Saccharomyces cerevisiae*. La posterior purificación de ésta la realizaron mediante electroforesis.

La optimización de las condiciones de la hidrólisis enzimática, así como la posterior purificación y utilización de sus productos a similitud de la mayoría de las tareas de investigación y desarrollo en el campo de las Ciencias Biológicas, se ha hecho tradicionalmente por el método de "Un factor, un tiempo." (Kollar, Sturdik y Sajbidor, 1992).

En la actualidad la tendencia es tratar los problemas de las producciones microbianas y las reacciones bioquímicas en general, aplicando las técnicas de diseño estadístico de experimento que se emplean fundamentalmente en las especialidades de Ciencias Técnicas.

Cuando la célula de levadura es sometida a un proceso de lisis e hidrólisis enzimática, se liberan los mananos oligosacáridos, que son importantes inmunogenos, siendo el terminal  $\alpha$  1-3 de manosa el inmuno-dominante .

Los oligosacáridos de mananos no pueden ser degradados por microorganismo tales como *E. coli*, *Salmonellas* y *Clostridium*, en contraste a los oligosacáridos de glucanos que pueden ser utilizados por *Lactobacillus* como fuente de energía.

Independientemente de la factibilidad del empleo de células viables de bacterias ácido lácticas para obtener de éstas el efecto probiótico deseado, hoy parece igualmente posible la posibilidad de manipular la flora intestinal normal (indígena) por la administración de carbohidratos fermentables.

## **Conclusiones**

La inclusión de este hidrolizado enzimático levadura *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas favorece en gran medida los procesos fermentativos a nivel ruminal ya que es capaz de activar las poblaciones microbianas. Las poblaciones fundamentalmente las de bacterias celulolíticas juegan un papel muy importante en la degradación de los alimentos fibrosos lo cual repercute positivamente en el estado de salud del animal e influye en una mejora zootécnica y mejores rendimientos productivos en animales rumiantes.

## Bibliografía

- Ángeles Campos, S. C. 2002. Fermentación ruminal, tamaño de partícula y efecto de la fibra en la alimentación de vacas lecheras. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgZooG014.pdf> Consultado: Abril, 2008.
- Anon. 2005a. Medios de fermentación. Disponible en: [http://www.science.oas.org/simbio/mbio-ind/cap\\_4-mi.pdf](http://www.science.oas.org/simbio/mbio-ind/cap_4-mi.pdf). Consultado: Mayo 2008.
- Aranda, I.E.M. 2000. Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes. Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de México. 90 p.
- Bach, A., Calsamiglia, S. & Stern, M.D. 2005. Nitrogen Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.* 88:JDS 4467 Take F504
- Bauchop, T. 1989. Colonization of plant fragments by protozoa and fungi. En: J.V. Nolan, R.A. Leng, D.I. Demeyer (Eds.). *The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion*. Penambul Books, Armidale. 83-96.
- Brashears, M.M., Galyean, M.L., Loneragan G.H., Mann, J.E. & Killinger-Mann, K. 2003. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and performance by beef feedlot cattle given *Lactobacillus* direct-fed microbials. *J. Food Prot.* 66:748-754.
- Caja, G., González, E., Flores, C., Carro, M.D. & Albanell, E. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. En: XIX Curso de Especialización FEDNA. Madrid, 23 y 24 de Octubre de 2003. p. 183.
- Cano, A.L., Aranda, I.E.M., Mendoza, M.G.D., Pérez, P.J. & Ramos, J.J.A. 2003. Comportamiento de toretes en pastos tropicales suplementados con caña de azúcar y enzimas fibrolíticas. *Tec. Pecu. Méx.* 41(2):153-164.
- Carro, M.D. & Ranilla, M.J. 2002. Situación actual y posibles alternativas a los aditivos APC. *Albéitar.* 56:46-49
- Castillo, E., Ruiz, T. E., Elías, A., Febles, G., Galindo, J., Chongo B. & Hernández, J. H. 2002. Efecto de la inclusión de un suplemento proteico – energético en el comportamiento de machos bovinos que consumen leucaena asociada con pasto estrella. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 36:51.
- Castro-Madrugal, T. y Jimeno-Vinatea, V. 2001. Probióticos en la alimentación del ganado vacuno lechero. *Bovis.* No. 98, Madrid, España. 27-32.
- Chaucheyras, F.; Fonty, G. ; Bertin, G. ; Gouet, P. 1995. In vitro H<sub>2</sub> utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an Archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *S.cerevisiae*. *Applied and Env Microb*, sept, p 3466-3467



- Chaucheyras, F.; Fonty, G. ; Bertin, G. ; Gouet, P. 2000. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH 3. *Curr. Micro.* 31, 201. stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. In: *Biotechnology in the Feed Industry*, ed T.P. Lyons & K.A. Jacques, Nottingham University Press, Nottingham, UK. p 293
- Church, D. C. y W. G. Pond. 1994. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. Editorial Limusa, S. A. de C. V. Grupo Noriega Editores. México. pp 438.
- Church, D.C. 1979. *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants* OSU Boock Stores Inc. Oregon. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza. Zaragoza, España.
- Colombatto, D. 2006. *Análisis de alimentos: Aplicaciones prácticas*. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.computers. *Cornell Nutr. Conf. For fed Manufacturers.* 74-81. Phillips, M. W. y Gordon, G. L. R. 1995. Sheep with indigestion – Can rumen fungi help ?. *Microbiology Australia.* Vol 16. November. 27:30.
- Crespo, G., Herrera, R.S. & Martínez, O. 2003. Principales factores que influyen en la producción y calidad de biomasa de gramíneas. En: *II foro Latinoamericano de pastos y forrajes*. La Habana, Cuba.
- Dawson, K.A. y Girard, I.D. 1997. *Biochemical and physiological basis for the*
- Dehority, B.A. 2003. *Gross anatomy, physiology and environment of the ruminant stomach*. En: *Rumen microbiology*. Dehority, B.A. Ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 19.
- Delgado, A., Crespo, G., Elías, A. & Llanes A. 2006. Ceba de añajos en pastoreo con suplementación de miel/urea. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 36: 45.
- Delgado, A., Valdés, G., Molina, A., Ruiz, R. & Aguilar, I. 1981. Sistema de ceba basado en pastos con suplementación o sin suplementación. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 15:149-163.
- Díaz, S.M.F. & Padilla, C. 2003. Alternativas de utilización de leguminosas temporales en el trópico. En: *II foro Latinoamericano de pastos y forrajes*. La Habana, Cuba. *Diet. Indian-Journal-of-Animal-Sciences.* 72: 6, 472-475.
- Elías, A., & Lezcano, O. 2000. Inclusión de niveles de harina de soya desgrasada y sin desgrasar en la fermentación de la caña de azúcar en estado sólido (Sacchasoya). *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 34:143.
- Fondevila, M. 1998. Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. *Rev. Fac. Agron. (LUZ),* 15:87-106.

- Fonty, G and K. N. Joblin. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. pp. 655-679. In:
- Fuller, R. 1999. Probiotics for farm animals. En: Probiotics: A Critical Review. Tannoeka, G.W. Ed. Horizon Scientific Press, Wymondham, England. p. 15.
- Galindo, Juana 1988. Efecto de la Zeolita en la población de bacterias celulolíticas y su actividad en dietas de ensilaje. Tesis Dr. Sci. La Habana. Cuba.
- Galindo, Juana; González, Niurca; Aldama, Ana I.; Marrero, Yoandra. 2001a. Efecto de *Enterolobium cyclocarpum* en la población microbiana ruminal y su actividad en condiciones in vitro. Rev. Cub. Cienc. Agric. 35:3, 241-247.
- Galindo, Juana; Marrero, Yoandra; Aldama, Ana I. 2001b. Efecto de *Gliricidia* en la población protozoaria y organismos celulolíticos ruminales. Rev. Cub. Cienc. Agric. 35:3,
- Galindo, Juana; Marrero, Yoandra; González, Niurca y Areadne Sosa. 2006. Libro en versión electrónica: Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba.
- Gamo, Y.; Koyama, A.; Zhou, X.; Chetra, S.; Santoso, B.; Kobayashi, T.; Shiozaki, S.; Mwenya, B.; Arai, I.; Mizukoshi, H.; Kimura, K.; Takahashi, J.; Ong, H.K.; Zulkifli, I. ; Tee, T.P.; Liang, J.B. 2002. Effects of monensin, nisin, probiotics and/or beta 1-4 galacto-oligosaccharide on in vitro rumen methane production. Global perspective in livestock waste management Proceedings of the Fourth International Livestock-Waste Management. Symposium and Technology Expo, Penang, Malaysia, 19-23 May. 5, 161-163.
- Ghorbani, G.R., Morgavi, D.P., Beauchemin, K.A. & Leedle, J.A.Z. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. J. Anim. Sci. 80:1977-1985.
- Givens, D.I. 1994. Proceedings of the conference on 'Metabolisable protein and forage evaluation'. Society of Chemical Industry, London, UK.
- González, G., & Rodríguez, A.A. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability, and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. A. Dairy Sci. 86: 926 – 933.
- González, N. 2003. Contribución al estudio del ecosistema ruminal de búfalos de río bajo nuestras condiciones de manejo y alimentación. Tesis en opción al grado de Master en Microbiología. Facultad de Biología UH-Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba, 60 p.
- Gorrachategui-García, M. 2001. Legislación sobre aditivos: ganado vacuno. Bovis, No. 98, Madrid, España. p. 13-26.

- Hartland R., Vermeulen F., Sietsma J. and Wessels H. 1994. The linkage of (1-3)- $\beta$ -Glucan to chitin During Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. 10: 1591-1599.
- Hoover, W.H. & Miller, T.K. 1991. Rumen digestive physiology and microbial ecology. *Food Animal Practice*. 7:311-325.
- Huntington, J.A. and D.I. Givens 1995. *Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)* 65:65-93.
- Joblin, K. N. y G. E. Naylor. 1989. Fermentation of woods by rumen anaerobic fungi. *FEMS Microbiology Letters* , 65:111-122.
- Jones, D.I.H. and M.K. Theodorou. 2000. In *Forage Evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pages 155-174
- Kamra, D.N; Chaudhary, L.C; Neeta-Agarwal; Singh, R.; Pathak, N.N.; Agarwal, N. 2004. Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and
- Marrero, Y. 2005. Las levaduras como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba. 114p.
- Martínez G., E. 2005. Bases fisiológicas y nutricionales de la unidad vaca – ternero. Cenerema. UACH.
- Nava, C. y Díaz, A. 2003. “Introducción a la digestión ruminal”. Disponible en: [http://www.veterin.unam.mx/enlinea/ruminal/digest\\_ruminal.htm](http://www.veterin.unam.mx/enlinea/ruminal/digest_ruminal.htm) Consultado: Junio 2008.
- Newbold,C.J.; McIntosh,F.M.; Wallace,R.J. 1998. Changes in the microbial population of a rumen-simulating fermenter in response to yeast culture. *Canadian Journal of Animal Science*. 78: 2, 241-244.
- Nguyen, T.H.N., Nguyen, V.H., Nguyen, T.N., Nguyen, T.V., Preston, T.R. & Leng, R.A. 2001. Practical application of defaunation of cattle on farms in Vietnam: response of young cattle fed rice straw and grass to a single drench of groundnut oil: *Asian. Australia. J. Anim. Sci* 14:485-490.
- Nocek, J.E., Kautz, W.P., Leedle, J.A.Z. & Allman, J.G. 2002. Ruminant supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 85:429-433.
- Noci, F., Monahan, F.J., French, P. & Moloney, A.P. 2005. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: Influence of the duration of grazing. *J. Anim. Sci*. 83:1167-1178.

- Ørskov, E.R. 2000. In Forage Evaluation in ruminant nutrition. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pages 175-188
- Pan, J.; Suzuki, T.; Ueda, K.; Tanaka, K.; Okubo, M.; Pan, J. 2001. Distribution of microbial mass and fibrolytic enzyme activities in different size of feed particles from rumen contents of sheep. *Animal Science Journal*. 72: 3, 209 -217. shown. *Feedstuffs*. 71: 42, 10.
- Pedreira, M.O. 2003. Monografía final del curso Nutrición en la Intensificación. Cátedra de Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.
- Ramos J.A., G.D. Mendoza M., E. Aranda I., C. García-Bojalil, R. Bárcena G. & J. Alanís R. 1999 Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. *Anim. Feed Sci. Technol*. 70:249-256.
- Redondo, P. A., 2003. Anatomía del aparato digestivo de un rumiante. Disponible en: <http://www.inea.uva.es>. En línea: abril. Consultado: marzo 2008.
- Rodríguez Prado, María. 2003. Factores que afectan la fermentación microbiana, y al perfil y flujo de aminoácidos de las bacterias asociadas con las fracciones líquida y sólida en un sistema de cultivo continuo. Tesis presentada en opción al título de Doctor en el programa de Producción animal de la universidad autónoma de Barcelona. Bellaterra.
- Rotger Cerdá, Aina. 2005. Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía - proteína en terneras en cebo intensivo. Barcelona. 208 h. Tesis (en opción al grado científico de Doctor en Producción animal) Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Barcelona. España.
- Santra, A. y Karim, S.A. 2002. Influence of ciliate protozoa on biochemical change and hydrolytic enzyme profile in the rumen ecosystem. *Journal of Applied Microbiology*. 92:5, 801-811.
- Schofield, P. 2000. In Farm animal metabolism and nutrition. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pages 209-232.
- Senra, A. 2005. Índice para controlar la eficiencia y sostenibilidad del ecosistema del pastizal en la explotación bovina. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 39:13.
- Senra, A., Martínez, R.O., Jordán, H., Ruiz, T., Reyes, J.J., Guevara, R.V. & Ray, J.V. 2005. Principios básicos del pastoreo rotacional eficiente y sostenible para el subtrópico americano. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 39:23.
- Sosa Ceijas, Areadne. 2006. Efecto de *Aspergillus oryzae* como activador de la fermentación ruminal de *Pennisetum purpureum* en condiciones in Vitro. Tesis en opción al título académico de Master en Microbiología Mención Microbiología General. Facultad de Biología UH-Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba, 56p.

- Srinivasan, K., Murakami, M., Nakashimada, Y. & Nishio, N. 2001. Efficient production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis*, in a repeated batch culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 91:153-158.
- Thivend, P.; Fonty, G.; Jouany, J.P.; Durand, M. y Conet, P.H. 1985. Le fermenteur rumen. *Reproduccion nutrition Dévelop.* (Brasil). 25:2, 729-732.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. *Journal of the British Grassland Society* 18:104 - 111. Universidad de Buenos Aires.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.
- Van Vuuren, A.M. 2003. En: *International one-day seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their link to the demands of European consumers*. Lelystad.
- Wallace, R.J. y Newbold, C.J. 1992. Probiotics for Ruminants. In: *Probiotics, The Scientific Basis*, ed R. Fuller, Chapman and Hall, London. p 317.
- Wattiaux, M.A & Armentano, L.E. 2000. *Metabolismo de los carbohidratos en la vaca lechera*. Instituto Babcock. Disponible en: <http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch5/protein.html> . En línea: Marzo 2000. Consultado: Marzo, 2008.
- Wattiaux, M.A. 2000. *Metabolismo de proteínas en las vacas lecheras*. Instituto Babcock. Disponible en: <http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch5/protein.html> En línea: Marzo 2000. Consultado: Marzo, 2008
- Williams, B. A .2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (editors). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford (UK). CAB International. 475 p.
- Wu, S.H.W. & Papas, A. 1997. Rumen-stable delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 28:323-334.
- Yokohama, M. T. ; K. A, Johnson. 1988. *Microbiología del rumen e intestino. El rumiante, fisiología digestiva y nutrición*. C. D. Church, Ed. Editorial Acribial. Zaragoza. España. P 137 – 158.
- Younts-Dahl, S.M., Galyean, M.L., Loneragan, G.H., Elam, N.A. & Brashears, M.M. 2004. Dietary supplementation with *Lactobacillus* and *Propionibacterium*-based direct-fed microbials and prevalence of *Escherichia coli* O157 in beef feedlot cattle and on hides at harvest. *J. Food Prot.* 67:889-893.