



Revista Cubana de Ciencia Agrícola

ISSN: 0034-7485

rcca@ica.co.cu

Instituto de Ciencia Animal

Cuba

Marrero, Yoandra; Galindo, Juana; Elías, A.; Moreira, Onidia; Cueto, Milbis
Efecto de preparados biológicos con levaduras viables en la población microbiana ruminal e
indicadores fermentativos en vacas que consumen dietas fibrosas
Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 40, núm. 3, 2006, pp. 339-348
Instituto de Ciencia Animal
La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017723013>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Efecto de preparados biológicos con levaduras viables en la población microbiana ruminal e indicadores fermentativos en vacas que consumen dietas fibrosas

Yoandra Marrero, Juana Galindo, A. Elías, Onidia Moreira y Milbis Cueto

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana, Cuba,
Correo electrónico: ymarrero@ica.co.cu

Se utilizó un diseño cuadrado latino para estudiar el efecto de preparados biológicos con levaduras viables en la población microbiana ruminal e indicadores fermentativos en vacas que consumen dietas fibrosas. Para ello se incluyeron, en las dietas, preparados de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y LEVICA-25 solas y combinadas en una dosis de 10 g/animal/d. Los tratamientos fueron: A) sin levadura (control); B) con levadura *S. cerevisiae*; C) Levadura LEVICA-25 y D) mezcla de ambas levaduras 1:1. Las bacterias viables totales tuvieron máximos crecimientos a las 2 y 4 h después del consumo del preparado para B y C, respectivamente. Los conteos de bacterias celulolíticas fueron mayores ($P < 0.05$) con 0.42, 0.48 y 0.44, 10^3 ufc/mL en A, B y C, respectivamente, contra 4,0, 10^3 ufc/mL en el control. En los hongos celulolíticos los conteos fueron superiores ($P < 0.01$) cuando se incluyó LEVICA-25, con valores de 0.41, 10^3 uft/mL comparado con 0.24, 10^3 uft/mL en el control. No se encontraron efectos de las levaduras en las poblaciones de bacterias proteolíticas y protozoos del rumen, ni en los valores de pH y concentraciones de AGCC. La inclusión de preparados microbianos de las levaduras *S. cerevisiae* y LEVICA-25, solos y combinados, originó una estimulación de la población microbiana ruminal y, en especial, de la celulolítica. El efecto más marcado lo provocó la cepa LEVICA-25. Lo anterior demuestra las posibilidades de estas cepas para la obtención de un producto activador de la fermentación ruminal. Se recomienda continuar estudios con niveles superiores de inclusión, que abarquen las respuestas productivas de bovinos alimentados con dietas fibrosas.

Palabras clave: *saccharomyces*, rumen, in vivo, población microbiana, fibra.

En las últimas décadas se ha incrementado el interés por la utilización de levaduras como aditivo en la alimentación de rumiantes, entre ellos el uso de *Saccharomyces cerevisiae* es el más extendido.

Muchas son las pruebas que muestran que la adición de levadura puede afectar el número y la composición de las poblaciones microbianas en el rumen. Esta respuesta es variable entre los diferentes trabajos. Así, Dawson y Girad (1997) en estudios con cultivos puros y Newbold *et al.* (1998) en cultivos mixtos demostraron que no todas las bacterias se estimulan como resultado de la inclusión de levaduras. Resultados similares se encontraron en la respuesta de los protozoarios en el rumen ante la inclusión de levaduras (Mathieu *et al.* 1996 y Arakaki *et al.* 2000) con efectos

variables (estimulación o inhibición), debido posiblemente a la cepa de levadura que se utilizó (Plata *et al.* 1994 y García *et al.* 2000). Por ello, debe atenderse a la selección de la levadura que se va a utilizar para asegurar que se use la que sea capaz de activar la fermentación en el rumen (Newbold *et al.* 1995).

No hay muchos trabajos que abarquen la utilización de levaduras que no pertenecen al género *Saccharomyces* como activadoras de los procesos ruminales y mejoradoras del crecimiento y la producción de animales rumiantes.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de preparados biológicos con levaduras que pertenecen o no al género *Saccharomyces* en la población microbiana ruminal y en indicadores fermentativos en vacas canuladas.

Materiales y Métodos

Tratamientos y diseño. Se utilizaron 4 vacas Holstein canuladas en rumen, en un diseño cuadrado latino (4 x 4). Los animales se estabularon en cubículos individuales. Consumieron forraje diariamente y agua a voluntad, 500 g de soya y 50 g de sales minerales.

Se estudió la inclusión de preparados microbianos de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y LEVICA-25, solos y combinados en una dosis de 10 g/animal/d, de la materia seca del preparado. Los tratamientos fueron: A) sin levadura (control), B) con levadura *S. cerevisiae*, C) con levadura LEVICA-25 y D) con mezcla de ambas levaduras (5 g de la MS del preparado de cada una).

Procedimiento experimental. Los animales se adaptaron a los tratamientos durante 12 d. Los períodos de muestreo duraron 2 d. Los preparados de levaduras se ofertaron una vez al día, en horario de la mañana. Estos se mezclaron con la harina de soya, según las cantidades indicadas para los tratamientos y se les ofreció en comederos independientes, al igual que la sal mineral. En el tratamiento D, los preparados de ambas levaduras se mezclaron en el momento de ofertarlos al animal. Se tomaron muestras del líquido del rumen en dinámica, antes y a las 4, 8, 12 y 24 h después de consumido el alimento. Posteriormente, se realizaron las siguientes mediciones: bacterias viables totales, bacterias celulolíticas, bacterias proteolíticas, hongos celulolíticos, protozoos, pH, amoníaco y AGCC totales. Las siembras sólo se realizaron a las 0, 4 y 8 h. El forraje tuvo como promedio la siguiente composición: 92.49 % de MS, 7.82 % de cenizas, 4.68 % de PB, 0.72 % de Ca, 0.13 % de P.

Obtención de los preparados. Los preparados se obtuvieron semanalmente y se cultivaron en medio diseñado por Rodríguez *et al.* (2005). Las cepas *S. cerevisiae* y LEVICA-25 procedían del Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) y del Instituto de Ciencia Animal (ICA), respectivamente. Se prepararon preinóculos de las levaduras en 500 mL de caldo extracto de malta con 16 h de crecimiento a 30 °C. Posteriormente, se tomaron 50 mL para inocular en 500 mL

del medio diseñado por Rodríguez *et al.* 2005, contenidos en erlenmeyers de 1 L de capacidad. Estos preparados se incubaron en las mismas condiciones y a las 16 h se retiraron de la incubadora y se conservaron a 4 °C hasta su utilización.

Análisis microbiológicos y químicos. Se utilizó la técnica de cultivo de Hungate (1970) en tubos roll y en condiciones de anaerobiosis estricta. La siembra de bacterias viables totales y celulolíticas se realizó en los medios de cultivo de Caldwell y Bryant (1966), modificado por Elías (1971). Para la determinación de la población fungal se utilizó el medio de cultivo de Joblin (1981). Las siembras de bacterias proteolíticas se hicieron por el método anteriormente señalado, pero con adición de 10 % de leche descremada. Galindo *et al.* (1984) informó la composición de los medios de cultivo. Las muestras para conteos de protozoos se preservaron en formol al 10 %, en una dilución 1:1 (v/v) y las levaduras, a 4 °C. Ambos se contaron posteriormente en microscopio óptico, en cámara de Neubauer. Los protozoos se tiñeron con una solución de violeta genciana al 0.01 % en ácido acético glacial al 1 %. Las levaduras se contaron según método de Painting y Kirsop (1990). Los análisis bromatológicos se realizaron según la metodología descrita por la AOAC (1995). Los AGCC totales se determinaron según Pennington (1952). El pH se midió en pH-metro digital, marca WPA.

Análisis estadístico. Se utilizó el análisis de varianza multivariado para conocer el comportamiento de la interacción tratamiento x horario. En los casos donde hubo interacción significativa se empleó la aproximación al diseño de parcela dividida. En caso contrario se usó el cuadrado latino. Se procesaron los datos como parcelas divididas. Se tomó como parcela principal el tratamiento y como subparcela, los horarios. Cuando los resultados del análisis matemático fueron significativos, se utilizó la dócima de Duncan (1955). Los conteos de microorganismos viables se transformaron según Log N, para garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento. Para el análisis se aplicó la fórmula $(K + N) \cdot 10^x$, donde:

K - es la constante que representa el logaritmo de la dilución en la que se inoculó el microorganismo

N - es el logaritmo del conteo de colonias, determinado como ufc/mL, uft/mL, o células/mL.

10 - es la base de los logaritmos

X - es la dilución a la que se efectuó la inoculación.

Cuando el conteo fue igual a cero, se sumó una constante ($x + 0.375$). Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico InfoStat (2002).

Resultados y Discusión

Sólo hubo interacción entre los tratamientos y las horas de muestreo para los conteos de bacterias viables totales y levaduras. Las primeras presentaron los mayores crecimientos ($P < 0.001$) en los tratamientos que incluyeron preparados de levaduras, con 2.81, 3.05, 2.69, 10^{11} ufc/mL para *S. cerevisiae*, LEVICA-25 y la combinación de ambas, respectivamente, a las 2 h después de adicionado el alimento (tabla 1). Sin embargo, debe destacarse que a la hora 4, en los tratamientos que incluían LEVICA-25, sola o combinada, los conteos de bacterias viables se mantuvieron por encima del resto de los tratamientos. Esto muestra un efecto activador más prolongado cuando se incluye dicha cepa.

Los incrementos que se obtuvieron en las poblaciones de bacterias viables totales, cuando se utilizaron cepas de levaduras como aditi-

vos en dietas para rumiantes, se repiten en la literatura disponible (Wallace y Newbold 1992 y Dawson y Girad 1997). Esto pudiera deberse a que las levaduras proveen de varios factores de crecimiento, provitaminas y micronutrientes, que estimulan el crecimiento bacteriano (Beharka y Nagaraja 1991 y Newbold *et al.* 1995).

La respuesta de las bacterias viables totales concuerda con el comportamiento que se obtuvo en las poblaciones de levaduras (tabla 2). En estas, en el tratamiento con *S. cerevisiae*, hubo disminución de las 2 a las 4 h, mientras que en los tratamientos que incluyeron LEVICA-25, sola o combinada, la población de levaduras se incrementó ($P < 0.001$) en el tiempo y llegó a ser de 0.07, 0.06, 10^6 ufc/mL, respectivamente, aunque fue muy superior en el tratamiento donde se incluyó LEVICA-25 sola. Esto indica que esta levadura presenta mayor supervivencia en las condiciones del rumen, al compararla con *S. cerevisiae*, lo que es lógico si se tiene en cuenta que esta se aisló de dicho ecosistema.

Al parecer, casi toda la actividad estimuladora de la levadura en el rumen está asociada a la célula viva. Sus mayores efectos están entre las 2 y 4 h (Vanneeta *et al.* 1998). Esto se corroboró en los resultados de este experimento. Sin embargo, la falta de crecimiento de las levaduras no debe confundirse con la carencia de actividad metabólica. Este hecho fue confirmado por Kung *et al.* (1997), quienes hallaron que *S. cerevisiae* fue metabólicamente activa en el fluido ruminal hasta las 48 h, lo que pudiera explicar los efectos

Tabla 1. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la población de bacterias viables totales, 10^{11} ufc/mL

Tiempo, h	Tratamientos				EE $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	0.76 ^{ab} (2.18)	0.98 ^b (2.75)	1.04 ^b (3.03)	0.42 ^a (1.58)	0.14***
2	2.33 ^{cd} (10.65)	2.81 ^e (16.70)	3.05 ^e (21.33)	2.69 ^{de} (14.90)	
4	1.11 ^b (3.05)	2.17 ^c (9.08)	2.71 ^{de} (15.23)	2.36 ^{cd} (11.13)	

abcdeLetras diferentes difieren $P < 0.05$ (Duncan 1955)

*** $P < 0.001$

Datos transformados según Ln X

Entre paréntesis medias originales

Tabla 2. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la población de levaduras viables, 10^6 uft/mL

Tiempo, h	Tratamientos				EE $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	0.05 ^{bc} (1.57)	0.03 ^a (0.30)	0.03 ^a (0.27)	0.05 ^{bc} (1.42)	0.02***
2	0.05 ^{cd} (2.92)	0.07 ^e (9.45)	0.04 ^b (0.87)	0.05 ^b (1.27)	
4	0.04 ^a (0.40)	0.05 ^{cd} (2.37)	0.07 ^e (10.95)	0.06 ^d (4.00)	

^{abcde} Letras diferentes difieren $P < 0.05$ (Duncan 1955)

*** $P < 0.001$

Datos transformados según Ln X

Entre paréntesis- medias originales

estimuladores que se verificaron en las poblaciones celulolíticas a las 24 h (tabla 3). Estas diferencias ($P < 0.05$) muestran que las bacterias celulolíticas se duplicaron en los tratamientos con *S. cerevisiae* y con la combinación de ambas levaduras con respecto al control, y casi triplicaron su valor en el de LEVICA-25. Por otra parte, aunque no se encontraron diferencias matemáticas, a la hora 2 después del consumo, las poblaciones de bacterias celulolíticas fueron 1.7 y 2 veces superiores al control en los tratamientos con LEVICA-25 y en la combinación de ambas levaduras, respectivamente.

El comportamiento de las poblaciones de bacterias y hongos celulolíticos fue similar (tabla 4). Los conteos antes del consumo del alimento fueron superiores al control ($P < 0.01$), con valores de 0.31, 0.41, 0.32, 10^2 uft/mL para

los tratamientos con *S. cerevisiae*, LEVICA-25 y su combinación, respectivamente. Por otra parte, aunque no se encontraron diferencias a la hora 2, en todos los tratamientos los valores duplicaron al control y, en el caso de la inclusión de LEVICA-25, la diferencia de valores se mantuvo hasta la hora 4 después del consumo.

Para analizar el comportamiento de las poblaciones de bacterias y hongos, deben analizarse varios aspectos. Primeramente, debe considerarse que, aunque el forraje se ofertó a voluntad, los comederos de tipo mexicano utilizados no permiten el acceso permanente de los animales al forraje, ya que éstos los mueven con la cabeza y los alejan de su alcance. Esto limitó el consumo en el horario nocturno, donde no está presente el personal para acercar el alimento durante el día. A lo anterior se une la rápida ingestión

Tabla 3. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la población de bacterias celulolíticas, 10^3 ufc/mL

Tiempo, h	Tratamientos				EE $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	0.36 ^a (4.00)	0.42 ^{ab} (7.25)	0.48 ^b (11.75)	0.44 ^b (8.75)	0.02*
2	0.43 (8.25)	0.47 (11.25)	0.48 (14.25)	0.51 (16.50)	0.03
4	0.47 (11.75)	0.47 (12.00)	0.51 (16.25)	0.52 (19.50)	0.02

^{ab} Letras diferentes difieren $P < 0.05$ (Duncan 1955)

* $P < 0.05$

Datos transformados según Ln X

Entre paréntesis- medias originales

Tabla 4. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la población de hongos celulolíticos, 10^3 uft/mL

Tiempo, h	Tratamientos				ES $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	0.24 ^a (1.50)	0.31 ^b (2.86)	0.41 ^c (6.32)	0.32 ^b (2.80)	0.02**
2	0.31 (2.69)	0.38 (5.16)	0.44 (8.58)	0.42 (7.01)	0.03
4	0.29 (2.02)	0.32 (2.65)	0.37 (4.35)	0.32 (2.85)	0.03

^{abc} Letras diferentes difieren $P < 0.05$ (Duncan 1955)

** $P < 0.01$

Datos transformados según Ln X

Entre paréntesis- medias originales

de la soya (sola o mezclada) con el preparado por parte de los animales, así como de las sales minerales ofertadas inmediatamente después que se extrajo el líquido ruminal.

Partiendo de lo anterior, y teniendo en cuenta que la hora 0 coincide con la hora 24 post alimentación, se infiere que pudo existir un efecto de dilución por desplazamiento de la fase líquida del rumen en las primeras horas después del consumo del alimento. Esto no ocurrió a la hora 0, donde se pudo encontrar con mayor claridad el efecto estimulador de la adición de los preparados con levaduras en los conteos de bacterias y hongos celulolíticos. Por otra parte, no debe obviarse que los microorganismos se contaron a partir de muestreos en la fase líquida del rumen. Esto contribuyó a hacer más marcado el efecto dilutor y explica los bajos conteos que se obtuvieron, independientemente de los tratamientos, ya que las bacterias celulolíticas que se asocian a las partículas de alimentos son numéricamente predominantes en el rumen (Kolke *et al.* 2003).

Debe recordarse que el primer paso en la digestión de la fibra es la adherencia de los microorganismos al material de la planta. Esto no es sólo importante para el proceso digestivo en sí, sino que también protege a los microorganismos, específicamente a las bacterias celulolíticas, de ser arrastradas fuera del rumen (Cheng *et al.* 1990). Lo anterior se confirmó en los resultados de Delgado (2005), quien en un estudio en iguales condiciones encontró disminución de la

fase lag en la dinámica de degradación *in situ* de la materia seca de *C. nlemfuensis*, cuando se incluyeron los mismos preparados de levaduras.

Si se tiene en cuenta la baja calidad del forraje que se suministró (4.68 % de proteína bruta y 0.13 % de fósforo) y la suplementación con soya y sales minerales, puede explicarse el crecimiento acelerado de las poblaciones de microorganismos (totales, celulolíticos y proteolíticos), independientemente del tratamiento, a las 2 y 4 h después del suministro del alimento, ya que la soya pudo aportar almidón, péptidos y aminoácidos al ecosistema ruminal y estos últimos aumentan la eficiencia del crecimiento microbiano (Dewhurst *et al.* 2000).

La hipótesis del efecto del aporte de nitrógeno de la soya se respalda con trabajos recientes de Elías (2004), quien informó conteos de bacterias viables totales muy por debajo de los valores que se obtuvieron en este experimento, cuando suministró heno de muy baja calidad sin ninguna fuente de proteína suplementaria. Esto coincide con la eficiencia en el crecimiento microbiano informado por Dove y Milne (1994) y Carruthers *et al.* (1997) en animales en pastura de baja calidad. Por otra parte, Elías, A., Ruiz, T.E. y Herrera, F. (2005, datos no publicados) no encontraron péptidos y aminoácidos libres en el rumen de toros en pastoreo de gramíneas de mediana a baja calidad, con características similares a las del alimento principal ofertado en este experimento.

Son abundantes los estudios *in vivo* en los que se observó aumento en las poblaciones de bacterias celulolíticas, incluso en mayor proporción que las bacterias viables totales, cuando se incluyeron levaduras como aditivos. Harrison *et al.* (1988) encontraron dicha respuesta en vacas con dietas altas en concentrado. Así, el aumento en la población de bacterias y hongos celulolíticos en el rumen puede explicar el incremento en la digestibilidad de materia seca y fibra detergente ácido, así como en la tasa de degradación de fibra que se verificó en animales que reciben levaduras (Offer 1990).

Aunque Willians y Newbold (1990) consideraron que la eficiencia de los cultivos de levaduras en la actividad microbiana ruminal es más pronunciada en animales con dietas que contienen concentrado que en las altas en fibra, en este trabajo se mostró el efecto estabilizador del crecimiento microbiano que produjeron los preparados de levaduras. En los que no recibieron levaduras, las bacterias viables totales llegaron a su máximo crecimiento a las dos horas después del consumo de alimento, mientras que en los tratamientos que incluyeron LEVICA-25, éste se mantuvo hasta las 4 h. Desde el punto de vista energético, los microorganismos llegan a esta etapa con plenitud de sus requerimientos para la producción de biomasa y la preparación de la fase de inanición. De este modo, son capaces de almacenar vastas cantidades de polisacáridos en forma de gránulos citoplasmáticos, que pueden llegar al 75 % del peso seco microbiano (Stewart *et al.* 1981). Es evidente que después

de las 4 h, los microorganismos pasaron a la fase de latencia, en la que los carbohidratos celulares y posiblemente ácidos nucleicos, proteínas y otros polímeros celulares, pudieron proveer de energía de mantenimiento durante el período de inanición (Mink y Hespell 1981). Durante este tiempo, muchas especies de bacterias pierden viabilidad por inanición y un gran número de ellas perece. Al parecer, las poblaciones celulolíticas (bacterias y hongos), se mantuvieron en este período hasta las 24 h posteriores al consumo de la soya, en los tratamientos donde los animales consumieron los preparados de levaduras.

Algo similar ocurrió en las poblaciones de bacterias proteolíticas, aunque no se comprobó efectos con la adición de los preparados de levaduras. En la tabla 5 puede observarse, que los conteos estuvieron en el orden de 1 a $2 \cdot 10^7$ ufc/mL, muy superiores a los de las poblaciones celulolíticas, a pesar de tratarse de una dieta alta en fibra. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las bacterias proteolíticas comprenden del 12 al 43 % del total de la población bacteriana en el rumen y que, dentro de los géneros de mayor actividad, se encuentran bacterias de importante actividad en la degradación de la fibra. Así, *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Streptococcus bovis* desempeñan un papel primordial en la degradación de la hemicelulosa y la pectina (Nava y Díaz 2003). Por otra parte, este hecho confirma que no todas las bacterias del rumen se estimulan en igual proporción por la inclusión de levaduras y que al pa-

Tabla 5. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la población de bacterias proteolíticas, 10^7 ufc/mL

Tiempo, h	Tratamientos				ES $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	1.06 (2.90)	1.11 (3.08)	1.21 (3.38)	1.06 (2.93)	0.06
2	2.08 (8.08)	2.61 (13.95)	2.58 (13.43)	2.35 (10.95)	0.15
4	0.69 (2.35)	1.13 (3.10)	1.08 (3.03)	1.31 (3.88)	0.23

Datos transformados según Ln X
Entre paréntesis- medias originales

recer, hay afinidad por determinadas especies (Newbold *et al.* 1998).

En la tabla 6 se muestra que no se encontraron variaciones entre los tratamientos en las horas en estudio para la población de protozoos ruminales, los que se mantuvieron en el orden de 10^4 cel/mL. En cuanto a los efectos de la inclusión de levaduras en la población de protozoos ruminales, los resultados son variables. Así, Kumar *et al.* (1994), Newbold *et al.* (1995) y Kamra *et al.* (2002) no hallaron modificaciones en búfalos, ovinos y bovinos en crecimiento, respectivamente; mientras que Arakaki *et al.* (2000) y Akkar *et al.* (1999) ofertaron dietas con concentrado a toros y búfalos y observaron aumento en la población de protozoos ruminales. Plata *et al.* (1994) comprobaron este mismo efecto en novillas.

En las tablas 7 y 8 se muestran los valores de pH y las concentraciones de AGCC totales, respectivamente. La inclusión de los preparados con levaduras no causó efecto en estos indicadores. El pH se mantuvo en valores cercanos a la neutralidad, desde 6.8 a 7.2 y los AGCC totales, entre 70 y 80 mmol/L, los que se

consideran normales para la dieta fibrosa de baja calidad consumida por los animales.

Existe variabilidad en la respuesta del pH a la inclusión de levaduras. Varios autores comprobaron que diferentes cepas de *S. cerevisiae* pueden aumentar el pH (Rader 1999 y Kamra *et al.* 2002) o disminuir su variabilidad en dietas altas en concentrado (Jeong *et al.* 1998), al parecer por estimulación de las poblaciones que consumen lactato. Por tanto, en dietas altas en fibra no se encuentran respuestas en el pH, lo que también se relaciona con la no variabilidad en la concentración de AGCC encontrada en este estudio.

El no hallar aumento en la concentración de AGCC totales pudo deberse a que los microorganismos ruminales requieren ácidos grasos volátiles para la degradación de la fibra y los utilizan como fuente de carbono para sintetizar aminoácidos (Yang 2002). Por estas razones, el aumento de las poblaciones de bacterias viables totales y celulolíticas que se verificó pudo provocar también el consumo de estos ácidos en el rumen.

Tabla 6. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en los conteos de protozoos, 10^4 cel/mL

Tiempo, h	Tratamientos				ES $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	0.04 (1.55)	0.05 (1.18)	0.05 (1.85)	0.05 (2.62)	0.01
2	0.05 (1.58)	0.04 (1.32)	0.03 (1.29)	0.05 (2.02)	0.01
4	0.04 (1.34)	0.03 (1.72)	0.03 (0.86)	0.04 (1.81)	0.01
8	0.25 (1.07)	0.03 (1.65)	0.04 (1.65)	0.03 (0.77)	0.01

Entre paréntesis medias originales

Tabla 7. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en el pH ruminal

Tiempo, h	Tratamientos				ES $\pm$ Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	7.26	7.31	7.15	7.11	0.11
2	7.16	7.27	7.15	7.22	0.06
4	7.24	7.11	6.87	6.98	0.12
8	7.02	7.01	6.92	7.33	0.11

Tabla 8. Efecto de la inclusión de preparados de levaduras en la concentración de AGCC en el rumen (mmol/L)

Tiempo, h	Tratamientos				ES ± Sign
	Control (sin levadura)	<i>S. cerevisiae</i>	LEVICA 25	<i>S. cerevisiae</i> + LEVICA 25	
0	74.83	71.60	80.87	74.12	4.92
2	77.41	75.17	78.69	75.78	7.94
4	70.41	73.47	79.95	72.07	5.54
8	77.54	74.45	79.87	73.67	4.23

Los resultados de este estudio permiten plantear que la inclusión de preparados microbianos de las levaduras *S. cerevisiae* y LEVICA-25, solos y combinados, en vacas que consumen dietas fibrosas, provocó una estimulación de la población microbiana ruminal y, en especial, de la celulolítica. El efecto más marcado lo provocó la cepa LEVICA-25. Todo parece indicar que dicha cepa presenta mayor adaptabilidad a las condiciones estresantes del rumen, lo que la sitúa en una posición ventajosa con respecto a *S. cerevisiae*. Por tanto, se hace imprescindible conducir estudios de su efecto en los indicadores productivos de los rumiantes.

Agradecimientos

Se agradece la valiosa colaboración de los trabajadores del Departamento de Apoyo Técnico del ICA y, en especial, a la compañera Maria Antonia Baéz por su entrega sin límites al buen desarrollo de las investigaciones.

Referencias

- AOAC 1995. Official Method of Analysis. 16th Ed. Ass. Off. Agric. Chem. Washington, D.C.
- Akkar, M., Kuldip, A., Kumari, R. & Singh, N. 1999. Effect of feeding bypass protein with and without biopromoters on milk production, and certain rumen and blood metabolites in lactating Murrah buffaloes. Indian J. Anim. Sci. 69:967
- Arakaki, L.C., Stahringer, R.C., Garrett, J.E. & Dehority, B.A. 2000. The effects of feeding monensin and yeast culture alone or in combination, on the concentration and generic composition of rumen protozoa in steers fed on low-quality pasture supplemented with increasing levels of concentrate. Anim. Feed Sci. Tech. 84:121
- Beharka, A.A. & Nagaraja, T.G. 1991. Effects of *Aspergillus oryzae* extract (AMAFER) on ruminal fibrolytic bacteria and *in vitro* degradation. Abstracts 21st Biennial Conference on Rumen Function. Chicago. p. 32
- Caldwell, D.R. & Bryant, M.P. 1966. Medium without fluid for non selective enumeration and isolation of rumen bacteria. Appl. Microb. 14:794
- Carruthers, V.R., Neil, P.G. & Dalley, D.E. 1997. Effect of altering the non- structural:structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. J. Anim. Sci. 64:393
- Cheng, K.J., McAllister, T.A., Kudo, H. & Consterton, J.W. 1990. The importance of adhesion in the microbial digestion of plant materials. Eds. Hoshino *et al.* The rumen ecosystem. Japan. Soc. Press. Tokyo. p.129
- Dawson, K.A. & Girard, I.D. 1997. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. En: Biotechnology in the Feed Industry. Eds. T.P. Lyons & K.A. Jacques. Nottingham University Press. Nottingham, UK. p. 293
- Delgado, D. 2005. Utilización de microorganismos viables como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Informe técnico. Instituto de Ciencia Animal
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometric 11:1.
- Dewhurst, R.J., Davies, D.R. & Merry, R.J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. Animal feed Sci. and Tech. 85:21
- Dove, H. & Milne, J.A. 1994. Digesta flow and rumen microbial protein production in ewes grazing perennial ryegrass. Aust. J. Agric. Res. 45:1229
- Elías, A. 1971. The rumen bacteria of animals fed on a high molasses-urea diet. Thesis Ph.D. Aberdeen

- Elías, A. 2004. Efectos de las fuentes de energía en la población microbiana ruminal de terneros Frisian. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 38:381
- Galindo, J., Elías, A. & Cordero, J. 1984. La adición de zeolita a la dieta de ensilaje. II. Efecto de la zeolita en la población microbiana ruminal de vacas que consumen ensilaje. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 18:55
- García, C.C., Mendoza, M.G., González, M.S., Cobos, P.M., Ortega, C.M. & Ramírez, L.R. 2000. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Anim. Fd. Sci. Tech.* 83:165
- Harrison, G.A., Hemken, R.W., Dawson, K.A., Harmon, R.J. & Barker, K.B. 1988. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.* 71:2967
- Hungate, P.E. 1970. A roll tube method for cultivation in microbiology. Eds. J.B. Morris and D.B. Ribbons. Academic Press, New York. Inc. p. 117
- InfoStat. 2002. InfoStat professional. Versión 1.1. Universidad de Córdoba. Estadística y Diseño-F.C.A. Córdoba, Argentina
- Jeong, H.Y., Kim, J.S., Ahn, B.S., Cho, W.M., Kweon, U.G., Ha, J.K. & Chee, S.H. 1998. Effect of direct-fed microbials (DFM) on milk yield, rumen fermentation and microbial growth in lactating dairy cows. *Korean J. Dairy Sci.* 20: 247
- Joblin, K.N. 1981. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *App. Environ. Microb.* p. 1119
- Kamra, D.N., Chaudhary, L.C., Neeta-Agarwal, S.R., Pathak, N.N. & Agarwal, N. 2002. Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented Diet. *Indian-J. Animal Sci.* 72: 472
- Kolke, S., Pan, J., Kobayashi, Y. & Yanaka, K. 2003. Kinetics of in sacco fiber attachment of representative ruminal cellulolytic bacteria monitored by competitive PCR. *J. Dairy Sci.* 86:1429
- Kumar, U., Sareen, V.K. & Singh, S. 1994. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture supplement on ruminal metabolism in buffalo calves given a high concentrate diet. *Anim. Prod.* 59:209
- Kung, L., Kreck, E.M., Tung, R.S., Hession, A.O., Sheperd, A.C., Cohen, M.A., Swain, H.E. & Leedle, J.A.Z. (1997) Effects of a live yeast culture and enzymes on *in vitro* ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 2045-2051.
- Mathieu, F., Jouany, J.P., Senaud, J., Bothaiter, J., Bertin, G. & Mercier, M. 1996. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentation in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. *Reprod. Nutr. Dev.* 36:271
- Mink, R.M. & Heapel, R.B. 1981. Survival of *Megasphaera eldenii* during starvation. *Curr. Microbial.* 51:6
- Nava, C. & Díaz, A. 2003. Introducción a la digestión ruminal. Disponible en: <http://www.veterin.unam.mx/enlinea/ruminal/digest_ruminal.htm>. [Fecha de consulta: diciembre 2004]
- Newbold, C.J., McIntosh, F.M. & Wallace, R.J. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacteria *in vitro* and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 1811
- 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 J. Animal Sci.* 78:241
- Offer, N.W. 1990. Maximising fiber digestion in the rumen: the role of yeast culture. En: *Biotechnology in the Feed Industry*. Eds. T.P. Lyons. Autech Tech. Publications. Nicholasville, Kentucky. p. 79
- Painting, K. & Kirsop, B. 1990. A quick method for estimating the percentage of viable cells in a yeast population, using methylene blue staining. *World J. Microbiol. Biotech.* 6: 346
- Pennington, R.G. 1952. The metabolism of short chain fatty acid in sheep. I. Fatty acids utilization by rumen epithelium on other tissues. *Biochem J.* 51:251
- Plata, F.P., Mendoza, G.D.M., Barcena-Gama, J.R. & González, S.M. 1994. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. *Anim. Feed Sci. Tech.* 49:203
- Rader, V. 1999. Influence of the yeast culture (Yea-Sacc-1026) on the rumen metabolism in sheep. *Bulgarian J. Agric. Sci.* 5:663
- Rodríguez, Z., Boucourt, R., Nuñez, O. & Herrera, F. 2005. Utilización de microorganismos viables como mejoradores de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Informe técnico. Instituto de Ciencia Animal. La Habana
- Sterwart, C.S., Paniagua, C., Dinsdale, D., Cheng, K.J. & Garroco, S.H. 1981. Selective isolation and characteristic of *Bacteroides succinogenes*

- from the rumen of a cow . Appl Microbiol. 41:504
- Vaneeta, K., Kumar, U., Sareen, V.K., Sudarshan, S., Koul, V., Kumar, U. & Singh, S. 1998. Mode of action of yeast culture (YEA-SACC 1026) for stimulation of rumen fermentation in buffalo calves. J. Sci. Food and Agric. 77: 407
- Wallace, R.J. & Newbold, C.J. 1992. Probiotics for Ruminants. En: Probiotics, The Scientific Basis. Eds. R. Fuller. Chapman and Hall. London. p. 317
- Willians, P.F.V. & Newbold, J. 1990. Rumen probiosis: The effect of novel microorganism on rumen fermentation and ruminat productivity. En: Haresign y D.J.A. Cole. Recent avances in animal nutrition. Butterworth, London. p. 211
- Yang, C.M. 2002. Response of forage fiber degradation by ruminal microorganism to branched chain volatile fatty acids, amino acids and dipeptides. J.Dairy Sci. 85: 1183

Recibido: 18 de noviembre de 2005.