

Efecto de un hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones en la dinámica fermentativa ruminal del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en condiciones *in vitro*

A. Díaz Reyes¹, Juana Galindo², R. Bocourt², Ana I. Aldana², Onidia Moreira² y Lucía Sarduy²

¹Universidad de Matanzas «Camilo Cienfuegos», Autopista a Varadero, km 3 ½, Matanzas, C.P. 44740, Cuba
Correo electrónico: alexey.diaz@umcc.cu

²Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana

Se realizó un experimento en condiciones *in vitro* para evaluar el efecto de un hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones en la dinámica fermentativa ruminal del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). El hidrolizado enzimático se dividió en tres fracciones: sobrenadante, pellet total y pellet lavado. Los tratamientos que se compararon fueron: A) control, B) hidrolizado de levadura (PC), C) sobrenadante (S), D) pellet bruto (PT) y E) pellet lavado (PL). Se utilizó como sustrato el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). El diseño experimental fue completamente aleatorizado con arreglo factorial 5 x 11 para la producción de gas y 5 x 7 para los productos finales de la fermentación y la población de protozoos. La inclusión del PC favoreció mayor potencial de producción de gas. La fase lag de crecimiento microbiano, estimada a partir de la producción de gas, fue más baja cuando se utilizó el PC con respecto al control y a las diferentes fracciones. El logaritmo de la población de protozoos ruminales presentó valores entre 1.52 (7.95 x 10⁴ célula/mL) para el tratamiento con PL y 1.95 (10.55 x 10⁴ célula/mL) con el PC, sin diferencias entre las fracciones. Se concluye que el hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones ejerce efecto beneficioso en la dinámica fermentativa ruminal *in vitro* de *Cynodon nlemfuensis* y se destaca que el PC es superior para estos propósitos.

Palabras clave: rumen, *Saccharomyces cerevisiae*, pellet, fermentación, protozoo, *Cynodon nlemfuensis*.

En los animales rumiantes, los efectos del uso de aditivos microbianos o sus derivados provocan modificaciones de los procesos digestivos y metabólicos, que se traducen en el aumento de la eficiencia de utilización de los alimentos y en el incremento de la capacidad productiva. De igual manera, aumenta la concentración de ácido propiónico y disminuye la producción de metano y ácido láctico, al igual que la degradación proteica y la desaminación de los aminoácidos, que involucra a las poblaciones microbianas encargadas de la fermentación de los sustratos. Todos estos cambios aumentan la eficiencia del metabolismo energético y nitrogenado en el rumen (Carro y Ranilla 2002).

Las investigaciones en nutrición animal en los últimos años se han dirigido a optimizar la eficiencia productiva del ganado por manipulación de la comunidad microbiana que habita en el tracto gastrointestinal de estos animales (Galindo y Marrero 2005). En este sentido, una de las vías que más se ha explotado es el uso de aditivos, entre los que se estudian un gran número de sustancias: antibióticos, ácidos orgánicos, extractos vegetales y enzimas (Jouany 1994, Dean *et al.* 2005, Busquet *et al.* 2006 y Carro *et al.* 2006). Sin embargo, el empleo de la mayoría de estos productos no es una alternativa viable en nuestras condiciones por su elevado costo de producción y por las restricciones ambientales que se establecen a nivel internacional debido a los efectos secundarios y residuales que provocan estos aditivos en la salud animal y humana.

Según Pérez (2000), a partir de la hidrólisis enzimática de la levadura *S. cerevisiae*, presente en el residuo de la destilación de alcohol de la caña de azúcar, puede

obtenerse un hidrolizado enzimático con efectos probióticos en aves y buenos resultados en indicadores fisiológicos, inmunológicos y productivos. Sin embargo, en Cuba no se han realizado trabajos que refieran el uso de este producto en animales rumiantes para evaluar su efecto como activador de los procesos fermentativos ruminales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y de sus diferentes fracciones en la dinámica fermentativa del pasto estrella (*C. nlemfuensis*) mediante la técnica de producción de gas *in vitro*.

Materiales y Métodos

El experimento se condujo en condiciones *in vitro*. Se utilizó como sustrato de fermentación el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), que se encuentra extendido en mayor proporción en la ganadería comercial cubana. La muestra de pasto se recolectó en época de seca en áreas de pastoreo en un suelo ferralítico rojo típico (Hernández *et al.* 1999). La recolección se realizó de forma manual, simulando el ramoneo que hacen los animales. Se recolectaron 2 kg de materia verde. El material se secó en estufa a 60 °C durante 48 h. Posteriormente, se molió hasta alcanzar un tamaño de partículas de 1 mm. La composición química del pasto se muestra en la tabla 1.

El líquido de rumen procedía de dos toros mestizos Holstein x Cebú, canulados en el saco dorsal, con peso promedio de 450 kg. Estos animales se mantuvieron en condiciones de estabulación y se adaptaron a la dieta que se utilizó como sustrato durante los 14 d previos a la toma de muestra. El líquido ruminal se filtró por muselina.

Tabla 1. Composición química del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) (% Base Seca)

Cenizas	Ca	P	PB	FND	FAD	Celulosa	Lignina
8.93±0.28	0.30±0.01	0.34±0.03	12.21±1.00	63.04±3.70	47.26±1.31	35.69±1.42	6.29±0.34

El procedimiento se realizó bajo atmósfera de CO₂, con el propósito de garantizar las condiciones de estricta anaerobiosis.

El hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo de acuerdo con la metodología de Pérez (2000). Al hidrolizado que se logró a partir de este procedimiento se le denominó producto completo (PC). A partir del mismo se obtuvieron las fracciones pellet bruto (PT), pellet lavado (PL) y sobrenadante (S), según Díaz (2008).

Tratamientos. Los tratamientos fueron los siguientes: A) control (C), B) producto completo (PC), C) pellet bruto (PT), D) pellet lavado (PL) y E) sobrenadante (S).

El tratamiento control consistió en pasto estrella (*C. nlemfuensis*). Las dosis evaluadas fueron: 75.0 ml, 40.58 g, 44,19 g y 195.5 mL para el producto completo y las fracciones pellet bruto, pellet lavado y sobrenadante, respectivamente. Esto representa 0.016 g de MS de cada una de las fracciones y equivale a 0.02 % en base seca con respecto al contenido del inóculo.

Para la selección de las dosis se tuvo en cuenta estudios precedentes realizados por Pérez (2000). En tabla 2 se muestra la composición química del hidrolizado y las fracciones utilizadas.

magnesio (Mg) se procedió según Herrera *et al.* (1980) y para el fraccionamiento de la fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA), celulosa y lignina se adoptó la metodología de Goering y van Soest (1970).

Análisis estadístico. Para la producción de gas, los resultados experimentales se analizaron mediante el software estadístico Infostat versión 1. (2001). Se realizó análisis de varianza de clasificación simple para cada horario. Se aplicó la dócima de Duncan (1955) para $P < 0.05$.

Para los productos finales de la fermentación y la población de protozoos se efectuó análisis de varianza de clasificación simple, con arreglo factorial 5 x 7. Se aplicó la dócima de Duncan (1955) para $P < 0.05$.

Procedimiento experimental. Se utilizaron 36 botellas de vidrio con tapón de butilo y agrafe, de 100 mL de capacidad. Estas se ubicaron en un baño de incubación a 39 °C. Las botellas con cada uno de los tratamientos que se iban a evaluar se depositaron de forma aleatoria dentro del baño. Contenían 80 mL de la mezcla integrada por líquido de rumen y solución tampón en la relación 1:3 y 0.8 g del alimento base (pasto estrella)

Tabla 2. Composición química del hidrolizado enzimático de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones

Fracción	% MS	% de la MS					
		PB	PV	Cen	Ca	P	Mg
PC	21.26±0.00	4.66±0.16	3.37±0.11	12.32±0.01	8.12±0.03	0.36±0.01	3.52±0.02
S	6.99±0.01	3.2±0.23	2.24±0.23	4.72±0.01	0.84±0.06	0.23±0.01	0.50±0.01
PT	36.10±0.33	7.5±0.33	7.04±0.22	18.80±0.82	3.94±0.09	0.28±0.00	2.52±0.01
PL	40.17±1.17	7.96±0.87	7.34±0.57	21.47±1.08	5.04±0.06	0.30±0.01	3.00±0.00

(PC) producto completo, (PT) pellet bruto, (PL) pellet lavado y (S) sobrenadante

La concentración de amoníaco se determinó mediante la técnica de Conway (1957). El pH del líquido ruminal se midió en pH- metro digital, marca Sartorius (Profesional Meter PP – 225).

Para el conteo de los protozoos, las muestras se preservaron en formol al 10 % en una dilución 1:1 (v/v). Las muestras preservadas se contaron de manera directa al microscopio óptico en cámara de Neubauer. Para esto, los protozoos se tiñeron con una solución de violeta genciana a 0.01 % en ácido acético glacial al 1%.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, en arreglo factorial 5 X 6 (cinco tratamientos con seis horarios de muestreo).

Análisis químico. La materia seca (MS), proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV) y cenizas se determinaron según la metodología descrita por la AOAC (1995). Para los minerales calcio (Ca), fosforo (P) y

Para la determinación de la producción de gas *in vitro* se empleó la técnica de Theodorou *et al.* (1994). Se utilizaron seis botellas: una para cada uno de los tratamientos experimentales y un blanco con líquido de rumen y solución buffer. Como modificación a la técnica se midió la producción de gas en cada intervalo por el desplazamiento del émbolo de una jeringa, al pinchar el tapón de las botellas, a las 1,2,3,4,5,6,7,8,10,12 y 24 h después de iniciada la fermentación. Se efectuaron cuatro réplicas en tiempo.

Para estudiar la cinética de producción de gas se utilizó el modelo planteado por Krishnamoorthy *et al.* (1991).

Las 30 botellas restantes se utilizaron para la determinación de los productos finales de la fermentación.

Los tiempos de incubación fueron 4, 8, 12, 24, 48 y 72 h después de iniciada la fermentación. Se efectuó muestreo antes de iniciada la fermentación (hora 0). Para

determinar la concentración de amoníaco se empleó el residuo líquido del medio de incubación y se calculó su pH.

Resultados y Discusión

La producción de gas *in vitro* como indicador de la capacidad fermentativa ruminal se muestra en la tabla 3. No se encontraron diferencias entre los tratamientos estudiados y las horas de muestreo, lo que pudo deberse a la variabilidad en los datos de medición.

Tabla 3. Efecto de un hidrolizado enzimático de levaduras y sus fracciones en la producción de gas (mL/g de MS) en la fermentación ruminal de *C. nlempuensis in vitro*.

Tiempo, h	Tratamientos					± EE
	C	PC	S	PT	PL	
1	7.81	7.50	8.44	6.72	7.72	1.44
2	4.22	5.09	4.41	5.03	4.81	1.02
3	4.34	5.81	4.47	4.91	5.0	1.20
4	4.12	5.56	4.47	5.28	5.13	1.18
5	4.84	5.47	4.22	4.63	5.44	0.94
6	4.87	6.09	5.19	5.56	5.44	0.69
7	5.41	5.97	5.88	6.25	6.22	0.86
8	4.85	6.38	5.50	5.35	5.63	0.60
10	8.84	10.94	9.66	7.94	9.60	1.19
12	10.69	12.28	10.34	10.53	11.35	0.94
24	33.63	32.50	32.03	30.94	28.44	3.79

(C) control; (PC) producto completo; (S) sobrenadante; (PT) pellet bruto y (PL) pellet lavado.

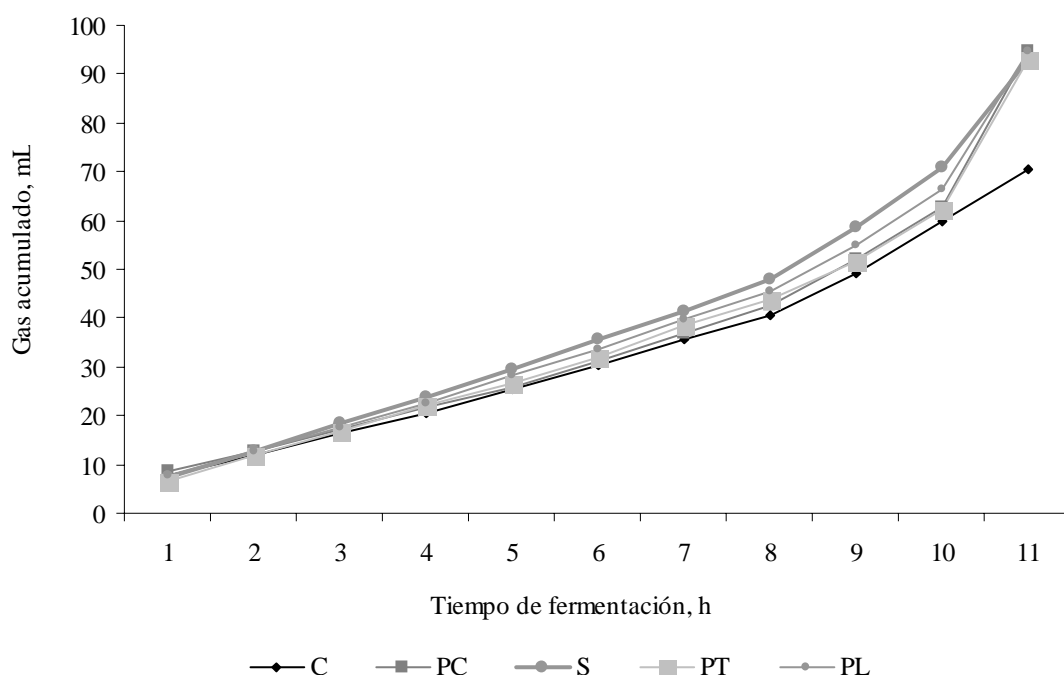
Arambel *et al.* (1987), Beharka y Nagaraja (1993) y Varel *et al.* (1993), al utilizar aditivos microbianos a base del hongo *A. oryzae* para evaluar su efecto en la degradabilidad ruminal *in vitro* de los alimentos fibrosos,

encontraron efectos positivos. Sin embargo, Sosa (2006) al evaluar este mismo microorganismo en diferentes sustratos fibrosos no corroboró efectos beneficiosos. Esto demuestra que la acción de los aditivos para rumiantes en la degradabilidad ruminal puede estar influenciada por diferentes factores, entre los que se encuentran los sustratos, la cepa, los productos utilizados y las características de los animales donantes.

Los resultados encontrados en este estudio indican la necesidad de utilizar dosis superiores del hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones.

Al estudiar la producción de gas acumulada (mL de gas.g de MS incubada⁻¹), se constató que no hubo diferencias entre los diferentes tratamientos (figura 1). Sin embargo, desde el punto de vista biológico, al incluir el hidrolizado en sus diferentes fracciones se obtuvo mayor producción de gas acumulada en el tiempo, con respecto al control. Este último mostró una producción de gas, acumulada en 24 h, de 70.62 mL, mientras que los restantes tratamientos se mantuvieron por encima de 93.0 mL. Esto puede estar dado por la mayor activación de las poblaciones microbianas al suministrar las diferentes fracciones del hidrolizado enzimático de levaduras *S. cerevisiae*.

El tratamiento con el producto completo (tabla 4) mostró un mayor potencial de producción de gas (D). De igual manera, la fase lag de la curva fue la más baja con respecto al control y a las diferentes fracciones cuando se adicionó el PC. Esto demuestra que se logró una adaptación más rápida de la mezcla de microorganismos ruminales al sustrato. Estos resultados sugieren que, cuando se utiliza el hidrolizado enzimático de levaduras en su forma de producto completo (PC),



(C) control; (PC) producto completo; (S) sobrenadante; (PT) pellet bruto y (PL) pellet lavado.

Figura 1. Efecto de un hidrolizado enzimático de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y sus fracciones en la producción de gas acumulado (mL) a las 24 h de incubación

habrá mayor colonización por parte de los microorganismos del rumen, lo que reduce el tiempo de fermentación de los nutrientes.

Marrero (2005) encontró resultados similares al evaluar la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y concluyó que la utilización de este microorganismo en su medio de cultivo es la opción más eficaz para activar la función ruminal. Todo parece indicar que los elementos que garantizan el efecto activador en las poblaciones microbianas están en el hidrolizado, que es el resultado de la hidrólisis enzimática de preparados microbianos con levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

De igual manera, en los diferentes tratamientos no hubo diferencias entre los valores de pH, los cuales estuvieron cercanos a la neutralidad (tabla 5). Estos resultados coinciden con lo planteado por Martin y Nisbet (1992) y Beharka y Nagaraja (1998), quienes indicaron que los aditivos para rumiantes presentan, entre sus funciones, la estabilización del pH, debido a que estos son capaces de estimular el crecimiento y la utilización de lactato por *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas lactilytica* y *Selenomonas ruminantium*.

Cuando se evaluó el comportamiento del amoníaco y el pH en el tiempo de fermentación (tabla 6), hubo

Tabla 4. Parámetros cinéticos de la producción de gas *in vitro* de un hidrolizado de levaduras *S. cerevisiae* y sus fracciones.

Parámetros	Tratamientos				
	C	PC	S	PT	PL
D ± EE mL gas g MS incubada ⁻¹)	90.96±13.73	136.78±6.55	135.49±8.09	127.15±4.83	121.22±5.26
c ± EE (h ⁻¹)	0.067±0.02	0.061±0.01	0.051±0.01	0.056±0.004	0.066±0.01
L± EE (h)	1.38±0.58	0.51± 0.30	0.53 ±0.32	0.59 ±0.22	0.75±0.30
R ² y Sign.	0.95***	0.99***	0.99***	0.99***	0.99***
CM error	12.53	5.43	4.62	3.37	5.02

(C) control, (PC) producto completo, (PT) pellet bruto, (PL) pellet lavado y (S)

*** P < 0.001

En este estudio se encontró que la concentración de amoníaco no difirió entre tratamientos (tabla 5). Estos resultados no coinciden con lo planteado por William y Newbold (1990), quienes afirman que al incorporar cultivos fúngicos y sus derivados a la alimentación de rumiantes se reducen los niveles de nitrógeno amoniacal, como consecuencia de la elevada utilización de amonio para la síntesis de proteína microbiana. Sin embargo, Roa *et al.* (1997) en estudios donde utilizaron levaduras y sus derivados encontraron aumento de amoníaco en rumen.

Tabla 5. Efecto de un hidrolizado de levaduras *S. cerevisiae* y sus fracciones en algunos indicadores de la fermentación ruminal *in vitro*.

Indicador	C	PC	S	PT	PL	± EE
Amoníaco, mmol.L ⁻¹	9.80	9.70	10.96	9.03	9.24	0.59
pH	6.53	6.48	6.51	6.48	6.54	0.04

(C) control; (PC) producto completo; (PT) pellet bruto; (PL) pellet lavado y (S) sobrenadante.

Datos transformados según ln (x).

diferencias (P < 0,05) entre los diferentes horarios de muestreos. A partir de las 8 h de fermentación, el pH comenzó a descender, sin diferencias entre las 8 y 12 h. Los valores más bajos se encontraron a las 48 y 72 h, sin diferencias entre ellos. Al parecer se presentó acumulación de ácidos orgánicos en el medio de fermentación, lo que provoca descenso del pH (Calsamiglia *et al.* 2007).

Desafortunadamente, en este estudio no pudo determinarse la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), lo que podría dar lugar a una explicación más convincente acerca de este efecto, fundamentalmente si se considera que la concentración de amoníaco fue mayor cuando el pH del líquido ruminal fue más bajo, entre las 24 y 72 h después de iniciada la fermentación.

Al analizar el comportamiento de la población de protozoos con respecto a cada uno de los tratamientos (figura 2) no se encontraron diferencias entre las diferentes fracciones del hidrolizado y el control. Se encontraron valores entre 7.95 x 10⁴ célula/mL para el

Tabla 6. Efecto del tiempo de fermentación en algunos indicadores de la fermentación ruminal *in vitro*.

Indicador	0	4	8	12	24	48	72	± EE Sign
Amoníaco, mmol.L ⁻¹	6.59 ^a	7.70 ^{ab}	9.90 ^{cd}	8.65 ^{bc}	10.10 ^{cd}	11.61 ^d	13.67 ^e	0.70 P < 0.05
pH	6.95 ^d	6.92 ^d	6.67 ^c	6.53 ^c	6.31 ^b	6.12 ^d	6.16 ^d	0.05 P < 0.001

^{abcde} Valores con letras no comunes por fila difieren a P < 0.05 (Duncan 1955)

tratamiento con pellet lavado y 10.55×10^4 célula/mL al adicionar el producto completo.

Con respecto a la utilización de levaduras vivas en la alimentación de rumiantes, se han informado resultados contradictorios. Mutsvangwa *et al.* (1992) y Corona *et al.* (1999) comprobaron que la adición de células vivas de *Saccharomyces cerevisiae* en rumen disminuyó la producción de protozoarios, principalmente de los entodinomórfidos, al igual que la concentración de acetato. Sin embargo, Lila *et al.* (2004) no hallaron variación. Kumar *et al.* (1994), Newbold *et al.* (1995) y Kamra *et al.* (2002) no hallaron modificaciones en búfalos, ovinos y bovinos en crecimiento, respectivamente. Sin embargo, Akkar *et al.* (1999) y Arakaki *et al.* (2000) ofertaron dietas con concentrado a toros y búfalos y registraron aumento en la población de protozoos ruminales. Plata *et al.* (1994) comprobaron este mismo efecto en novillas.

Hasta el momento no se dispone de información que demuestre la acción de un hidrolizado enzimático de levadura *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones en el crecimiento de poblaciones protozoarias.

En la figura 3 se presenta el comportamiento de las poblaciones de protozoos *in vitro* en relación al tiempo de fermentación. No hubo diferencias entre la hora 0, 4, 8, 12, 48 y 72. La hora 24 no mostró diferencias con respecto a las 12 y 72, pero sí con las horas restantes ($P < 0.001$). Los menores valores en el conteo de protozoos se registraron a la hora 24, con 5.38×10^4 célula/mL.

Generalmente, en este estudio no se encontró una marcada estimulación de las poblaciones de protozoos con la aplicación de los diferentes tratamientos. Este es un elemento positivo, si se tienen en cuenta los informes de la literatura acerca de las interacciones microbianas en el ecosistema ruminal, donde se demuestra que los protozoos ruminales ejercen efectos depredadores en las poblaciones de bacterias en forma selectiva Galindo *et al.* (2005).

Se concluye que la dosis evaluada del hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y sus diferentes fracciones tienen efecto beneficioso en la dinámica fermentativa ruminal de *Cynodon nlemfuensis in vitro*, aunque no influyen en la concentración de

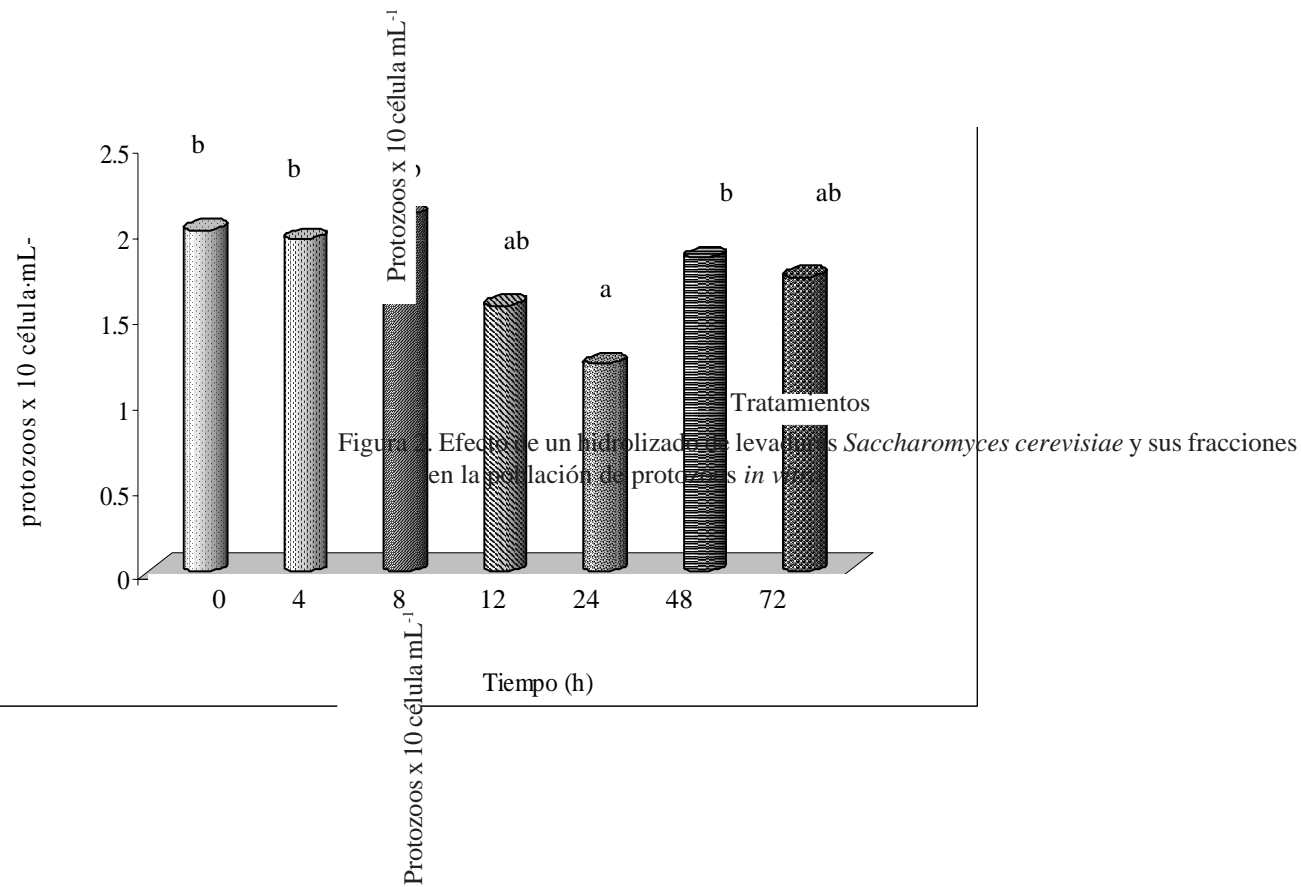


Figura 3. Efecto del tiempo de fermentación en la población de protozoos *in vitro*.

amoníaco y en las poblaciones de protozoos. Además, mantienen el pH en valores cercanos a la neutralidad.

Referencias

- Akkar, M.A., Kuldip 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. Animal Sci.* 69: 967
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Assoc. Anal. Chem. Arlington, V.A.
- 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. Fd. Sci. Tech.* 84:121
- Arambel, M.J., Wiedmeier, R.D. & Walters, J.L. 1987. Influence of donor animal adaptation to added yeast culture and/or *Aspergillus oryzae* fermentation extract on *in vitro* rumen fermentation. *Nutr. Rep. Int.* 35: 433
- Beharka, A.A. & Nagaraja, T.G. 1993. Effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract (Amaferm) on *in vitro* fiber degradation. *J. Dairy Sci.* 76:812
- Beharka, A.A. & Nagaraja, T.G. 1998. Effect of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. *J. Dairy Sci.* 81:1591
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Kamel, C. 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo P.W., Casillejos, L. & Ferré, A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90: 2580
- Carro, M.D. & Ranilla, M.J. 2002. Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales. Situación actual y posibles alternativas. Disponible: www.exopol.com. Consultado: julio de 2008
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J. & Mantecón, A. R. 2006. Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 84:405
- Conway, E.J. 1957. Microdiffusion analysis and volumetric error. 4th Ed. Crosby Lackwood. Sons. Ltd, London.
- Corona, L., Mendoza, G.D., Castrejón, F.A., Crosby, M. M. & Cobos, M. A. 1999. Evaluation of two yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep feed a corn stover diet. *Small Ruminant Res.* 31: 209
- Dean, D.B., Adesogan, A.T., Krueger, N. & Littell, R.C. 2005. Effect of fibrolytic enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability, and digestibility of bermudagrass silage. *J. Dairy Sci.* 88:994
- Díaz, A. 2008. Efecto de un hidrolizado enzimático de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación ruminal *in vitro*. Tesis de Maestría en Producción Animal para la zona tropical. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Duncan, D.E. 1955. Multiple range and multiple F. test. *Biometrics* 11:1
- Galindo, J. & Marrero, Y. 2005. Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 39:439
- Galindo, J., Scull, I., Marrero, Y., González, N. & Aldama, A. I. 2005. Efecto de los taninos condensados de árboles, arbustos y otras leguminosas en la población de protozoos, bacterias celulolíticas y hongos del rumen. I Congreso Internacional de Producción Animal. CD-ROM. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Goering, H.K. & van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). US Department of Agriculture. Agricultural Handbook. pp. 379
- Hernández, A., Pérez, J.M. & Busch, O. 1999. Nueva Versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. AGROINFOR-MINAG. La Habana. Cuba. pp.64
- Herrera, S.R., González, B. S, Hardy, C. & Pedroso, D. M. 1980. Análisis químico del pasto. Metodología para las tablas de su composición. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Infostat. 2001. Versión 1. Córdoba. Eds. Mónica G. Balzarini, F. Casanoves, J.A. Di Rienzo, Laura A. González y C.W. Robledo. Córdoba, Argentina
- Jouany, J.P. 1994. Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. *Ann Zootech.* 43: 49
- Kamra, D.N., Chaudhary, L.C., Neeta-Agarwal, Singh, 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
- Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H. & Menke, K.H. 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements *in vitro*. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65:28
- 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
- Lila, Z.A., Mohammed, N., Yasui, T., Kurokawa, Y., Kanda, S. & Itabashi, H. 2004. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* twin of live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 82:1847
- Marrero, Y. 2005. Las levaduras como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis Dr. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Martin, S.A. & Nisbet, D.J. 1992. Effect of Direct-Fed Microbials on Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 75:1736
- Mutsvangwa, T., Edwards, I. E., Topps, J. H. & Paterson, G. F. 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (YEA-SACC) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. *Br. Society Anim. Prod.* 55: 35
- Newbold, C. J., Wallace, R. J., Chen, X. B. & McIntosh, F. M. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 1811
- Pérez, M. 2000. Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis Dr. Universidad Agraria de La Habana. La Habana, Cuba
- Plata, P.F., Mendoza, G.M.D., Bárcena-Gama, J. R. & González, M. S. 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
- Roa, M. L., Bárcena-Gama, J. R., González, M. S., Mendoza, G. M., Ortega, M.E. & García, C. B. 1997. Effect of fiber source and yeast culture (Sc1026) on digestion and the environment in the rumen of cattle. *Anim. Feed Sci. Tech.* 64: 327
- Sosa, A. 2006. Efecto de *Aspergillus oryzae* como activador de la fermentación ruminal de *Pennisetum purpureum* en

- condiciones *in vitro*. Tesis de Maestría en Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 56 pp.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feed. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 48:185
- Varel, V.H., Kreikemeier, K.K., Jung, H.G. & Hatfield, R.D. 1993. *In vitro* stimulation of forage fiber degradation by ruminal microorganisms with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 3171
- Williams, P. E. V. & Newbold, C. J. 1990. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. En: Haresing, W. and Cole, D. J., editores. *Recent Advances in Animal Nutrition 3*. Cornwall. 14: 211

Recibido: 16 de diciembre de 2008