

Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* y melaza-urea sobre la digestibilidad *in vivo* e *in situ* en dietas para ovinos basadas en paja de cártamo

José Ayala Oseguera*
Germán D. Mendoza Martínez**
Ricardo Bárcena Gama**
Sergio S. González Muñoz**

Resumen

Se realizaron dos experimentos para evaluar los cambios en la digestibilidad de paja de cártamo (PAC) usando un suplemento melaza-urea (MU) y un probiótico (PRO; *Saccharomyces cerevisiae*). En el experimento 1, se determinó la degradabilidad *in situ* de fibra (FDN) con cánula ruminal en 12 ovinos (45 ± 5.8 kg). Se incubaron *in situ* 4 g de muestra en base seca por periodos de 0, 6, 24, 48, 72 y 96 h, y se muestreó líquido ruminal a 0, 2, 4 y 6 h pospandrial para determinar pH y concentración de N amoniacal. Los resultados se analizaron usando un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos ($2 \times 2 \times 3$), donde los factores fueron dos niveles de PRO (0 vs .5 g/d intrarruminal), MU (0 vs 10%) y tres niveles de PAC (50, 60 y 70%). La digestibilidad de FDN se incrementó ($P < .05$) por PRO (3.2% promedio) y MU (3% promedio) en todos los tiempos de incubación; también hubo diferencias ($P < .05$) en la digestión de FDN para 50% de PAC (35.9%) con respecto a 60 y 70% (31.82 y 30.75%, respectivamente). En el experimento 2 se midió la digestibilidad *in vivo* (DIV) usando 70% de PAC, dos niveles de PRO (0 vs .05 g/animal/d) y MU (0 vs .10%) y una ración testigo (T5: 40% PAC, 30% heno de alfalfa y 30% concentrado) en un diseño completamente al azar con arreglo factorial ($2 \times 2 + 1$). Los tratamientos fueron: T1, MU 0% + PRO 0%; T2, MU 0% + PRO .5%; T3, MU 10% + PRO 0% y T4, MU 10% + PRO .5%. La DIVFDN (%) fue diferente ($P < .05$) entre tratamientos: 66.8^a (T4), 61.9^{ab} (T5), 52.2^{bc} (T3), 52.1^{bc} (T2) y 41.5^c (T1). No hubo cambios en consumo y pH ruminal ($P > .05$). El número de protozoarios/ml $\times 10^3$ fue diferente ($P < .05$) entre tratamientos: 1128^a (T4), 950^{ab} (T5), 900^{ab} (T3), 764^b (T2) y 771^b (T1). Los resultados indican que el probiótico y el suplemento

melaza-urea incrementaron la digestibilidad de la fibra y la población de protozoarios, los cuales pudieran haber influido en la digestibilidad de la fibra.

Introducción

Uno de los principales efectos del probiótico Yea-Sacc (*Saccharomyces cerevisiae*), es el aumento en la digestibilidad ruminal de la fracción de fibra detergente neutro en los forrajes a distintos niveles de fibra en la ración¹⁸ y con diversos tipos de fibra.²²

Durante muchos años se han realizado investigaciones para mejorar el valor nutritivo de los subproductos agrícolas, para aprovechar la habilidad de los rumiantes para usar los productos lignocelulósicos, destacando la suplementación nitrogenada y energética.²¹ El primer nutrimento a considerar en la suplementación de forrajes es el nitrógeno degradable,¹³ el cual puede ser proporcionado por compuestos de nitrógeno no proteínico.^{7, 14, 20} La urea, en combinación con melaza, ha sido el compuesto nitrogenado más usado para mejorar la utilización de los subproductos agrícolas.²

Considerando que el uso de la fibra puede modificarse por la adición de probióticos y de suplementos, se realizaron dos estudios para evaluar el efecto del probiótico conteniendo *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN) de la paja de cártamo (*Carthamus tinctorius*) *in situ* e *in vivo*, con o sin suplementación de melaza-urea.

Material y métodos

Experimento 1

En este estudio se utilizaron 12 ovinos machos (6 Suffolk y 6 criollos) con cánula ruminal (45 ± 5.8 kg PV) en 4 periodos (repeticiones). Cada periodo consistió en 10 días de adaptación y 5 de medición.

Se incubaron 4 g de cada ración (Cuadro 1) en bolsas de nailon (15 $\times$ 7.5 cm) con un tamaño de poro aproximado de 20-40 micrones. Las bolsas fueron incubadas a 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas en el rumen; y

Recibido para su publicación el 29 de abril de 1993.

* Parte de este trabajo corresponde a la tesis de maestría del primer autor.

** Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, 56230.

Cuadro 1
TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LA PRUEBA DE
DIGESTIBILIDAD *IN SITU* (EXPERIMENTO 1)

Dieta	Suplemento ^a	% de la materia seca Probiótico ^b	Paja de cártamo	Concentrado ^c
1	0	0	50	50
2	0	0	60	40
3	0	0	70	30
4	0	0.5	50	50
5	0	0.5	60	40
6	0	0.5	70	30
7	10	0	50	40
8	10	0	60	30
9	10	0	70	20
10	10	0.5	50	40
11	10	0.5	60	30
12	10	0.5	70	20

^aMelaza 9% + urea 1%

^b*Saccharomyces cerevisiae*, 0.5 g/borrego/día

^cConcentrado con base en grano de sorgo, pasta de soja y premezcla mineral.

después, fueron sumergidas en agua y se lavaron manualmente hasta lograr que el efluente de las bolsas fuera claro, se escurrió el exceso de agua de éstas y se secaron en una estufa de aire forzado a 55°C durante 48 h. Se determinó la degradación de la materia seca (MS; AOAC¹) y fibra detergente neutro (FND; Van Soest²⁴) en los residuos. Los ovinos fueron alimentados con la misma dieta que fue incubada. Las dietas experimentales fueron balanceadas a 1.84% de nitrógeno.

Se colectaron 50 ml de líquido ruminal de cada borrego a las 0, 2, 4 y 6 h posprandial; se les determinó el pH inmediatamente con un potenciómetro y luego la concentración de N-NH₃ por destilación (AOAC¹).

Los resultados fueron analizados con un diseño completamente al azar con 12 tratamientos en arreglo factorial (2 × 2 × 3). Los factores consistieron en dos niveles de melaza-urea (0 y 10%), dos de *Yea-Sacc* (0 y .5 g/animal/d intrarruminal) y 3 niveles de paja de cártamo en la ración (50, 60 y 70%). La dosis intrarruminal fue la recomendada por Gray y Ryan.¹¹

Experimento 2

Se utilizaron 15 ovinos (5 con cánula ruminal) en un diseño completamente al azar con cinco tratamientos en un arreglo factorial 2 × 2 + 1, consistiendo en dos niveles de melaza-urea (0 y 10%), dos de *Saccharomyces cerevisiae* (0 y .5 g/animal/d) y una ración testigo (Cuadro 2). Los animales fueron adaptados a la ración durante 15 días, realizándose la colección de heces, orina¹² y líquido ruminal durante los últimos 5 días.

Se determinó la digestibilidad *in vivo* de la materia seca (MS), nitrógeno total (NT), fibra detergente neutro (FDN) y de la energía bruta (EB). La EB fue determinada con una bomba calorimétrica. Se estimaron las pérdidas de energía en orina (5.4 kcal g⁻¹ de N) y en metano (8% de la EB) para estimar la energía metabolizable (EM), y se midió el balance de nitrógeno.¹²

Cuadro 2
INGREDIENTES Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS DIETAS
USADAS EN LA PRUEBA DE DIGESTIBILIDAD *IN VIVO*
(EXPERIMENTO 2)

Ingrediente	Dietas				
	1	2	3	4	5
Paja de cártamo (%)	70.00	70.0	70.0	70.0	40.0
Melaza (%)	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0
Urea (%)	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0
Probiótico ^a	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0
Grano de sorgo (%)	10.0	10.0	7.0	7.0	19.0
Pasta de soja (%)	9.5	9.5	6.0	6.0	7.0
Harina de carne (%)	9.5	9.5	6.0	6.0	3.0
Heno de alfalfa (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	30.0
Sal mineral ^b (%)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Composición:					
NT % de la MS ^c	1.84	1.87	1.84	1.90	1.90
FDN % de la MS ^d	51.2	51.4	51.2	51.2	48.3
EB, Mcal kg MS ^e	3.11	3.08	3.13	3.15	3.18

^a *Saccharomyces cerevisiae*, 0.5 g/borrego/día

^bComposición: Ca 13%, P 5%, Na 10.9%, Cl 20%, Fe .04%, Mg .03 Mn 200 ppm, Cu 80 ppm, Co 66 ppm, I 4 ppm, Zn 80 ppm

^cNT: Nitrógeno total, MS: materia seca

^dFDN: Fibra detergente neutro, MS: Materia seca

^eEB: Energía bruta, MS: Materia seca

Los animales fueron desparasitados interna y externamente; también se aplicó una dosis de vitaminas A, D y E. El probiótico se administró por vía oral mezclado con agua o intrarruminal. Los animales fueron pesados al inicio y al final del ensayo, previo ayuno de alimento y agua por 12 h.

En las muestras de líquido ruminal se determinó el pH con el potenciómetro, así como la concentración de nitrógeno amoniacal¹ y el número de protozoarios/ml con la técnica de Dehority.⁶

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con tres repeticiones (borregos) por tratamiento. Los datos se analizaron mediante un análisis de covarianza usando el consumo voluntario como covariable. Las medias se compararon por contrastes ortogonales.²⁵

Resultados

Experimento 1

No se detectaron interacciones para los efectos principales. La adición del probiótico conteniendo *Saccharomyces cerevisiae* incrementó ($P < .05$) la degradación (Figura 1) en todos los tiempos de incubación. La suplementación con melaza-urea también incrementó ($P < .05$) la digestibilidad *in situ* de FDN en todos los tiempos de incubación (Figura 2).

El nivel de paja de cártamo (PAC) en las dietas también afectó la digestibilidad *in situ* de FDN, siendo menor con los niveles más altos de paja, incrementándose ($P < 0.05$) durante el transcurso de la incubación (Figura 3).

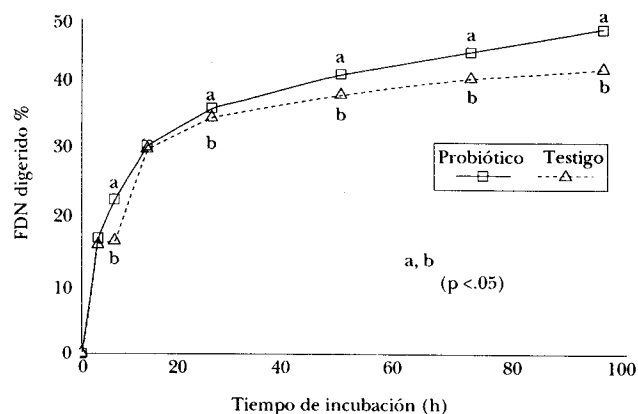


Figura 1. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la digestión *in situ* de la fibra detergente neutro (FDN) en raciones a base de paja de cártamo

Experimento 2

No se detectaron efectos del probiótico o de la suplementación melaza-urea en el consumo de MS y FDN (Cuadros 3 y 4). La adición de Yea-Sacc y la suplementación melaza-urea incrementó la digestibilidad *in vivo* de la MS, FDN y del nitrógeno (N), pero no se detectaron diferencias en la digestibilidad de la energía (Cuadro 4). Es importante destacar que la combinación del probiótico y de la suplementación melaza-urea (tratamiento 4) resultaron en un incremento significativo ($P < .05$) en la digestibilidad de la FDN, nitrógeno y de la energía.

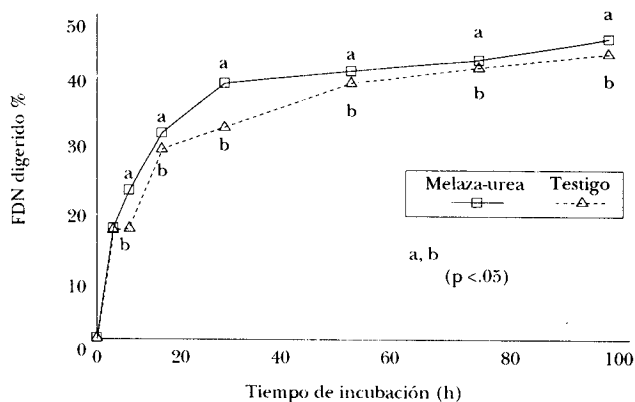


Figura 2. Efecto de la suplementación melaza-urea en la digestión *in situ* de la fibra detergente neutro (FDN) en raciones a base de paja de cártamo.

No hubo efecto del probiótico en el pH ruminal. La concentración de nitrógeno amoniacal se incrementó un 80% sobre la concentración del grupo testigo por la suplementación de melaza-urea y 124% por la combinación de probiótico con el suplemento melaza-urea (Cuadro 3).

La población de los protozoarios se incrementó ($P < .05$) en 25% sobre el grupo testigo por la suplementación de melaza-urea y en 57% cuando se le combinó con el probiótico (Cuadros 3 y 4).

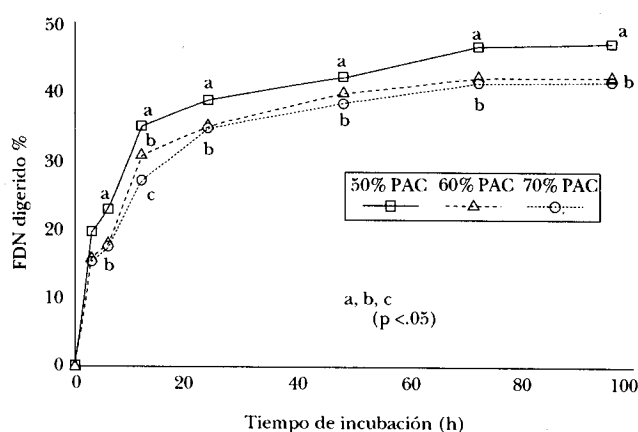


Figura 3. Efecto del nivel de paja de cártamo (PAC) sobre la digestión *in situ* de la fibra detergente neutro (FDN)

En relación con el balance de energía, los animales que recibieron el tratamiento 5 tuvieron menores pérdidas en heces (Cuadros 5 y 6); sin embargo, no se manifestaron las diferencias en el consumo de energía digestible. En el balance de nitrógeno, hubo mayor retención de nitrógeno en los animales que recibieron probiótico solo o en combinación del suplemento melaza-urea.

Discusión

Los resultados observados en la degradación *in situ* de la FDN son similares a los presentados por Edwards⁸ y Plata.¹⁸ A pesar de que los mecanismos de acción de los

Cuadro 3
EFECTO DEL PROBIOTICO Y LA SUPLEMENTACION DE LA MELAZA UREA EN EL CONSUMO, DIGESTIBILIDAD, pH N-NH₃ Y POBLACION DE PROTOZOARIOS (EXPERIMENTO 2)

Tratamiento	1	2	3	4	5	
Melaza-urea	0	0	10	10	0	
Probiótico	0	.5	0	.5	0	
Consumo:						C.V. (%)
MS, g/día	946	920	1007	941	1062	11.3
FDN, g/día	398	446	411	414	409	11.3
Digestibilidad:						
MS, %	51.4	60.2	57.5	67.6	63.6	2.8
FDN, %	41.6	52.1	52.2	66.9	61.9	5.3
E, %	59.5	64.3	62.4	73.9	66.9	5.3
N, %	70.6	79.7	77.8	85.7	79.5	3.9
pH ruminal	6.8	6.8	6.4	6.6	6.7	2.2
N-NH ₃ , mg/dl	8.3	10.8	14.9	18.6	10.6	3.2
Protozoarios/ml $\times 10^3$						
	718	764	900	1,128	950	14.9

MS: Materia seca, FDN: Fibra detergente neutro, E: Energía, N: Nitrógeno, N-NH₃: Nitrógeno amoniacal

probióticos no han sido elucidados,^{28,29} el incremento en la digestión de la fibra se atribuye a un mayor crecimiento de bacterias celulolíticas.²⁹

El incremento en la digestibilidad *in situ* de FDN por la suplementación con melaza-urea, se debió a la mayor disponibilidad de nitrógeno degradable en rumen y energía fermentable, lo cual estimula el crecimiento de los microorganismos ruminales y, por lo tanto, su capacidad para degradar alimentos fibrosos.^{19,23} Vargas y Whitsel²⁶ observaron una respuesta similar al suplementar heno de alfalfa. La magnitud del cambio en la digestibilidad de la fibra causado por la suplementación fue menor que el observado por la adición del Yea-Sacc.

Las dietas experimentales de 50% de PAC tenían 35% de grano de sorgo, las de 60% de PAC 23% y las de 70% de PAC 10% de grano; no se observaron efectos negativos en la digestibilidad de la fibra, como en otros estudios,¹⁶ posiblemente debido a que el sorgo tiene una tasa de fermentación lenta, comparada con otros granos.⁴

Cuadro 4
CONTRASTES ORTOGONALES PARA CONSUMO, DIGESTIBILIDAD, pH, N-NH₃ Y POBLACION DE PROTOZOARIOS (EXPERIMENTO 2)

Contrastes de tratamientos				
5 vs. 1, 2, 3, 4	2 vs. 1, 3	3 vs. 1, 2	4 vs. 2, 3	
Digestibilidad (%):				
MS 63.6 vs 59.1*	60.2 vs 54.5*	57.5 vs 56.0	67.6 vs 58.8	
FDN 61.9 vs 53.2*	52.2 vs 47.1*	52.2 vs 47.0	66.9 vs 52.2*	
E 66.9 vs 65.0	64.3 vs 60.9	62.4 vs 61.9	73.9 vs 63.4*	
N 79.5 vs 78.5	79.7 vs 74.2*	77.8 vs 75.1	85.7 vs 76.2*	
Variables ruminales:				
pH 6.7 vs 6.7	6.8 vs 6.6	6.4 vs 6.8*	6.6 vs 6.7	
N-NH ₃ , mg/dl				
10.6 vs 13.2*	10.8 vs 11.7	14.9 vs 9.4*	18.6 vs 12.8*	
Protozoarios/ml × 10 ³				
950 vs 878	764 vs 810	900 vs 742*	1128 vs 832*	

MS: Materia seca, FDN: Fibra detergente neutro, E: Energía, N: Nitrógeno, N-NH₃: Nitrógeno amoniacal.
* (P < .05)

Los resultados en pH por efecto del probiótico concuerdan con los resultados de Plata¹⁸ y Roa.²² Sin embargo, en otros trabajos se señalaron incrementos en el pH por la adición de probióticos.^{5,11,30} Tales discrepancias pueden asociarse a diferencias en el tipo de dieta utilizada y al nivel de consumo. Por otro lado, los incrementos en la concentración de amoniaco se han observado al adicionar probiótico.^{18,22}

En relación con los cambios en los microorganismos de rumen por adición de probiótico, la mayoría de los estudios se ha orientado a las bacterias,^{5,17,27} y se ha puesto poca atención a los cambios en protozoarios¹⁰ y hongos ruminales.

Se ha demostrado que la población de protozoarios responde positivamente a la adición de azúcares solubles¹⁵ y se ha observado en varios experimentos un incremento de ciliados al utilizar probióticos que contienen *Saccharomyces cerevisiae*.^{9,18} El aumento en la población de protozoarios podría ayudar a explicar los incrementos observados en la digestibilidad de la pared celular y los niveles de nitrógeno amoniacal.³

El efecto positivo del probiótico en el balance de nitrógeno podría explicarse por un incremento del flujo de aminoácidos esenciales hacia el tracto posterior.

La adición de probióticos (Yea-Sacc; *Saccharomyces cerevisiae*) incrementó la digestibilidad *in situ* e *in vivo* de la fibra detergente neutro.

Cuadro 5
EFECTO DEL PROBIOTICO Y LA SUPLEMENTACION DE LA MELAZA UREA EN EL BALANCE DE ENERGIA Y DE NITROGENO (EXPERIMENTO 2)

Tratamiento	1	2	3	4	5	
Melaza-urea	0	0	10	10	0	
Probiótico	0	.5	0	.5	0	
Consumo de energía, Mcal/día						C.V. (%)
Bruta	3.52	3.80	3.64	3.79	4.50	11.4
Digestible	2.12	2.45	2.26	2.80	3.01	9.8
Metabolizable	1.79	2.11	1.93	2.45	2.46	15.9
Pérdidas de energía, Mcal/día						
Heces	1.40	1.32	1.37	.98	1.65	14.0
Orina	.04	.03	.03	.04	.05	20.0
Metano	.28	.30	.29	.30	.33	7.0
Consumo de N, g/día						
	22.6	22.2	22.6	22.1	23.8	11.3
N excretado, g/d						
Heces	6.8	4.6	4.8	3.2	4.3	13.6
Orina	1.1	1.0	.7	1.0	.9	20.2
N retenido, g/día						
	15.1	16.8	16.7	17.9	18.0	6.4

C.V.: Coeficiente de variación, N: Nitrógeno

La suplementación con melaza-urea incrementó la digestibilidad *in situ* de la fibra, pero no se observó dicho efecto *in vivo*.

La combinación del probiótico (Yea-Sacc; *Saccharomyces cerevisiae*) con el suplemento melaza-urea incrementó de modo sinérgico la digestibilidad de la fibra, la población de protozoarios y la concentración de nitrógeno amoniacal.

La retención de nitrógeno se benefició por la adición del probiótico, mas no se observaron cambios en el balance energético.

Cuadro 6
CONTRASTES ORTOGONALES PARA EL BALANCE DE
ENERGÍA Y DE NITRÓGENO (EXPERIMENTO 2)

Contrastes de tratamientos			
5 vs. 1, 2, 3, 4	2 vs. 1, 3	3 vs. 1, 2	4 vs. 2, 3
Energía excretada en heces, Mcal/día			
1.65 vs 1.27*	1.33 vs 1.38	1.37 vs 1.36	.98 vs 1.35*
N retenido, g/día			
16.8 vs 16.9	17.6 vs 15.9*	16.3 vs 16.5	18.3 vs 16.5*

N: Nitrógeno

* (P < .05)

Agradecimientos

Se hace un reconocimiento especial a la Dra. Gladys Hoyos, Gerente General de Apligén, por su apoyo para el desarrollo de este trabajo, así como al técnico del Laboratorio de Nutrición Andrés Lee Hernández por su participación en el análisis de las muestras.

Abstract

Two experiments were conducted in order to evaluate changes on sesame straw (SS) digestibility using a molasses (9%) - urea (1%) supplement (MU) and a probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* (PRO). In Experiment 1, fiber (NDF) *in situ* digestibility (ISD) was determined using 12 ruminally cannulated sheep (45 + 5.8 kg), where samples (5g SS) in nylon bags, were incubated at 6, 24, 48, 72 and 96 h, in four periods. Treatments were assigned in a factorial arrangement (2 × 2 × 3), where factors consisted on two levels of P (0 or .5 g/animal/day), two levels of MU (0 or 10%), combined with three levels of SS (50, 60 and 70%; plus the concentrate). Fiber ISD was increased (P<.05) by the PRO and the MU at all incubation times; also by 50% SS compared to 60 and 70% SS. In Experiment 2, *in vivo* digestibility (IVD) was studied using 70% SS (plus 30 or 20% concentrate), two levels of PRO (0 or .5 g/animal/day) and MU (0 or 10%), and one control (T5) ration (40% SS, 30% alfalfa hay and 30% concentrate), in a complete randomized design with 3 sheep by treatment). Treatments were: T1, MU 0% + PRO 0%; T2, MU 0% + PRO .5%; T3, MU 10% + PRO 0% and T4, 10% + PRO .5. Fiber IVD (%) was different (P<.05): 66.8^a (T4), 61.9^{ab} (T5), 52.2^{bc} (T3), 52.1^{bc} (T2) and 41.5^c (T1). Intake and ruminal pH did not change (P>.05). Protozoa/ml × 10³ was different (P<.05): 1128^a (T4), 950^{ab} (T5), 900^{ab} (T3), 764^b (T2) and 771^b (T1). Therefore, both the probiotic and the supplement increased fiber digestibility and number of protozoa which could be associated with the increment in fiber digestibility.

Literatura citada

1. Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1980.
2. Bartley, E. and Deyoe, C.: Reducing the rate of ammonia released by the use of alternative non-protein nitrogen sources. In: Recent Developments in Ruminant Nutrition. Edited by: Haresign, W., Cole, D.J.A., 99-114. Butterworths, London, 1981.
3. Bonhomme, A.: Rumen ciliates: Their metabolism and relationship with bacteria and their hosts. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 30: 203-266 (1990).
4. Britton, R.A. and Stock, R.A.: Acidosis, rate of starch digestion and intake. Proceedings of the Feed Intake by Beef Cattle Symposium. MP 121. Stillwater, Oklahoma. 1986. 125-136. *Agricultural Experiment Station*. Oklahoma State University. Stillwater, Oklahoma (1987).
5. Dawson, K.A.: Mode of action of yeast culture, in the rumen: A fermentation modifier. Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's Third Annual Symposium. Nicholasville, Kentucky. 1987. 35-39. *Alltech Technical Publications*. Nicholasville, Kentucky (1987).
6. Dehority, B.A.: Evaluating of subsampling and fixation procedures used for counting rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.*, 48: 182-185 (1984).
7. Djajanegara, A. and Doyle, P.T.: Urea supplementation compared with pretreatment. 1. Effects on intake, digestion and liveweight change by sheep fed a rice straw. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 27: 17-30 (1989).
8. Edwards, I.: Practical uses of yeast culture in beef production: Insight into its mode of action. Biotechnology in the Feed Industry: Alltech's Seventh Annual Symposium. Nicholasville, Kentucky. 1991. 51-64. *Alltech Technical Publications*. Nicholasville, Kentucky (1991).
9. Erasmus, L.J.: The importance of duodenal amino acid profiles for dairy cows and the significance of changes in these profiles following the use of Yea-Sacc¹⁰²⁶. Biotechnology in the Feed Industry: Alltech's Seventh Annual Symposium. Nicholasville, Kentucky. 1991. 35-50. *Alltech Technical Publications*. Nicholasville, Kentucky (1991).
10. Frumholtz, P.P., Newbold, C.J. and Wallace, R.J.: Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique Rusitec. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 113: 169-172 (1989).
11. Gray, W. and Ryan, J.: A study of the effect of yeast culture on ruminal fermentation in sheep. Biotechnology in the Feed Industry: Alltech's Fourth Annual Symposium. Nicholasville, Kentucky. 1988. 129-150. *Alltech Technical Publications*. Nicholasville, Kentucky (1988).
12. Harris, L.E.: Métodos para el Análisis Químico y la Evaluación Biológica de Alimentos para Animales. Universidad de Florida, Gainesville, Florida, 1970.
13. Klopfenstein, T.J. y Stock, R.: Alimentación de bovinos para carne en crecimiento-finalización. Memoria del Curso Intensivo Internacional de Manejo Nutricional de Bovinos en Corrales de Engorda. Montecillo, Edo. de México. 1991. 1-39. *Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados*. Montecillo, Edo. de México (1991).
14. Leng, R.A.: Feeding strategies: Early drought. In: Drought Feeding Strategies Theory and Practice. Edited by: Penambul, 21-55. *Peel Valley Printery*, Armidale, Australia, 1986.
15. Mackie, R.I., Gilchrist, F.M.C., Roberts, A.M., Hannah, P.E. and Schwartz, H.M.: Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 90: 241-250 (1978).
16. Mould, F.L., Orskov, E.R. and Mann, S.O.: Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 15-30 (1983/84).

17. Newbold, J.: Rumen manipulation with ionophores and probiotics. Proceedings of the California Animal Nutrition Conference. Fresno, California. 1990. 23-36. *Biozyme Enfer.* Fresno, California (1990).
18. Plata, P.F.: Efecto de un probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación ruminal, digestibilidad *in situ* y el consumo en bovinos alimentados con tres niveles de paja de avena. Tesis de maestría en ciencias. *Centro de Ganadería*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, 1992.
19. Porte, E., Faichney, G. and Wythes, R.: Grass hays complemented with different nitrogen sources and sugar cane molasses in fattening rations for Hereford young bulls. *Aust. J. Agric. Res.*, 19: 803-811 (1988).
20. Preston, R.T. y Leng, R.A.: Guías Para los Sistemas Alimenticios. *Condrit*, Cali, Colombia, 1989.
21. Riquelme, V.E.: Efectos asociativos en dietas basadas en subproductos agrícolas. *Rev. Mex. Prod. Anim.*, 16: 13-24 (1984).
22. Roa, V. Ma. L.: Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* y tres tipos de fibra en la degradabilidad ruminal de nutrientes en bovinos. Tesis de maestría en ciencias. *Centro de Ganadería*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, 1992.
23. Shultz, T.A., Shultz, E.B. y Chicco, F.A.: Racionamiento con nitrógeno no proteínico para corderos en el trópico seco-húmedo. IV Conferencia Mundial de Producción Animal. Buenos Aires, Argentina. 1978. 263-271. *AAPA-Hemisferio Sur*. Buenos Aires, Argentina (1978).
24. Steel, R.G. y Torrie, J.H.: Bioestadística. Principios y Procedimientos. 2a ed. *McGraw-Hill*, México, D.F., 1986.
25. Soest van, P.J.: Use of detergents in analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for determination of fiber and lignin. *J. Ass. Agric. Chem.*, 46: 829-835 (1963).
26. Varga, G.A. and Whitsel, T.J.: Effect of non-structural to structural carbohydrate ration on rate and extent of nutrient utilization *in situ*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 32: 275-286 (1991).
27. Wiedmeier, R., Arambel, M. and Walters, J.: Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy. Sci.*, 70: 2063-2068 (1987).
28. Williams, P.E.: The mode of action of yeast culture in ruminants diets: A review of the effect on rumen fermentation patterns. Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 5th Annual Symposium. Nicholasville, Kentucky. 1989. 65-84. *Alltech Technical Publications*. Nicholasville, Kentucky (1989).
29. Williams, P.E. and Newbold, C.J.: Rumen probiosis. The effect of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Edited by: Haresign, W., Cole, D.J.A., 211-227. *Butterworths*, London, 1990.
30. Williams, P.E., Tait, C.A., Innes, G.M. and Newbold, C.J.: Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim. Sci.*, 69: 3016-3026 (1991).