

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**“ EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE SUPLEMENTACIÓN DE UNA FUENTE
ESTANDARIZADA DE PROBIÓTICOS ENRIQUECIDOS CON
GLICONUTRIENTES SOBRE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA, LA
DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN
NOVILLOS ”**

TESIS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS.**

PRESENTA:

YADIRA GARCÍA AMBRIZ

Director de Tesis

DR. ALEJANDRO PLASCENCIA JORQUERA

Co-director

DRA. MARÍA ALEJANDRA LÓPEZ SOTO

Asesores

**DR. ALBERTO BARRERAS SERRANO
DR. LUIS CORONA GOCHI**

MEXICALI, B. C., MÉXICO

AGOSTO DEL 2017

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE SUPLEMENTACIÓN DE UNA FUENTE ESTANDARIZADA DE PROBIÓTICOS ENRIQUECIDOS CON GLICONUTRIENTES SOBRE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA, LA DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES Y LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN NOVILLOS. Tesis presentada por **Yadira García Ambriz**, como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el comité particular indicado:

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

Director de Tesis

Dr. María Alejandra López Soto

Co-director

Dr. Alberto Barreras Serrano

Asesor

Dr. Luis Corona Gochi

Asesor

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar hasta este día.

A la Universidad Autónoma de Baja California, al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias que han brindado las condiciones necesarias para llevar a cabo este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por brindarme el apoyo económico necesario para lograr este avance profesional.

Mi agradecimiento sincero al Dr. Alejandro Plascencia Jorquera que siempre se mostró comprometido, por todas sus enseñanzas, conocimiento compartido, atendiendo siempre a las peticiones e inquietudes que se fueron presentando, gracias por enseñarme el significado de la ética y profesionalismo.

A todos los, profesores, compañeros y en especial a todos aquellos que aportaron cualquier idea o consejo y ayudaron a aclarar mis dudas, contribuyendo a mi desarrollo como persona y profesionista, agradezco también por todas aquellas experiencias buenas y malas que gracias a estas sé quien quiero ser y porque camino continuar, a todas y cada una de las personas que aportaron una enseñanza y sabiduría, que gracias a ello el día de mañana podré enfrentar de una mejor manera los retos de la vida profesional y personal.

A mis hermanas fuente de inspiración y apoyo.

DEDICATORIA

A mi madre Adelina Ambriz quien ha sido mis ojos desde el cielo y junto con Dios me guían.

A Angélica y Roberto por ser mi apoyo y ejemplo a seguir, y parte fundamental para continuar con mis estudios, a mis hermanos Elisa, Imelda, Brenda, Lizbeth, Adelina, Huber e Isidro (Cuñado) y a mi padre Arturo García.

A Erick por todo su apoyo y paciencia, y a todos aquellos quienes hicieron posible la culminación de este proyecto.

Mil gracias

Contenido

	Pág.
Lista de Cuadros	I
Lista de Figuras.....	ii
Resumen.....	1
Abstract	2
Introducción.....	3
Revisión de Literatura.....	4
<i>Situación actual de la producción de bovinos de carne</i>	4
<i>Uso de aditivos en el ganado</i>	4
<i>Gliconutrientes</i>	6
<i>Probióticos</i>	10
<i>Prebióticos</i>	14
<i>Lactobacillos Plantarum</i>	14
<i>Bacillus Subtilis</i>	15
<i>Sacharomyces Cerevisiae</i>	16
<i>Enzimas</i>	18
<i>GlycoZyme</i>	19
Materiales y Métodos.....	21
<i>Localización del área donde se llevó a cabo el estudio</i>	21
<i>Características de las unidades experimentales</i>	21
<i>Desarrollo experimental</i>	21
<i>Variables evaluadas</i>	25
<i>Diseño experimental</i>	25
Resultados y Discusión.....	26
Conclusiones.....	30
Literatura Citada.....	34

Lista de Cuadros

Cuadro	Pág
1 Principales gliconutrientes simples	7
2 Efectos de la suplementación dietética de mannan-oligosacáridos sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes y la ganancia del peso corporal de los perros	9
3 Efecto de la dieta suplementada con manan-oligosacáridos sobre las cualidades de la fermentación fecal en perros	9
4 Efecto de la dieta suplementada con manan-oligosacáridos sobre linfocitos periféricos en subpoblación de perros.	10
5 Probióticos y sus diferentes efectos probados en varias especies	12
6 Pruebas probiótica/prebióticas aplicadas a novillos	13
7 Ingredientes contenidos en Glycozyme	20
8 Composición de las dietas basal y la dosis de GLYCOZYME utilizada	24
9 Influencia del nivel de suplementación de GLYCOZYME sobre las características de digestión en novillos	32
10 Influencias del nivel de suplementación de GLYCOZYME sobre el pH ruminal, N amoniacal, concentración y producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y la producción estimada de metano	33

Lista de figuras

Fig		Pág
1	Principales efectos y mecanismo de acción de los probióticos sobre los microbios del rumen	12

RESUMEN: Cuatro novillos Holstein (137 ± 9.7 kg) habilitados con cánulas en rumen y duodeno proximal fueron utilizados bajo un diseño de cuadro latino 4x4 con el fin de evaluar el efecto del nivel de inclusión de GLYCOZYME (compuesto estandarizado de gliconutrientes y probióticos) sobre la síntesis de proteína microbiana, digestión de nutrientes y función ruminal. Los novillos recibieron una dieta de finalización (2.11 Mcal/kg EN_m) formulada a base de maíz hojueleado. Los tratamientos consistieron en: 1) No GLYCOZYME; (testigo); 2) 0.5 g diarios de GLYCOZYME/10 kg de PV (GLY5); 3) 1.0 g GLYCOZYME /10 kg PV (GLY), y 4) 1.5 g diarios de GLYCOZYME (GLY15), estas dosis representaron aproximadamente a 8 , 16 , y 24 g diarios de GLY. Comparado con el testigo, los novillos que consumieron GLY a nivel igual o mayor a 1.0 g de GLY×10 kg PV tendieron a una disminución en la digestión ruminal de almidón (3.1% , $p=0.10$). El consumo de GLY incrementó el flujo a duodeno de N no amoniacal como resultado del aumento del flujo a duodeno de N microbiano, siendo la máxima respuesta a la dosis de 1.0 g de GLY×10 kg PV (componente cuadrático). Este comportamiento se reflejó en una mayor (componente cuadrático= 0.02) eficiencia microbiana a nivel ruminal y en un incremento (componente cuadrático, $p<0.01$) en la eficiencia de nitrógeno. Los novillos que consumieron GLY mostraron una tendencia a una mayor digestión del N a nivel del tracto total cuando la dosis fue de 1.0 g de GLY×10 kg PV (componente cuadrático, $p=0.07$). La suplementación de GLY no afectó ($p>0.66$) la cantidad total de AGV producidos en rumen, pero disminuyó linealmente ($p=0.03$) acetato. Se concluye que la utilización de aminoazúcares enriquecidos con probióticos como aditivo alimenticio no influye negativamente en el sitio o tasa de digestión de la MO, FDN o almidón, sin embargo mejora la utilización de N mediante una mayor retención de N a través de síntesis microbiana y una mejora en la tasa de absorción intestinal. Basados en las respuestas observadas, el nivel óptimo es de 1.0 g de GLY×10 kg PV. Niveles mayores no ofrecen ventajas y pueden afectar negativamente el consumo de MS como consecuencia de modificaciones en pH ruminal.

PALABRAS CLAVE: Gliconutrientes, probióticos, aditivos, digestión, absorción, fermentación, proteína microbiana.

ABSTRACT: Four Holstein steers (137 ± 9.7 kg) enabled with cannulas in rumen and proximal duodenum were used under a 4x4 latin square desing in order to evaluate the effect of the inclusion level of GLYCOZYME (standardized compound of glyconutrients and probiotics) on Microbial protein synthesis, nutrient digestion and ruminal function. The steers received a finishing diet (2.11 Mcal / kg ENm) formulated from corn flakes. Treatments consisted of: 1) No GLYCOZYME; (witness); 2) 0.5 g / day of GLYCOZYME / 10 kg of PV (GLY5); 3) 1.0 g GLYCOZYME / 10 kg PV (GLY), and 4) 1.5 g daily of GLYCOZYME (GLY15), these doses represented approximately 8, 16, and 24 g daily of GLY. Compared with the control, steers that consumed GLY at a level equal to or greater than 1.0 g of GLY $\times$ 10 kg PV tended to decrease in rumen digestion of starch (3.1%, $p = 0.10$). The GLY consumption increased the flow to the non-ammoniacal N duodenum as a result of the increase of the flow to the duodenum of microbial N, being the maximum dose response of 1.0 g of GLY $\times$ 10 kg PV (quadratic component). This behavior was reflected in a larger (quadratic component, $p = 0.02$) microbial efficiency at ruminal level and in an increase (quadratic component, $p < 0.01$) in nitrogen efficiency. Steers consuming GLY showed a tendency for greater N digestion at the total tract level when the dose was 1.0 g GLY $\times$ 10 kg PV (quadratic component, $p = 0.07$). GLY supplementation did not affect ($p > 0.66$) the total amount of VFA produced in rumen, but linearly decreased ($p = 0.03$) acetate. It is concluded that the use of probiotic-enriched aminosugars as a feed additive does not negatively influence the site or rate of digestion of OM, NDF or starch, however, it improves the use of N through a higher retention of N through microbial synthesis and an improvement in the rate of intestinal absorption. Based on the observed responses, the optimal level is 1.0 g of GLY $\times$ 10 kg PV. Higher levels do not offer advantages and can negatively affect the DM intake as a consequence of modifications in ruminal pH.

KEYWORDS: Glyconutrients, probiotics, additives, digestion, absorption, fermentation, microbial protein.

Introducción

Uno de los principales objetivos de la industria de la engorda de ganado es aumentar la eficiencia en la fase final. Por lo tanto, el uso de diversos aditivos (antibióticos, manipuladores de fermentación ruminal, modulares de crecimiento, entre otros) está muy extendido. La preocupación por el impacto potencial del uso de estos aditivos ha fomentado el interés en los últimos años en la búsqueda de alternativas seguras de agentes de modulación de crecimiento y de la salud. En este sentido, el uso de probióticos enriquecidos con gliconutrientes ha ido ganando popularidad en los suplementos dietéticos para los seres humanos y en algunos países de Asia se utilizan en algunas especies no rumiantes. Esto último es debido a algunas propiedades atribuidas a gliconutrientes como su efecto anti-inflamatorio, antibiótico, y como promotores de la integridad celular que aumentan la eficiencia energética y la salud. Por su parte los probióticos son microorganismos vivos, principalmente bacterias no patógenas, que mejoran equilibrio microbiano e intestinal y provocan efectos beneficiosos en la absorción de los nutrientes (Manzano et al., 2012). En teoría, estos efectos podrían representar una ventaja para los rumiantes alimentados con dietas altas en energía; sin embargo, la investigación del potencial de gliconutrientes adicionados con probióticos/prebióticos como aditivo en raciones para el ganado sobre la fermentación ruminal, síntesis de proteína microbiana y de la digestión de los nutrientes en el ganado de engorda alimentados con dietas alta en energía es prácticamente inexistente.

Debido a lo anterior en objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintas dosis de producto estandarizado (GLYCOZYME) que contiene probióticos y gliconutrientes sobre las características de fermentación ruminal, la función digestiva, y la síntesis de proteína microbiana en novillos alimentados con una dieta de finalización.

REVISIÓN DE LITERATURA

Situación actual de la producción de bovinos de carne

La producción, el consumo y el comercio mundial de carnes crece en forma constante, las carnes compiten entre sí por los mercados, pocos países controlan el mercado mundial, las normas sanitarias y de inocuidad son cada vez más exigentes, la competencia entre países es creciente y existe gran preocupación por una producción sustentable (SAGARPA, 2012). La carne de bovino es la tercera más consumida, a nivel mundial, el consumo mundial es de 57.6 millones de toneladas, los precios de la carne de bovino en estados unidos presentaron una tendencia a la alza, esto se debe a la disminución del ganado disponible para sacrificar y al alto costo de producción, así como el aumento sostenido de la demanda global por este cárnico y por la demanda estadounidense de ganado en pie, en México durante el 2014, su volumen fue de 1.83 millones de toneladas, en 2000 se consumieron más de 22 kilos por persona al año y en 2014 el consumo fue de 15 kilos (FIRA, 2015). Según las proyecciones, la producción mundial de carne se habrá duplicado para el año 2050 y se prevé que la mayor parte del crecimiento se concentrará en los países en desarrollo. El creciente mercado de la carne representa una importante oportunidad para los productores pecuarios y los elaboradores de carne de estos países (FAO, 2016).

Uso de aditivos en el ganado

En términos generales, un aditivo alimenticio se refiere a un producto incluido en la ración el cual tiene como propósito mejorar la eficiencia en los procesos de fermentación/absorción de diferentes nutrimentos y/o la mejor utilización de los

mismos para deposición de proteína una vez que ingresan al sistema, el uso de aditivos es una práctica común que tiene como propósito mejorar el comportamiento productivo, salud animal y el producto final. (Plascencia., 2015), el bienestar o la salud del animal (Ravindran., 2010).

Los aditivos también son usados en la alimentación animal para mejorar el sabor u otras características de las materias primas, raciones o productos animales o prevenir ciertas enfermedades, a su vez provocan modificaciones de los procesos digestivos, y metabólicos que se traducen en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos y en mejoras significativas de ganancia de peso (Carro y Ranilla., 2002). Bajo el término de aditivo se incluyen algunos suplementos (vitaminas, minerales, antioxidantes, emulsionantes, saborizantes, agentes para prevenir enfermedades como coccidiostáticos, agentes promotores del crecimiento (antibióticos, probióticos (microorganismos), enzimas (Acedo y Rico., 1998).

El uso de aditivos es una de las alternativas de manejo más importantes, para reducir los costos de alimentación y para obtener mayor eficiencia alimenticia, algunos de ellos tienen efectos secundarios positivos como la reducción de acidosis, coccidiosis, y timpanismo de grano, mientras que otros reducen la incidencia de abscesos hepáticos y los problemas de gabarro (Velasco et al., 1997).

En los sistemas de producción intensiva los requerimientos nutricionales de los animales de granja pueden dar mejores resultados a través de la suplementación de los nutrientes utilizados en forma concentrada, de modo que puedan mejorar la producción rápidamente. Sin embargo, el uso de alimentos rápidamente fermentables en rumen puede crear condiciones que son dañinas para los microorganismos fibrolíticos del rumen, perjudicando de este modo la digestión de la fibra, la calidad nutricional de un alimento. No solo está influenciada por el contenido de nutrientes, existen otros aspectos como la higiene, digestibilidad, palatabilidad y efecto sobre la salud intestinal, por lo tanto, el uso de aditivos (probióticos) para alimentos ha sido hoy una nueva estrategia para estabilizar la población microbiana del tracto digestivo en animales monogástricos y rumiantes (Yirga et al., 2015).

Gliconutrientes

Son carbohidratos que aparte de ser una fuente de energía, se adhieren a moléculas de proteínas en las superficies de las células, formando estructuras llamadas glicoproteínas, a través de las cuales el cuerpo trasmite mensajes biológicos, las células cumplen muchas funciones para la buena salud tales como; la nutrición, la eliminación de toxinas o defenderse de intrusos como bacterias, hongos, virus y radicales libres, es muy importante la comunicación celular, para el funcionamiento óptimo de los órganos y del sistema inmunológico. Los gliconutrientes son los que actúan de mensajeros de todas las diferentes necesidades de las células (Murray et al., 2005).

Aunque en la naturaleza existen aproximadamente 200 monosacáridos, solo Ocho azúcares se encuentran principalmente en las cadenas de azúcar de glucoproteínas : xilosa, fucosa, galactosa, glucosa, manosa, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina y ácido N-acetilneuramínico (Cuadro 1) (Murray et al. ,2010). Glucosa y la galactosa se obtienen en cantidades suficientes a través de la dieta, los 6 azucares restantes, pueden sintetizarse en el cuerpo a través de largas vías metabólicas las cuales pueden ser ineficientes ante ciertas circunstancias para el metabolismo (Mathews et al., 2003).

Los 8 sacáridos sirven como bloques de construcción para la fabricación de moléculas grandes hechas de azucares en combinación con proteínas y/ o grasas, llamadas glicoformas que cubren la superficie de todas las células. Los alimentos y suplementos nutricionales proporcionan sacáridos y glicoformas esenciales en el cuerpo, pero son escasos en la mayoría de las dietas (Emil., 2001).

Cuadro 1. Principales Gliconutrientes Simples

Los ocho principales azúcares encontrados en Glicoconjugados		
Azúcar	Tipo	Abreviatura
Xilosa	Pentosa	Xil
Fucosa	Desoxihexosa	Fuc
Galactosa	Hexosa	Gal
Manosa	Hexosa	Man
Glucosa	Hexosa	Glc
N - acetilgalactosamina (GalNAc)	Aminohexosa	GalNAc
N - acetilglucosamina (GlcNAc)	Aminohexosa	GlcNAc
N-acetil-neuramínico	Ácido siálico	NeuAc

(Murray et al., (2010) y Sierpina (2006).

Tres clases principales de moléculas (denominadas glicoconjugados conducen a las cadenas azucaradas: glicoproteínas, glicolipidos y proteoglucanos) (Sierpina et al., 2006). Las glicoproteínas son proteínas que contienen uno o más azúcares unidos covalentemente, oligosacáridos (glucanos) son una clase de carbohidratos complejos, términos equivalentes que se usan para denotar moléculas que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente a proteína (para formar glucoproteínas o proteoglucanos) o lípido (para formar glucolípidos). Los componentes carbohidrato de una glucoproteína varían desde 1% hasta más de 85% de su peso, y pueden tener estructura simple o muy compleja. (Murray et al., 2010).

Los proteoglucanos son proteínas que contienen glucosaminoglucanos enlazados de modo covalente, los polímeros son compuestos de unidades disacáridos repetidas La cantidad de carbohidrato en un proteoglucano por lo

general es mucho mayor que la que se encuentra en una glucoproteína, y puede comprender hasta 95% de su peso (Murray et al., 2005). Los glucosaminoglicanos contienen algunos otros azúcares (por ejemplo la glucosamina y glucurónico y ácido indurónico), (Sierpina et al., 2006).

Para disminuir el uso de antibióticos promotores del crecimiento y mejoradores de la salud de los animales se han evaluado diversas alternativas naturales entre las cuales están los acidificadores, prebióticos, probióticos, enzimas y oligosacáridos. Los oligosacáridos, particularmente los manano-oligosacáridos (MOS), corresponden a azúcares complejos derivados de la pared celular externa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, dichos carbohidratos cumplen roles inmunológicos y nutricionales en animales jóvenes (Dilley et al., 1997).

Se realizó un estudio para evaluar los efectos de la suplementación dietética de mannan-oligosacáridos (MOS), en la digestibilidad de los nutrientes, fermentación intestinal, la respuesta inmune en perros. El experimento se dividió en dos grupos: control (CON) sin suplementación, y experimental (MOS), en el que la dieta basal fue suplementada con MOS a una dosis de 15 g/kg. Los resultados no revelaron variaciones significativas ($P > 0,05$) en la palatabilidad, consumo y digestibilidad aparente (Cuadro 2) de nutrientes entre los grupos.

El conteo fecal, heces excretadas, pH fecal, concentraciones de amoníaco, lactato y ácidos grasos de cadena corta fueron comparados ($P > 0,05$) entre los dos grupos (Cuadro 3). Los porcentaje de subpoblaciones de linfocitos CD4 + y relación de CD4 +: CD8 + también fueron significativos ($P < 0.05$) mayor en MOS (Cuadro 4). Los resultados indicaron que la suplementación de MOS a un nivel de inclusión de 15 g / kg en la dieta del perro aumentó la respuesta inmune mediada por células y el perfil lipídico sérico, sin ninguna influencia sobre la digestibilidad de los nutrientes y Fermentación intestinal (Pawar et al., 2017).

Cuadro 2. Efectos de la suplementación dietética de manan-oligosacárido sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes y la ganancia del peso corporal en perros.

Atributos	Grupos Alimentados		Significancia.
	CON	MOS	
Índice de palatabilidad ^a	1.43±0.11	1.50±0.19	NS
Digestibilidad (%)			
Materia seca	82.1±1.38	83.6±0.63	NS
Proteína cruda	80.0±2.06	76.1±3.62	NS
Grasa cruda	90.9±2.79	91.9±1.31	NS
Fibra cruda	51.7±1.26	55.2±0.82	NS
Extracto libre de Nitrógeno	79.9±1.82	81.1±0.64	NS
Cambios en el peso corporal			
Inicial	4.31±0.33	4.27±0.38	NS
Final	6.07±0.32	6.11±0.42	NS
Ganancia neta	1.76±0.55	1.84±0.32	NS

CON Dieta control, MOS Dieta control + mannanoligosacarido a 15 g/kg dieta

^aBasado en escala de 1-4 puntos.

NS no significativo; P > 0.05

(Pawar et al., 2017).

Cuadro 3. Efecto de la dieta suplementada con manan-oligosacáridos sobre las cualidades de la fermentación fecal en perros.

Características	Grupos alimentados		Significancia
	CON	MOS	
Características físicas			
Conteo fecal	3.33±0.33	3.60±0.40	NS
Heces desechadas (g/día)	156.8±14.8	1.64±14.3	NS
Materia seca fecal (g/kg)	218.6±21.8	216.6±18.4	NS
Características químicas			
pH	5.84±0.23	5.77±0.21	NS
Amoniaco (μmol/g)	8.45±0.87	8.39±1.24	NS
Lactato (μmol/g)	24.25±2.07	27.85±5.15	NS
Acetato (μmol/g)	134.1±6.12	146.5±11.4	NS
Propionato (μmol/g)	100.4±12.0	97.13±6.77	NS
Butirato (μmol/g)	31.46±3.04	35.40±1.88	NS
Total AGCC (μmol/g)	265.9±14.9	278.9±16.2	NS

CON dieta control, MOS dieta control + mannanoligosacaridosa 15 g/kg dieta

^aBasado sobre una escala de 1-5 puntos

NS no significativo; P > 0.05, AGCC ácidos grasos de cadena corta.

(Pawar et al., 2017).

Cuadro 4. Efecto de la dieta suplementada con manan-oligosacáridos sobre linfocitos periféricos en subpoblación de perros.

Linfocitos (%)	Grupos alimentados		Significancia
	CON	MOS	
CD3	81.73±1.07	82.04±0.97	NS
CD4+	43.70 ^a ±0.29	45.64 ^b ±0.20	*
CD8+	17.20±0.31	16.00±0.22	NS
CD4+:CD8+	2.54 ^a ±0.06	2.85 ^b ±0.05	*

CON dieta control, MOS dieta control + manan-oligosacáridos a 15 g/kg dieta

^{ab} Medias diferentes superíndices en una fila difieren significativamente; *P 0.05,

NS no significativo; P > 0.05

(Pawar et al., 2017).

Probióticos

Bajo el término "probiótico" se incluyen una serie de cultivos vivos de una o varias especies microbianas que modifican la población microbiana del tracto digestivo (Acedo y Rico., 1998). El termino probiótico ha sido modificado por la FAO/OMS a microorganismos vivos, los cuales, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud en el hospedador (Uyeno et al, 2015).

Los probióticos se utilizan cada vez más en la producción animal teniendo diferentes efectos en la salud del ganado (Cuadro 5), los mecanismos de la actividad probiótica para lograr su papel incluyen la alteración de la flora intestinal formando ácido láctico y peróxido de hidrogeno, la supresión del crecimiento de patógenos intestinales, mejora de la digestión (figura 1) y utilización de nutrientes. Se ha comprobado que la eficacia de los probióticos es variable , dependiendo de la tasa de supervivencia y la estabilidad de las cepas, dosis, frecuencia de administración, interacciones con algunos medicamentos, la salud, el estado nutricional del animal, efecto de la edad, estrés y genética del animal (Yirga., 2015).

La mayoría de las bacterias que se utilizan como probióticos en los animales de granja pertenecen a las especies *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bacillus*, aunque también se utilizan levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y hongos (*Aspergillus*

oryzae) (Acedo y Rico., 1998). Una cantidad microbiana estable de *Lactobacillus sp* se ha demostrado que mejora la ganancia de peso y la inmunocompetencia en terneros jóvenes, sin embargo, los resultados anteriores en cuanto al uso de probióticos en la alimentación de terneros ha sido generalmente equivocada, los estudios de intervención sobre la aplicación de cultivos comerciales de levadura a ganado joven (vaquillas y novillos) se resumen como se muestra en el Cuadro 6. (Uyeno et al., 2015).

Los probióticos son bacterias vivas, microorganismos que tienen la habilidad de renovar la salud, estimular el sistema inmunológico, mejorar la digestión, y aumentar la capacidad del organismo de prevenir o combatir enfermedades, las investigaciones demuestran que las superbacterias no desarrollan resistencia a los probióticos de la forma en que aprenden a resistir los antibióticos, esto se debe mucho a la estructura compleja de los probióticos (Schoffro., 2016).

Por otra parte, los efectos de los probióticos son mucho más eficaces en las primeras semanas de vida de los animales, especialmente en el período posterior al destete en el caso de los mamíferos. En los rumiantes adultos se ha observado que el uso de probióticos (*Saccharomyces cerevisiae*) puede incrementar la producción de leche y la ganancia diaria de peso de terneros en cebo (Carro y Ranilla., 2002).

(Rust et al., 2000) informaron que no hubo ninguna diferencia para la GDP ajustada en novillos control frente novillos suplementados con *Lactobacillus* y *Propionibacterium*. Sin embargo, (Galyean et al., 2001) mencionan que la GDP para el promedio de todos los novillos tratados con probióticos incrementó 6,2%. Además, la eficiencia de la alimentación en todo el período mejoró, para novillos que recibieron tratamientos con probióticos en comparación con los novillos control. Huck et al., (2000) comentan que el porcentaje de las canales calientes fue mayor en vaquillas que reciben probióticos *Propionibacterium* tanto en la recepción y en la fase final, que en el grupo control.

Los principales resultados del uso de probióticos incluyen la mejora en el crecimiento, reducción de mortalidad y mejora en la eficiencia de conversión alimenticia (Yirga., 2015).

Cuadro 5. Probióticos y sus diferentes efectos probados en varias especies.

Animales	Función
Cerdos	Mejora la calidad del calostro aumenta la cantidad de la leche, aumenta tamaño de camada y vitalidad, incrementa peso de los lechones, reduce riesgo de diarrear, mejora eficiencia alimenticia,degestibilidad de las dietas, calidad de la carne, disminuye el estreñimiento y estrés.
Aves de corral	Aumenta la ganancia de peso corporal, reduce mortalidad, aumenta calidad de la canal, disminuye contaminación y aumenta la calidad ósea.
Novillos	Promover la ganancia de peso y óptimo crecimiento de la microbiota ruminal disminuyendo acidosis, aumento de la eficiencia alimenticia, rendimiento de la leche, calidad y seguridad digestiva, reduce el riesgo de la colonización de patógenos.
Caballos	Mejora la digestibilidad de las dietas, calidad de la leche y disminuye la cantidad de diarreas. Evita desordenes del intestino grueso (acidosis, cólicos) y disminuye estrés (transporte, carreras, etc).

(Yirga., 2015).

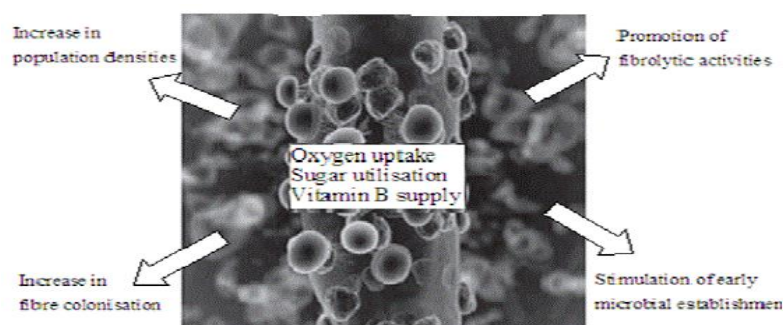


Figura 1. Principales efectos y mecanismo de acción de los probióticos sobre los microbios del rumen (poblaciones que degradan las fibras) (Yirga et al., 2015).

Cuadro 6. Pruebas probiótica/prebióticas aplicadas a vaquillas y novillos.

^aMSPB, probióticos multiespecies; CSPB, producto específico de parto; MOS, manan-oligosacáridos.

Objetivos y materiales aplicados ^a .	Efectos positivos con respecto a:			Observaciones.
	Ganancia de peso	Eficiencia alimenticia	Salud	
<i>Probióticos (vaquillas):</i>				
Cultivo de levadura	No evaluado.	Si	No	
Cultivo de levadura	No	No	Si	
<i>Probióticos (novillo)</i>				
Cultivo de levadura	Si	No	No	
MSPB o CSPB	Si	Si	Si	Los efectos se determinaron cuando se reunieron los resultados de cuatro experimentos.
MSPB	Si	No	No evaluado	Se probaron dos mezclas, probiótico comercial y probiótico producido en laboratorio.
<i>Lactobacillus casei ssp. Casei</i>	Si	No	Si	Ensayo simbiótico.
MSPB ^b	Si	No	Si	
MSPB ^b	No	No	No	
<i>Probióticos (novillos)</i>				
FOS	No	No	Si	
FOS (Cadenas cortas)	No	Si	No evaluado	
MOS	No	No	Si	
MOS	No	No	No	
MOS	Si	Si	Si	Usado en novillos criollos
Celooligosacárido	Si	No	Si	Ensayo simbiótico
Producto comercial ^c	No	No	No	
Producto comercial ^c	No	No	No	El recuento de lactobacilos en heces fue mayor y el de bifidobacterias fue ligeramente superior en el grupo con prebióticos.

^bUna mezcla de *Lactobacillus casei* susp. Casei, *Lactobacillus salivarius*, y *Pediococcus acidilactici*

^cObtenido de un cultivo libre de células de una cepa de *Propionibacterium freudenreichii*.

FOS, fructooligosacáridos

(Uyeno et al., 2015).

Prebióticos

Los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles que, cuando se consumen en cantidades suficientes estimulan selectivamente el crecimiento y /o actividad de un número limitado de microbios en el intestino, los prebióticos más comúnmente utilizados que benefician la salud son sustratos de hidratos de carbono, tales como oligosacáridos o fibra dietética con baja digestibilidad (Uyeno et al., 2015).

La utilización de prebióticos combinados con probióticos puede ser una estrategia sinérgica que contribuye beneficiosamente al huésped estimulando el crecimiento y/o activando el metabolismo de un número de bacterias promotoras de la salud (Uyeno et al., 2015). Aunque los estudios controlados demuestran que los probióticos y los prebióticos lograron un balance positivo en la microbiota del aparato gastrointestinal del ganado, la dinámica y las funciones de la comunidad ruminal necesitan ser examinadas con más detalle, se necesitan estudios adicionales sobre la estructura y las actividades de la microbiota intestinal, las interacciones funcionales entre los microbios intestinales y las relaciones entre los microbios y las células huésped para determinar los aspectos fundamentales de las futuras investigación probiótica / prebiótica (Ross et al., 2012).

Lactobacillus plantarum

Los lactobacilos son conocidos por producir ácido láctico y enzimas proteolíticas que pueden mejorar la digestión de nutrientes en el tracto gastrointestinal (Alakomi et al., 2003).

Lactobacillus plantarum ayuda a restaurar el equilibrio de bacterias beneficiosas en el cuerpo, se reconoce por su capacidad para reducir compuestos que causan inflamación, es muy útil para restaurar las paredes intestinales (Schoffro., 2016). La población de *Lactobacillus* disminuye cuando los animales son estresados, y el estrés a menudo conduce a una mayor incidencia de diarrea en los

recién nacidos (Beauchemin et al., 2006). En un estudio realizado por (Filya., 2003), se evaluó el efecto de *Lactobacillus Buchneri* en combinación con *Lactobacillus Plantarum* sobre la fermentación, la estabilidad aeróbica y degradabilidad ruminal, bajo ensilaje de maíz y sorgo, los cuales fueron analizados en condiciones de laboratorio in situ, no afectó en rumen , MS, MO, o degradabilidad de FDN de los ensilajes, el uso de *L. buchneri* , solo o en combinación con *L. plantarum* , como un inoculante de ensilado puede mejorar la estabilidad aeróbica de ensilajes de maíz y MS del sorgo por la inhibición de la actividad de la levadura.

En otro experimento se evaluaron los efectos de la suplementación de extractos de salvado de arroz fermentado (FBE, Glycozyme, Maxcell, CA) sobre la salud intestinal y el crecimiento en cerdos de granja, el extracto se produjo a partir de un proceso de fermentación utilizando fuentes de sacarosa como medio para inocular una mezcla de probióticos (*Lactobacillus Plantarum* , *Bacillus Subtilis* y *Saccharomyces Cerevisiae*) que producen metabolitos, al incrementar la dosis del tratamiento también aumento la GDP (400 a 547 g/d, cuadrático, $p < 0.05$) de 14 a 21 días, aumentando el peso corporal sobre el día 21 (11.3 a 12.14 kg, cuadrático, $P=0.062$), y de 25 días (13.5 a 14.7 kg, cuadrática, $P=0.064$), respectivamente. La suplementación dietética de FEB puede tener efectos benéficos sobre crecimiento, por disminución de diarreas, y estrés oxidativo, en cerdos de granja (Zheng et al., 2017).

Bacillus subtilis

Se realizó un estudio en corderos nativos de corea para determinar los efectos de la alimentación de la combinación con *Lactobacillus plantarum* y *Bacillus subtilis* en la incidencia de diarrea y microflora fecal de terneros destetados siendo asignados a dos tratamientos dietéticos basado en el peso corporal. Los tratamientos fueron: 1) no hay inoculantes microbianos Control:2) una mezcla de *Lactobacillus plantarum* y *Bacillus subtilis* (LB). Se alimentaron con dietas por un período de 4 semanas. Los niveles de las bacterias del ácido láctico fecales y enterobacterias en

LB significativamente se mejoraron en comparación con el control, las puntuaciones fecales y duración de la diarrea en LB significativamente se disminuyeron en comparación con los de control. (Lee, Yeo-Eun et al., 2009).

En un experimento hecho en pollos se evaluaron los efectos de la suplementación de salvado de arroz fermentado (FBE Glycozyme, Maxcell, CA) sobre el rendimiento de crecimiento, características de los huesos y respuesta inmune en pollos de engorda, FBE se produjo a partir de un proceso de fermentación utilizando fuentes de sacarosa como medio para inocular una mezcla de probióticos (*Lactobacillus Plantarum* , *Bacillus Subtilis* y *Saccharomyces Cerevisiae*) que producen metabolitos. Los pollos fueron alimentados con una dieta basal, suplementada con fbe con un nivel de inclusión de 0, 2.5 Y 5 g/kg, durante 42 días divididos en 3 periodos. El aumento de la dosis de FBE mejoro la relación de conversión alimenticia (RCA) (1.88 a 1.75 g, lineal, $p < 0.05$) de 29 a 42 días , los niveles crecientes de FBE disminuyeron la ingesta de alimento (4,448 a 4,121 g/pollo, cuadráticas , $p < 0.05$), y tendieron a mejorar la RCA (1.81 a 1.70 g, lineal, $p = 0.082$ sin afectar la ganancia de peso corporal ,los niveles crecientes de FBE tendieron a aumentar la resistencia a la rotura de la tibia (18.0 a 23.7 N/g, lineal. $P = 0.098$), la suplementación no afecto las concentraciones de inmunoglobulinas A, G y el factor- α de necrosis tumoral en la mucosa ileal (Zheng et al., 2017)

Saccharomyces Cerevisiae

La mayoría de levaduras, como *S. Cerevisiae*, son importantes para la industria debido a su habilidad de convertir azúcar (glucosa, maltosa) en etanol y dióxido de carbono (cervecería, destilería) (Basay., 2010), *S.Cerevisiae* es capaz de hidrolizar almidón porque secreta enzima denominada glucoamilasa (Torre., 2008). Recientemente se está utilizando la Levadura de cerveza, *Saccharomyces cerevisiae*, como uno de los aditivos que producen efectos beneficiosos en los pollos, ya que mejora las variables productivas y la calidad de la canal, y son efectos dependientes de la dosis utilizada y el tiempo de administración de la misma (Peralta

et al., 2009). Al igual, otros investigadores notaron que el agregado de cultivo de Levadura, a dosis de 0,08 %, mejoró las variables productivas en dietas con bajo nivel proteico, no sucediendo lo mismo cuando el agregado de este probiótico era de 0,16 o 0,32 % (Adeyuno et al. (2004) y Martínez (2000) demostraron que la inclusión de estos en la dieta de cerdos desde el destete hasta la finalización, aumenta la resistencia de los animales a ser sometidos al estrés

En ganado vacuno se vio que *S.Cerevisiae* proporcionan factores de crecimiento para los microbios del rumen, incluyendo ácidos orgánicos y oligosacáridos, vitamina B, y aminoácidos, que estimulan el crecimiento microbiano en el rumen, con lo que estabiliza indirectamente el pH ruminal (McDonald et al, 2011). Las levaduras también tienen el potencial de alterar el proceso de fermentación en el rumen de una manera que reduce la formación de gas metano (CH₄) (Chung et al, 2011). Otra función de la levadura en el rumen es la depuración del oxígeno, que crea el ambiente más anaeróbico requerido por los microorganismos ruminales (Dehorty., 2003). En este contexto, la levadura sí funciona no sólo como un probiótico, sino que también ayuda a otros miembros de la comunidad ruminal a crecer, y, por lo tanto, actúa como un tipo de prebiótico (Uyeno et al., 20015).

(Desnoyers et al., 2009), evaluó los efectos de la suplementación de levadura sobre la ingesta, la producción de leche y las características de fermentación ruminal utilizando un meta análisis cuantitativo. Los efectos positivos de la suplementación con levadura fueron un aumento en el pH del rumen y una disminución del ácido láctico con los aumentos de concentrado en la dieta y con el nivel de ingesta. Controversialmente, los efectos positivos de la suplementación de levadura sobre la digestibilidad de la materia orgánica aumentaron con el porcentaje de fibra en la dieta, lo que sugiere una mejora en la fermentación ruminal por la suplementación de levadura.

En ganado de carne, la estabilización del pH ruminal también puede ser eficaz cuando se les alimenta con una dieta alta fácilmente fermentable que aumenta el riesgo de acidosis, los parámetros de crecimiento (promedio de ganancia diaria, peso final, ingesta y proporción de alimento a ganado) fueron mejorados por la

suplementación continua de levadura viva, Chaucheyras y Duran (2010). Mientras que en otros estudios no se observó ningún efecto o poco efecto, esta diferencia de resultado puede atribuirse a una diferencia primaria en la composición microbiana ruminal, en la que algunos microbios, tienen diferentes tolerancias de pH. Por ejemplo, las bacterias fibrolíticas son generalmente menos tolerantes al pH que las bacterias sacarolíticas, Russell y Wilson (1996).

Enzimas

Las enzimas son proteínas que catalizan diferentes reacciones bioquímicas, los preparados enzimáticos utilizados como aditivos en la alimentación animal actúan a nivel del sistema digestivo, ejerciendo diferentes acciones como son eliminar factores anti nutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de determinados nutrientes, complementar la actividad de las enzimas endógenas de los animales y reducir la excreción de ciertos compuestos (fósforo y nitrógeno) Carro y Ranilla, (2002). Las enzimas alimenticias se producen como productos de fermentación a partir de hongos y bacterias y parecen tener un efecto positivo sobre el animal, se añaden de forma rutinaria a los piensos de cerdos y aves de corral, trabajan ayudando a descomponer ciertos componentes de la alimentación tales como, glucanos, proteínas, y fitatos que el animal tienen problemas para digerir (Hughes et al., 2002).

Recientemente, las enzimas exógenas fibrolíticas y amilolíticas se están usando ya que actúan junto a bacterias ruminales y pueden ayudar a mejorar la degradabilidad del almidón presente en los alimentos utilizados en la alimentación de rumiantes diversas, investigaciones han demostrado que la digestión ruminal del almidón es incompleta y más para aquellos granos de tasas de digestión lenta como el sorgo, (Rojo et al., 2007).

En un estudio que se realizó en becerros Holstein alimentados con alfalfa de diferente calidad con enzimas fibrolíticas en la etapa pre y pos destete se pudo

observar que las enzimas mejoraron GD ($P < 0.05$) ganancia de peso (610 vs 404 g/d) y eficiencia alimenticia antes del destete (Flores et al., 2006).

En otro estudio se pudo ver la influencia de maceración en un forraje de baja calidad sobre digestión y función ruminal en vacas Holstein secas, de acuerdo a los 5 tratamientos que se dieron, no se vio un aumento significativo en el consumo de ms, pero al combinar la enzima y el macerado si hubo una interacción, aumento la tasa de digestión ruminal de FDN y a nivel de tracto total, aumento la digestión ruminal de MO pero sin efectos en tracto total y el macerado disminuyo digestión ruminal y aparente en tracto total del N consumido, pero aumento PC y tasa de digestión de fracción de FDN en rumen y disminuyo el contenido de sólidos, no hubo efecto sobre pH ruminal o en los perfiles de AGVs, por lo tanto, se puede decir que si hay efecto positivo en la dieta si se combina una enzima fibrolítica y exógena con el macerado (López et al., 2006).

En otro experimento donde se evaluó el comportamiento de toretes en pastos tropicales suplementados con caña de azúcar y enzimas fibrolíticas, estos no tuvieron los resultados esperados, ya que no mejoró el comportamiento productivo, la inconsistencia de los resultados puede atribuirse a diferentes factores, como la composición de las dietas, tipo y cantidad de enzima utilizada, estabilidad y método de aplicación de la misma y por las características físico-químicas de la pared celular del sustrato (Cano et al., 2003).

Glycozyme

Glycozyme es la mezcla de abundantes gliconutrientes (monosacáridos), β -glucano, probióticos (*Lactobacillus Plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces Cerevisiae*) y enzimas (Cuadro 7), son precursores para la síntesis interna del cuerpo, aumentan la tasa de absorción de nutrientes, ayudan a la dinamización y estabilización de microorganismos en el estómago, mejora eficiencia de la células en la utilización de nutrientes, mejora el sistema inmunológico, aumento de peso, mejora

el desarrollo del esqueleto, baja los niveles de estrés y disminución de la mortalidad y morbilidad, (Maxcell Global Co. LTD, 2015).

Cuadro 7. Ingredientes por Kg

Monosacáridos.....	14%
Lactobacillus plantarum.....	Min. 1×10^{10}
Bacillus subtilis.....	Min. 1×10^{10}
Sacharomyces cerevisiae.....	Min. 1×10^{10}
B-Glucan	<5%

(Maxcell Global Co. LTD, 2015)

Materiales y Métodos

Localización del área donde se llevó a cabo el estudio

El estudio se llevó a cabo en la Unidad Experimental de Rumiantes Metabólico del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California situado a 10 km al sur de Mexicali Ciudad de México del noroeste (32 ° 40 '7 "N y 115 ° 28' 6 "W). La superficie es de 10 m sobre el nivel del mar, y cuenta con las condiciones del desierto de Sonora (clasificación BWh según Köppen).

Características de las unidades experimentales

Cuatro novillos Holstein canulados en rumen y duodeno proximal (10 cm del esfínter pilórico) fueron utilizadas en una prueba de digestión con duración de 84 días con el fin de evaluar los efectos de diferentes niveles de inclusión suplemento estandarizado GLYCOZYME que contiene gliconutrientes y probióticos sobre las características de fermentación ruminal, la función digestiva, y la síntesis de proteína microbiana en novillos alimentados con una dieta de acabado.

Desarrollo experimental

Los procedimientos para el cuidado y el manejo de los novillos se condujeron de acuerdo a los procedimientos indicados por el comité de seguimiento para el uso y cuidado de animales en experimentación (NOM-051-ZOO-1995; NOM-062-ZOO-1995; NOM-024-ZOO-1995).

Para efecto de adaptación, 14 días previos al inicio de la prueba, los novillos fueron sometidos a la dieta base. Los animales se alojaron en corrales individuales (3.9 m²) en una instalación cubierta, con un suelo de hormigón cubierto por un tapete

de neopreno, bebederos automáticos y comederos individuales. Se utilizó óxido crómico (3 g/kg de dieta) como un marcador indigestible para estimar el flujo de nutrientes y la digestibilidad. El óxido crómico se mezcló previamente con ingredientes menores (urea y suplemento mineral compuesto por piedra caliza y sal (micró-mineralizada) antes de ser incorporado en la elaboración de la dieta basal. La composición y aporte de nutrientes de la dieta basal se muestran en el (Cuadro 8).

Todos los novillos tuvieron acceso ad libitum a la dieta basal durante 14 días antes de la iniciación del experimento. Para evitar rechazos durante el experimento, el consumo de alimento se limitó a 90% de la ingesta ad libitum (base materia seca) observado durante el periodo preliminar 14-d. Los tratamientos consistieron en el consumo de GLYCOZYME (Maxcell Global Co. LTD, Seúl, República de Corea) de acuerdo a la siguiente dosis diaria: 1) No GLYCOZYME (testigo); 2) 0.5 g diarios de GLYCOZYME / 10 kg de PV (GLY5); 3) 1.0 g GLYCOZYME / 10 kg PV (GLY10), y 4) 1.5 g diarios de GLYCOZYME (GLY15), estas dosis representaron aproximadamente a 8, 16 y 24 g diarios de GLY.

La dosis de GLYCOZYME de cada tratamiento se pesaron utilizando una balanza de precisión (Ohaus, AS612 mod, Pine Brook, NJ) y se añadieron (como aderezo) en proporciones iguales a la dieta basal en el momento de la alimentación, las dietas se ofrecieron en cantidades iguales 2 veces por día a las 0800 y 2000 h. El experimento consto de 4 periodos experimentales los cuales tuvieron una duración de 3 semanas cada uno, con 10 días para adaptación al tratamiento, 4 días para la recolección de muestras y 7 días de descanso (sin recibir GLY). Durante el periodo de recolección de muestras, las muestras duodenales y fecales fueron tomados de todos los novillos, dos veces al día como sigue: d 1, 0750 y 1350 h; d 2, 0900 y 15000 h; d 3,1050 y 1650 h; y d 4 b, 1200 y 1800 h. La cantidad obtenida por recolección fue de 700 ml de quimo duodenal y 200 g de heces (base fresca).

Las muestras de cada novillo, en cada periodo de colección, se mezclaron con el propósito de formar una muestra compuesta, misma que se congelo a -20 °C para análisis posteriores. A las 4 h postconsumo (1200 h), en el último día de cada periodo, se determinó el pH (Orión 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) del

contenido ruminal de una muestra obtenida (± 500 mL) de cada novillo mediante el uso de una bomba de vacío (Cole Parmer Instrument, Vernon Hill, IL), a las muestras resultantes se les añadió 2 mL de ácido metafosfórico al 25% (p/v) por cada 8 mL de líquido ruminal previamente filtrado a través de tres capas de gasas, posteriormente se centrifugaron ($17000 \times g$ durante 10 minutos) y el sobrenadante fue congelado a -20°C para análisis de ácidos grasos volátiles (AGV). El último día, del último periodo experimental, muestras del flujo ruminal se obtuvieron de todos los novillos, se mezclaron y del resultante se tomó una alícuota para aislamiento de bacterias ruminales por centrifugación diferencial (Bergen et. al., 1968). Las muestras duodenales se descongelaron a temperatura ambiente una vez completamente descongeladas el quimo intestinal se homogeniza utilizando para ello una licuadora durante 10 s, posteriormente la totalidad de la muestra fue depositada en un continente con capacidad de 20 L y se mezcló utilizando un homogenizador (Fisher Products Co.). Posteriormente una alícuota de 900 mL se depositó en un refractario para desecarse a 70°C durante 72 h. Las heces se descongelaron a temperatura ambiente se homogenizo manualmente y una cantidad de aproximadamente 200 g se colocaron en forma extendida (aproximadamente 1 mm de grosor) en papel aluminio para desecarse a una temperatura de 70°C durante 24 h. una vez desecadas, tanto las muestras de quimo intestinal como las de heces fueron molidas para obtener un tamaño de partícula aproximadamente 1 mm.

Cuadro 8. Composición de la dieta basal y la dosis de GLYCOZYME utilizada.

Concepto	GLYCOZYME consumo, gx10kg PV/novillo/d			
	0	0.5	1.0	1.5
Ingredientes				
Maíz en hojuela, %	72.00	72.00	72.00	72.00
Granos secos de destilería con solubles, %	4.85	4.85	4.85	4.85
Heno de avena, %	8.00	8.00	8.00	8.00
Heno de alfalfa, %	4.00	4.00	4.00	4.00
Grasa, %	2.00	2.00	2.00	2.00
Melaza de caña, %	6.00	6.00	6.00	6.00
Urea, %	1.10	1.10	1.10	1.10
GLYCOZYME, g/día PV ^a	--	0.5	1.0	1.5
Oxido de cromo, %	0.30	0.30	0.30	0.30
Roca caliza, %	1.35	1.35	1.35	1.35
Sal mineralizada, % ^b	0.40	0.40	0.40	0.40
Composición nutrimental, (base MS), %				
Proteína cruda	11.20	11.20	11.20	11.20
Extracto etéreo	5.40	5.40	5.40	5.40
Fibra detergente neutro	18.20	18.20	18.20	18.20
Ca	0.78	0.78	0.78	0.78
P	0.27	0.27	0.27	0.27
Energía neta calculada (Mcal/kg)^c				
Mantenimiento	2.11	2.11	2.11	2.11
Ganancia	1.45	1.45	1.45	1.45

^a Fuentes estandarizadas de glyconutrientes (Macell Co. Seúl, Rep, of Korea).

^b Sal mineralizada contenido: CoSO₄, .068%; CuSO₄, 1.04% FeSO₄, 3.57%; ZnO, 1.24% MnSO₄, 1.07%, KI 0.052%; and NaCl, 92.96%.

^c Estimado de los valores tabulares de la energía neta (EN) especificado para cada ingrediente (NRC., 1996).

Variables evaluadas

Las muestras generadas se sujetaron a todos, o parte de los siguientes análisis: Materia seca (MS; estufa desecando a 105°C, hasta peso constante), cenizas, N kjeldhal y nitrógeno amoniacal de acuerdo con lo estipulado por la AOAC (1998), purinas (Zinn y Owens, 1986), óxido crómico (Hill y Anderson, 1958), almidón (Zinn, 1990), concentración en el fluido ruminal de AGV (cromatografía de gases, Zinn, 1988) y fibra detergente neutra (FDN) (Goering y Van Soest, 1970; corregida para cenizas insolubles). La cantidad de materia orgánica microbiana (MOM), así como el nitrógeno microbiano (NM) que fluye a duodeno fue calculada con base en los análisis de las bacterias aisladas en el fluido ruminal así como en las muestras obtenidas de duodeno, usando purinas como marcadores microbianos (Zinn y Owens, 1986). La materia orgánica fermentada (MOF) en rumen se calculó de acuerdo a la cantidad de MO consumida y las proporciones de MO microbiano y MO total determinadas en duodeno (Plascencia et al., 1999). El N consumido que escapa de la digestión ruminal (proteína de escape) se consideró como el equivalente al total de N que ingresa al duodeno menos la suma de las cantidades de N amoniacal y N microbiano que fluyen al duodeno. La producción de metano en rumen se calculó a partir del balance teórico de fermentación en base a la distribución molar de AGV observada en el fluido ruminal (Wolin, 1960) y de la desaparición de MO en rumen.

Diseño experimental

Los datos se analizaron como un diseño de cuadro latino 4x4 (SAS Inst., Inc., Cary, NC, Versión 9.1). Los efectos de los tratamientos se contrastaron utilizando polinomios ortogonales para componentes lineales, cuadráticos y cúbicos dado por el nivel de dosis de GLYCOZYME. Los contrastes se consideraron significativos cuando el valor de P Fue $\leq 0,05$, y las tendencias se identificaron cuando el valor P era $> 0,05$ y $\leq 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

En virtud en que en la fase pre-experimental se observaron disminuciones en el consumo de MS en los novillos que consumieron dosis por encima de 1.5 g de GLY×10 kg PV, se ajustaron los consumos de GLY tal y como se especifica en la sección de materiales y métodos. Los efectos de la suplementación con GLYCOZYME sobre las características de digestión se muestran en el Cuadro 9. El suplementar GLY no afectó la digestión ruminal, postruminal o de tracto total de la MO y FDN, ni sobre la energía digestible de la dieta. Comparado con el testigo, los novillo que consumieron GLY a nivel igual o mayor a 1.0 g de GLY×10 kg PV tendieron a una disminución en la digestión ruminal de almidón (3.1%, $P=0.10$) pero como consecuencia de un incremento numérico de 2.2% ($P=0.24$) a nivel postruminal, no existió diferencia en la digestión a nivel de tracto total de almidón. El consumo de GLY incrementó el flujo a duodeno de N no amoniacal como resultado del aumento del flujo a duodeno de N microbiano, siendo la máxima respuesta a la dosis de 1.0 g de GLY×10 kg PV (componente cuadrático). Este comportamiento se reflejó en una mayor (componente cuadrático, $P=0.02$) eficiencia microbiana a nivel ruminal y en un incremento (componente cuadrático, $P<0.01$) en la eficiencia de nitrógeno. El consumo de GLY aumento la digestión postruminal del N, esto pudo deberse en parte al mayor flujo de NNA a duodeno y/o a una mejora en la absorción de este componente a nivel intestinal. Los novillos que consumieron GLY mostraron una tendencia a una mayor digestión del N a nivel de tracto total cuando la dosis fue de 1.0 g de GLY×10 kg PV (componente cuadrático, $P=0.07$).

Los efectos sobre el pH ruminal y las variables de fermentación ruminal se muestran en el Cuadro 10. Al aumentar el nivel de dosis de GLY, el pH ruminal tendió ($P=0.07$) a disminuir linealmente. Este fenómeno debe atribuirse exclusivamente a la adición del producto ya que la digestión de almidón y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) no se aumentaron por la suplementación de GLY. La disminución del pH con la suplementación de GLY

coincide con el hecho de la disminución del consumo de MS mostrado para los animales que consumieron grandes dosis del producto.

Como se mencionó, la suplementación con GLY no afectó ($P>0.66$) la cantidad total de AGV producidos en rumen, pero disminuyó linealmente ($P=0.03$) la proporción de acetato sin cambios en la proporción de propionato a medida que se incrementó la dosis de GLY. Con algunos aditivos como la monensina sódica la reducción de acetato se ve acompañada de un incremento del propionato, en este caso no existió diferencia en la proporción de propionato con la adición de GLY; entonces, la disminución de acetato fue reflejo de un aumento lineal ($P=0.02$) de la proporción de butirato, por lo que no existió una disminución de la producción estimada de metano al reducirse la proporción de acetato con GLY. La relación acetato: propionato no fue afectada por el consumo de GLY.

Discusión

Tal como se especifica en la sección de materiales y métodos, el producto está elaborado en base a una combinación de probióticos, prebióticos y glycoazúcares; por lo tanto, los efectos son el producto de una actividad sinérgica o antagónica entre los componentes del producto. Estudios previos han indicado que la suplementación con probióticos es beneficiosa para los rumiantes que se alimentan con dietas altas en energía (Dawson et al. 1990, Cole et al. 1992 y Krehbiel et al., 2003) al mejorar el crecimiento, el balance de nitrógeno, y la digestión de nutrientes. Sin embargo, otros estudios informaron que no hubo beneficios por la suplementación dietética con probióticos formulados a base de levaduras. Según esto último, Zinn et al. (1999) informaron que el consumo de 28 g/cabeza/d de levadura suplementaria no influyó en el sitio y tasa de digestión de nutrientes en becerros. Las bases para las inconsistencias en la respuesta a la suplementación con probióticos no están claras. Algunas investigaciones señalaron que la eficacia de la suplementación con probióticos depende, en parte, del nivel de administración

(Domínguez-Vara et al. 2009) y del tipo de probiótico (solo o en combinación con minerales; Kellems et al. 1990).

No tener un efecto positivo en la suplementación de GLY sobre digestión ruminal aparente de MO observada en el presente estudio coincide con los informes anteriores en los novillos alimentados con dietas de finalización (Mutsvangwa *et al.*, 1992; Mir & Mir, 1994). Sin embargo, otras investigaciones han reportado un efecto positivo sobre la digestibilidad ruminal MO con la suplementación GLY (Zeoula *et al.*, 2008).

(MWenya *et al.* (2005) se afirmó que los suplementos alimenticios microbianos pueden cambiar el número de bacterias, lo que puede influir en la velocidad de digestión de las fibras, pero no en la digestibilidad de la dieta. Esto está más relacionado con la estructura físico-química de la alimentación, que puede cambiar el efecto de la levadura en la degradación ruminal y el tracto total de FDN.

Algunos estudios (Plata *et al.*, 1994; Tripathi and Karin, 2011) han demostrado que los beneficios asociados con *S. cerevisiae* incluyen mejoras en el conteo ruminal-microbiano y / o un aumento de la síntesis de proteínas microbianas en bovinos alimentados con dietas en alto y bajo contenido de forraje. Se ha argumentado que una menor concentración de amoníaco se asocia con una mayor incorporación de amoníaco en las proteínas microbianas, lo que podría aumentar el flujo microbiano al duodeno (Erasmus *et al.*, 1992).

Incluso cuando muy pocos estudios reportaron valores de digestión post-ruminal cuando se evaluaron probióticos / prebióticos suplementarios en rumiantes, el no haber efectos del tratamiento sobre la digestibilidad post-ruminal de MO, FDN y N coincidió con la ausencia de efectos sobre la digestibilidad post-ruminal observada previamente cuando se usaba *S. cerevisiae* en el ganado de engorda alimentado con una dieta de medio a alto contenido de grano (Zinn and Borquez, 1993; Beauchemin *et al.*, 2003; Zeoula *et al.*, 2008). Los aumentos en la digestión del tracto total de MO, FDN o PC se han descrito previamente como respuesta a la adición de probióticos a las dietas de finalización (Zinn and Borquez, 1993; Mukhtar *et al.*,

2010), la cual no coinciden con nuestros resultados, mientras que en otros, la suplementación de probióticos no tiene ningún efecto sobre la digestibilidad del tracto total (Beauchemin *et al.*, 2003; Ding *et al.*, 2008). Las diferentes respuestas en la suplementación de probióticos entre los estudios no son claras. Es evidente que los probióticos / prebióticos pueden tener efectos beneficiosos sobre la digestión en algunas circunstancias, pero parece haber una considerable variabilidad inexplicable en la respuesta.

En algunos estudios, (Chaucheyras-Duran *et al.*, 2008; Marden *et al.*, 2008) la inclusión de probióticos en las dietas aumentó el pH ruminal, pero en otros (Zinn & Borquez, 1993; Baumann *et al.*, 2004) el pH ruminal no fue afectado por la suplementación probiótica. Algunos investigadores (Nisbet and Martin, 1991; Marden *et al.*, 2008) afirmaron que cepas de levadura mostraron una mejor capacidad para usar lactato porque estimularon su utilización por bacterias ácido propiónicas. La utilización del lactato por estas bacterias es de mayor importancia para la estabilización del ambiente ruminal. El aumento del metabolismo del ácido láctico debería elevar teóricamente el pH ruminal. Además, en algunos reportes (Chevaux and Fabre, 2007; Křížová *et al.*, 2011), Las levaduras redujeron las fluctuaciones diarias en los valores de pH y también disminuyeron las diferencias existentes entre ellos. Esto resultó en una mayor estabilidad del ambiente ruminal durante el día. Sin embargo, las levaduras son más eficientes cuando los animales son alimentados con dietas altas en energía y, por tanto, fácilmente fermentadas por microorganismos del rumen (Mikulek *et al.*, 2010).

En el caso de los gliconutrientes, a nivel metabólico, la sustitución de una fuente de carbono fácilmente fermentable, tal como almidón, con una mezcla compleja de polisacáridos, no indujo cambios significativos en las concentraciones de AGCC (Incluso un ligero aumento en la producción de acetato y propionato). Esto era indicativo de una buena fermentación pero todavía selectiva de ambos productos. El arabinogalactano se ha asociado a aumentos significativos de anaerobios fecales totales y *Lactobacillus* spp. Sin cambios en la producción de pH o AGCC (Robinson *et al.*, 2001). Las bacterias en el intestino regulan la producción de AGCCs en

respuesta a varios factores, y entre ellos la disponibilidad de carbono desempeña un papel clave. El lactato se produce normalmente en condiciones de exceso de carbono (para afectar el equilibrio redox durante la fermentación) y el almidón es el principal precursor de este ácido orgánico (Macfarlane y Macfarlane, 2003). En esta situación, las bacterias productoras de lactato posiblemente crecieron en el almidón residual u otros componentes de la dieta durante el período de tratamiento, la microbiota lo metabolizó rápidamente a lactato. El lactato fue, por tanto, un intermedio para la producción de butirato (Duncan et al., 2004). Investigaciones previas in vivo e in vitro mostraron que varios *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp. Poseen las capacidades metabólicas para utilizar carbohidratos complejos que contienen fucosa, manosa, arabinosa y galactosa (Crociani et al., 1994; Degnan y Macfarlane, 1995; Robinson et al., 2001; Topping y Clifton, 2001).

Tres ovejas, habilitadas con cánulas ruminal y duodenal, fueron suplementadas con 2 g / d de *S. cerevisiae* o *E. aerogenes*. Ambos aditivos estimularon el número de bacterias en el rumen, teniendo un aumento del 25 y 27% en el flujo de proteína microbiana del rumen con *S. cerevisiae* y *E. aerogenes*, respectivamente (Newbold, 1996).

Conclusiones

La utilización de aminoazúcares combinados con probióticos como aditivo alimenticio no influye negativamente en el sitio o tasa de digestión de la MO, FDN o almidón, sin embargo mejora la utilización de N mediante una mayor retención de N a través de la síntesis microbiana y una mejor tasa de absorción intestinal del mismo. El suplementar GLY modifica la fermentación ruminal mediante la disminución la proporción de acetato a través de un aumento en la proporción de butirato sin afectar la producción de propionato o la producción estimada de metano. Basados en las respuestas observadas, el nivel óptimo es de 1.0 g de GLY×10 kg PV.

Niveles mayores no ofrecen ventajas y pueden afectar negativamente el consumo de MS como consecuencia de modificaciones en el pH ruminal. Es necesario investigar cómo se traducen los efectos observados de GLY sobre

digestión y fermentación en el rendimiento productivo de rumiantes en finalización.

Cuadro 9. Influencia del nivel de suplementación del GLYCOZYME sobre las características de digestión en novillos Holstein canulados (137 kg BW)

Concepto	GLYCOZYME consumo, gx10 kg PV/novillo/día				EEM	Contrastes.	
	0	0.5	1.0	1.5		Linear	Cuadrático.
Consumo g/d							
Materia seca	2,881	2,881	2,881	2,881			
Materia orgánica	2,717	2,717	2,717	2,717			
Fibra detergente neutro	445	445	445	445			
Almidón	1,430	1,430	1,430	1,430			
Nitrógeno	57	57	57	57			
Energía Bruta, Mcal/d	12.06	12.06	12.06	12.06			
Flujo a duodeno g/d							
Materia orgánica	1,287	1,321	1,378	1,357	27	0.07	0.34
MO microbiano	329	359	381	343	12	0.27	0.03
Fibra detergente neutro	237	238	255	258	10	0.13	0.86
Almidón	209	245	247	247	13	0.11	0.22
Nitrógeno	59.1	62.8	65.7	61.9	0.90	0.03	0.01
N amoniacal	1.79	1.52	1.75	1.69	0.11	0.89	0.41
N no amoniacal	57.33	61.25	63.85	60.20	1.12	0.02	0.01
N microbiano	32.93	35.88	38.12	34.34	1.19	0.27	0.03
N alimenticio	24.40	25.63	25.73	25.87	1.06	0.36	0.61
Digestión ruminal, %							
Materia orgánica ³	61.10	60.71	59.42	58.78	0.96	0.11	0.90
Fibra detergente neutro	46.68	46.78	42.08	41.48	2.25	0.13	0.90
Almidón	85.25	82.81	82.68	82.60	0.90	0.10	0.24
N alimenticio	57.02	55.21	54.07	53.73	2.10	0.29	0.74
Eficiencia microbiana ²	18.74	20.59	22.26	20.39	0.64	0.06	0.02
Eficiencia de N ³	1.00	1.08	1.12	1.02	0.016	0.013	0.01
Digestión postruminal %							
Materia orgánica	58.05	59.65	61.29	59.65	1.17	0.26	0.22
Fibra detergente neutro	6.73	9.83	14.27	8.88	6.58	0.72	0.54
Almidón	91.54	93.05	94.56	93.06	1.02	0.24	0.20
Nitrógeno	71.10	71.97	77.31	71.36	0.93	0.19	0.01
Excreción fecal, Mcal/d							
Materia seca	611	617	618	6.27	19.8	0.61	0.92
Materia orgánica	540	534	535	549	18.9	0.76	0.61
Fibra detergente neutro	221	210	219	236	9.5	0.24	0.20
Almidón	18.5	18.6	13.6	17.1	2.84	0.49	0.59
Nitrógeno	17.0	17.6	14.9	17.7	0.56	0.75	0.09
Energía fecal	2.526	2.572	2.565	2.592	0.04	0.66	0.88
Digestión en tracto total, %							
Materia seca	78.75	78.49	78.51	78.20	0.68	0.61	0.97
Materia orgánica	80.12	80.26	80.26	79.77	0.69	0.75	0.66
Fibra detergente neutro	50.53	52.47	50.58	48.80	2.02	0.20	0.21
Almidón	98.91	98.72	98.73	99.19	0.17	0.29	0.09
Nitrógeno	70.11	69.22	73.65	69.70	0.93	0.96	0.07
Energía digestible, Mcal/kg	3.31	3.29	3.30	3.28	0.07	0.97	0.92

¹¹ Fuente estandarizada de gliconutrientes (Maxcell Co. LTD, Seúl, Rep. Of Korea).

² Eficiencia microbiana estimada como la cantidad de NM en duodeno, g/k⁴ de MO fermentada en rumen.

³ Eficiencia de N estimada como la cantidad (g/d) de nitrógeno no amoniacal en duodeno entre la cantidad (g/d) de N ingerido.

Cuadro 10. Influencia del nivel de suplementación de GLYCOZYME² sobre el pH ruminal¹, nitrógeno amoniacal, concentración y producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y la producción estimada de metano¹

Concepto	GLYCOZYME ² consumo, gx10kgPV/novillo/d				EEM	Contrastes	
	0	0.5	1.0	1.5		Linear	Cuadrático
pH	6.09	6.04	5.86	5.88	0.08	0.07	0.66
AGV totales, moles	72.6	73.8	72.1	70.2	4.3	0.66	0.73
AGV Ruminales, mol/100mol							
Acetato	52.40	50.60	49.75	48.80	0.86	0.03	0.64
Propionato	38.53	38.04	37.74	36.30	1.02	0.18	0.66
Butirato	9.07	11.36	12.51	14.89	1.32	0.02	0.97
Proporción AC:PR	1.36	1.33	1.32	1.35	0.04	0.80	0.49
Producción de metano ³	0.39	0.39	0.39	0.40	0.01	0.59	0.61

¹Muestras tomadas 4 -h post-alimentación.

²Fuentes estandarizadas de gliconutrientes (Macell Co. Seúl, Rep, of Korea).

³Metano mol/mol de glucosa equivalente fermentada (Wolin, 1960).

LITERATURA CITADA

- Alakomi, H.L., Saarela, M. Helander, I.M.2003. Efecto de EDTA sobre Salmonella enterica serovar TyphimuriumInvolve un componente no asignable a la liberación de lipopolisacáridos. Microbiology 149: 2015 – 2021
- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Basay-Dulanto,G. 2010.Uso de los probióticos en la alimentación animal con énfasis en Sacchromyces Cerevisiae. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 8-12.
- Beauchemin, K.A., Krehbiel, C.R., Newbold, C.J .2006. Enzymes, Bacterial Direct-Fed Microbials and Yeast: Principles for Use in Ruminant Nutrition. In: Mosenthin R, Zentek J, Ebrowska TZ (Eds) Biology of Nutrition in Growing Animals.
- Bergen, W.G., D.B. Purser, and J.H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of microbial protein. J. Anim. Sci. 27: 1497 - 1501.
- Cano,A.L.,Aranda,E.I.,Mendoza,M.G.,Pérez,P.J.,Ramos,J.J,A.2003.comportamiento de toretes en pastos tropicales suplementados con caña de azúcar y enzimas fibrolíticas. Instituto Nacional de Investigacines Forestales, Agrícolas y Pecuarias.México.156-153.

Carro M.D y M.J.Ranilla.2002.Departamento de producción animal.Universidad de León. Los Aditivos Antibióticos Promotores del Crecimiento de los Animales:Situación Actual y Posibles Alternativas.

Castillo-González, A. R., M. E. Burrola-Barrazab, J. Domínguez-Viveros, A. Chávez-Martínez. 2014.Review article. Rumen microorganisms and fermentation. *Arch Med Vet* 46: 349-361.

Chaucheyras, F and H.Durand. 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef. Microbes* 1:3–9.

Chung, Y.H., N.D. Walker, S.M. McGinn, and K.A. Beauchemin. 2011. Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:2431–2439.

Dehority, B.A. 2003. Numbers, factors affecting the population and distribution of rumen bacteria,. In B.A. Dehority (ed.), *Rumen Microbiology*. Nottingham Univ. Press, Nottingham. 265–294 p.

Dehority, B. A., P. A. Tirabasso, and A. P. Grifo, Jr. 1989. Most-probable-number procedures for enumerating ruminal bacteria including simultaneous estimation of total and cellulolytic numbers in one medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2789–2792.

Dehority, B.A. 1984.Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. Appl. Environ. Microbiol. 48:182-185.

Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. J. Dairy Sci. 92:1620–1632.

Dildey, D., Sellars, K., Burrill, M., Tree, J., Newman, K. y Jacques, K. 1997. Effect of mannan oligosaccharide supplementation on performance and health of Holstein calves. Journal of Dairy Science 80 (Suppl. 1): 188.

Emili,I.Mondoa,M.D.y Kitei,M.2001.Sugar That heal. The new healing science of Glyconutrients.Editorial. Ballantine book. Estados Unidos de America1- 45.

FAO. 2016. Carne y productos cárnicos. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura.
<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>

Filya, I., Karabulut, A., Sucu, E. The effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of maize silage in warm climate. in: Proc. XIII Intl. Silage Conf. ; 2002:192–193.

Flores,B.M.J.,Ruiz,Lopéz.F.J.,Guerrero,C.M.J.,Romano,M.J.L.2006.Respuesta productiva de becerros Holstein alimentados con alfalfa de diferente calidad y enzimas fibrolíticas en la etapa pre y posdestete. Técnica pecuaria de México. Volumen(vol.44):313-328.

Galyean, M.L., Nunnery. G.A., Defoor, P.J., Salyer, G.B., Parsons, C.H. 2000 . Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (Strains 45 and 51) and *Propionibacterium freudenreichii* PF-24 on performance and carcass characteristics of finishing beef steers.

Goering, H.K., and P.J. Van Soest. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook 379. ARS-USDA, Washington, D.C.

Hill, F.N., and D.L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. J. Nutr. 64:587-603.

Huck, G.L., Kreikemeier, K.K., Ducharme, G.A. 2000. Effect of feeding two microbial additives in sequence on growth performance and carcass characteristics of finishing heifers.

- Hughes, P., Heritage, J. (2002). Food and Agriculture Organization. Antibiotic growth-promoters in food animals. Retrieved from Leeds, U.K.
- La Torre, G.L. 2008. Análisis estructural y modificación funcional de la glucoamilasa de *Accharomyces Cerevisiae* Var. *Diastaticus*. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
- Lee, Yeo-Eun; Kang, Jin-A; Yu, Eun-Ah; Kim, Suk; Lee, Hu-Jang; Effect of feeding the combination with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* on fecal microflora and diarrhea incidence of Korean native calves. 2009. 35, (4): 343-346.
- López-Soto, M.A., Barreras-Serrano, A., González-Vizcarra, V.M., May-García, D., Plascencia-Jorquera, A. and Avery-Zinn, R. 2006. influencias de una enzima fibrolítica exógena y el proceso de maceración en un forraje de baja calidad sobre digestión y función ruminal en vacas Holstein secas. Universidad Nacional Autónoma de México. 275-289.
- Martínez A. 2000. Ileitis, intestinal microflora and performance of growing finishing pigs fed *saccharomyces cerevisiae*. Journal of animal science, 78(1), p.1296.
- Martínez, A. J. A. 2013. Estrategias nutricionales para mejorar la respuesta productiva de cerdos en engorda. Tesis para obtener el grado de doctor. Montecillo, Texcoco, edo. De México. 1-2.
- Mathews C., K. Van Holde, K. Ahern. 2003. Bioquímica. 3ra edición. Editorial Pearson Addison Wesley.

McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh, C.A. Morgan, L.A. Sinclair, and R.G. Wilkinson. 2011. Food additives, p. 594–607. In J.F.D. Greenhalgh, C.A. Morgan, L.A. Sinclair, R.G. Wilkinson (eds.), *Animal Nutrition*. Seventh ed. Pearson Education Ltd., Harlow

Mendoza, G.D., R.A. Britton, and R.A. Stock. 1993. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 71:1572-1578.

Murray K., D. Bender, K. Botham, P. Kennelly, V. Rodwel, P. Weil. 2010. *Harper Bioquímica ilustrada*. 28 edición. Editorial McGraw Hill. 506-526 pp.

Murray, R.K., Mayes, A.p., Granner, K., Rodwell, W.V. 2005. *Bioquímica de Harper. Manual Moderno*. 14 edición. Editorial. McGraw Hill. 911 pp.

NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th ed. Natl. Acad. Sci. Press. Washington, D.C.

Ogimoto, K and Imai, S. 1981. *Atlas of rumen microbiology*. Japan Scientific Press, Tokyo.

Pawar, M.M., Ashok P. K., Dharmendra S. K., Tapas K. G., Kusumakar, S. Effect of dietary mannanoligosaccharide supplementation on nutrient digestibility,

hindgut fermentation, immune response and antioxidant indices in dogs 2017. J. Anim. Sci. 59:11.

Plascencia, A. 2015. Evaluation of feed additives on performance of ruminants fattening under conditions of high ambient temperatures (in Spanish). XXV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Áridos. Ensenada Baja California, México. pp. 1-27.

Ravindran, V. (2010). Aditivos en alimentación animal: Presente y Futuro. XXVI Curso de Especialización FEDNA, 3–26.

Rodriguez, R., Sosa, A., Rodríguez, Y. 2007. La síntesis de proteína microbiana en el rumen y su importancia para los rumiantes. Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas. La Habana.

Rodriguez-Palacios, H.R. Staempfli, T. Duffield, J.S. Weese, Isolation of bovine intestinal *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* with inhibitory activity against *Escherichia coli* O157 and F5 *Journal of Applied Microbiology.*, 2009; Volume 106, (2): 393–401.

Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, J.D., Montañez-Valdez, O.D., Rebollar-Rebollar, S., Cardoso-Jiménez, D., Hernaández-Martínez, J., González-Razo, F.J. 2007. Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. Universidad Autónoma del Estado de México. 173-182.

Ross, E., P. Moate, C. Bath, S. Davidson, T. Sawbridge, K. Guthridge, B. Cocks, and B. Hayes. 2012. High throughput whole rumen metagenome profiling using untargeted massively parallel sequencing. *BMC Genet.* 13:53.

Rust, S.R., Metz, K., Ware, D.R. 2000. Effects of Bovamine TM rumen culture on the performance and carcass characteristics of feedlot steers. *Mich. Agric. Exp. Sta. Beef Cattle, Sheep and Forage Syst. Res. Dem. Rep.* 569: 22–26.

Russell, J.B., and D.B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH *J. Dairy Sci.* 79:1503– 1509.

Saejin, Song. 2015. Glycozyme. Maxcell Co. LTD, Seúl, Rep. of Korea. <http://maxcellglobal.com/Products01.php>

SAGARPA. 2012. Programa Nacional Pecuario. <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Programa/>

Schoffro, C.M. 2016 *El milagro probiótico*. Editorial Grijalbo. 272 pp.

Sierpina, V.S., and Murray, R.K. 2006. Glyconutrients: the state of the Science and the Impact of Glycomics.

Sitio argentino de Producción Animal. 1998. Utilización de aditivos en piensos para rumiantes. Acedo, J. Rico. G.44-66 .

Statistical Analysis System (SAS). 2004. *SAS/STAT User's Guide: Version 9.1*. SAS Institute Inc., Cary, North Caroline.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 24:834–843.

Velasco,R.R.,Mendoza,M.G.D.,Crosby,G.,M.M.,Sandoval,C.E.1997. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México, D.F.294.

Uyeno, Y., Shigemori, S., Shimosato, T. 2015. Effect of Probiotics/Prebiotics on Cattle Health and Productivity. *Microbes Environ.* (30)2. 126-132 pp.

Wolin, M.J.1960. A Theoretical Rumen Fermentation Balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452-1459.

Yirga, H. 2015. The use of Probiotics in Animal Nutrition. *J Prob Health* (3)132. 1-10 pp. doi:10.4172/2329-8901.1000132

Zheng, L., Duarte, E.M., park,I., Sung, W.K Supplemental Effects of Fermented Rice Bran Extracts on Growth Performance, Bone Characteristics, and Immune Response of Broiler Chickens.2017. North state carolina State University, Raleigh, NC.American Societiy of Animal Science.

Zheng, L., Duarte, E.M., park,I., Sung, W.K.2017. Supplemental Effects of Fermented Rice Bran Extracts on Gut Health and Growth of Nursery Pigs. North state carolina State University, Raleigh, NC.American Societiy of Animal Science.

Zinn, R.A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. J. Anim. Sci. 66:213-227.

Zinn, R.A. 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. J. Anim. Sci. 68:776-781.

Zinn, R.A., and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. J. Anim. Sci. 71:11-17.

Zinn, R.A., and F.N. Owens. 1986. A rapid proc edure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. Can. J. Anim. Sci. 66:157-166.