

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



INFLUENCIA DE ENZIMAS EXÓGENAS O *Saccharomyces cerevisiae* EN
DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y
PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* EN OVINOS.

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Autora:

Jessica Yesenia Razo Barrera

Tutor:

Ing. Zoot. Marcos A. Barros Rodríguez, PhD.

Ambato – Tungurahua – Ecuador, 2018

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“JESSICA YESENIA RAZO BARRERA, portadora de la cédula de identidad número: 1804270906, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **“INFLUENCIA DE ENZIMAS EXÓGENAS O *SACCHAROMYCES CERVISIAE* EN DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO* EN OVINOS”** es original, autentico y personal. En tal virtud declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”

Jessica Yesenia Razo Barrera
C.C. 1804270906

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**INFLUENCIA DE ENZIMAS EXÓGENAS O *Saccharomyces cerevisiae* EN DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* EN OVINOS**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de Tercer Nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de esta tesis, o de parte de ella.

Jessica Yesenia Razo Barrera
C.C. 1804270906

APROBACIÓN

“INFLUENCIA DE ENZIMAS EXÓGENAS O *Saccharomyces cerevisiae* EN DIETAS FIBROSAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE GAS *in vitro* EN OVINOS”

REVISADO POR:

PhD. Marcos A. Barros Rodríguez
TUTOR

Ing. Patricio Nuñez Mg.
ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO:

Ing. Hernán Zurita Mg.
PRESIDENTE

Fecha

Dr. Pedro Díaz
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Fecha

Dr. Roberto Almeida
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Fecha

ÍNDICE

RESUMEN.....	VIII
CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO II	3
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL.....	7
2.2.1. UNIDAD DE ANÁLISIS	7
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA EN ECUADOR	7
CLASIFICACIÓN DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN	7
LIMITACIONES EN LA NUTRICIÓN OVINA EN ECUADOR.....	8
2.2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE	9
USO DE ENZIMAS Y LEVADURAS EN LA ALIMENTACIÓN OVINA.....	9
2.2.3. VARIABLE DEPENDIENTE	12
FERMENTACIÓN RUMINAL.....	12
PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO	13
MICROORGANISMOS RUMINALES	13
CAPÍTULO III.....	14
3.1. HIPÓTESIS	14
3.2. OBJETIVOS	14
3.2.1. OBJETIVO GENERAL.....	14
3.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14

CAPITULO IV	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1. UBICACIÓN DEL PROYECTO	15
4.2. ANIMALES, ALOJAMIENTO, ALIMENTACIÓN Y TRATAMIENTOS	15
4.3. COLECTA DE MATERIAL VEGETAL	16
4.4. ENZIMAS Y LEVADURAS UTILIZADAS.....	16
4.5. VARIABLES DE RESPUESTA	16
4.6. ANÁLISIS QUÍMICO	18
4.7. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
 CAPITULO V.....	 19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1. RESULTADOS.....	19
5.2. DISCUSIÓN	23
 CAPÍTULO VI.....	 27
6. CONCLUSIÓN, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	27
6.1. CONCLUSIÓN	27
6.2. BIBLIOGRAFÍA	27
6.3. ANEXOS	34
 CAPÍTULO VII.....	 41
7. PROPUESTA	41
7.1. DATOS INFORMATIVOS.....	41
7.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	41
7.3. JUSTIFICACIÓN	41
7.4. OBJETIVOS	42
7.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	42

7.6. FUNDAMENTACIÓN.....	42
7.7. METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO	43
7.8. ADMINISTRACIÓN.....	43
7.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Ingredientes y dietas experimentales con y sin enzimas o levaduras	15
Tabla 2: Consumo voluntario y digestibilidad de los nutrientes (g/Kg MS excepto donde se muestra lo contrario) de dietas con enzimas exógenas y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ...	19
Tabla 3: Parámetros <i>in vitro</i> de Producción de Gas (ml/0.5g MS) Como efecto de la adición de dietas que contienen enzimas exógenas y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
Tabla 4: Parámetros <i>in vitro</i> de Producción de Gas (ml/0.5g MO) Como efecto de la adición de dietas que contienen enzimas exógenas y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21
Tabla 5: Cinética de Producción de metano (ml/0.5g MS fermentable).....	22
Tabla 6: Parámetros de degradación ruminal de Materia seca de Dietas que contienen enzimas exógenas y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	22
Tabla 7: pH Ruminal, Amoniac y Ácidos grasos volátiles	23

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en forrajes fibrosos sobre la fermentación ruminal en ovinos. El experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UTA. Se realizaron dos experimentos, 1) se utilizaron 4 animales machos mestizos con un peso vivo promedio de 30kg alojados en jaulas metabólicas y 2) 4 ovinos machos mestizos provistos de una fistula con una cánula en el rumen (2 pulgadas de diámetro interno y 5 pulgadas de diámetro externo). Los animales se distribuyeron de manera aleatoria en un diseño de cuadrado latino 4x4. Los ovinos fueron alimentados con una dieta integral a base de rastrojo de cebada. Se evaluaron 4 tratamientos; T1: dieta testigo (sin enzimas o levaduras), T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras). Se determinó el consumo voluntario, pH, producción de nitrógeno amoniacal, AGV's, cinética de la degradación ruminal *in situ* y producción de gas *in vitro*. Consumo voluntario de nutrientes no mostró diferencias entre tratamientos ($P>0.05$). Consumo voluntario de nutrientes digestibles fue mayor para T1, T2 y T4. La Digestibilidad fue superior para T1, T2 y T4 en MS y MO, mientras que para FDN y FDA no mostró diferencias entre tratamientos $P= (0.1035 \text{ y } 0.2029)$. La degradación ruminal *in situ* de la MS fue mayor para T2, T3 y T4. En lo que respecta a producción de gas y metano *in vitro*, se observó la menor producción en T1, T2 y T4. Finalmente el pH se mantuvo en un promedio de 7.3 - 7,6, el cual es favorable para las enzimas y óptimo para los microorganismos ruminales; el nitrógeno amoniacal incrementó en el T2 y la producción de AGVs no mostraron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$). Bajo las condiciones de este estudio se concluyó que la adición de enzimas exógenas a la dieta favoreció el consumo del alimento, la digestibilidad de la fibra, degradación y pH, creando así un ambiente óptimo para el desarrollo de los microorganismos ruminales y por ende una mejor síntesis de la proteína; dando como resultado una disminución en la producción de gas a nivel del rumen.

Palabras claves: enzimas exógenas, levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), degradación ruminal, consumo voluntario, pH, AGV's, metano, ovinos.

ABSTRACT

The purpose of this investigation was to evaluate the effect of the exogenous enzymes or *Saccharomyces cerevisiae* in fibrous forages over ruminal fermentation in ovines. The experiment was carry out in the Faculty of Agricultural Sciences of the UTA. Two experiments were carried out, 1) 4 mixed-breed male animals with an average live weight of 30kg housed in metabolic cages and 2) 4 mixed-breed male ovines provided with a fistula with a cannula in the rumen (2 inches of internal diameter and 5 inches of external diameter). The animals were distribute randomly in a 4x4 Latin square design. The ovines were fed an integral diet based on barley stubble. Four treatments were evaluated; T1: control diet (without enzymes or yeasts), T2: diet with enzymes (2 mg / kg), T3: diet with yeasts (1.5 mg / kg) and T4: diet with enzymes and yeasts (2 mg / kg enzymes + 1.5 mg / kg yeast). Voluntary intake, pH, ammoniacal nitrogen production, VFAs, kinetics of ruminal degradation in situ and *in vitro*, gas production were determined. Voluntary nutrient intake showed no differences between treatments ($P > 0.05$). Voluntary consumption of digestible nutrients was higher for T1, T2 and T4. Digestibility was higher for T1, T2 and T4 in MS and MO, while for NDF and FDA it did not show differences between treatments $P = (0.1035 \text{ and } 0.2029)$. The in situ ruminal degradation of the MS was greater for T2, T3 and T4. Regarding *in vitro* gas and methane production, the lowest production observed was in T1, T2 and T4. Finally, the pH remained at an average of 7.3 - 7.6, which is favorable for enzymes and optimal for ruminal microorganisms; the ammonia nitrogen increased in the T2 and the production of VFAs did not show differences between treatments ($P > 0.05$). Under the conditions of this study it was concluded that the addition of exogenous enzymes to the diet favored food consumption, fiber digestibility, degradation and pH, thus creating an optimal environment for the development of ruminal microorganisms and therefore a better synthesis of the protein; resulting in a decrease in gas production at the rumen level.

Key words: exogenous enzymes, yeasts (*Saccharomyces cervisiae*), ruminal degradation, voluntary intake, pH, VFAs, methane, ovines.

CAPITULO I

1. Introducción

El correcto funcionamiento del rumen en su mayoría dependerá del tipo de dieta que se le proporcione al ganado ya que, si este alimento contiene demasiada materia orgánica dará como resultado un incremento en la producción de ácidos en la fermentación lo que conllevará a que el pH ruminal disminuya y por ende, la fibra no podrá ser digerida en su totalidad. Para evitar este tipo de inconvenientes es necesario que la dieta contenga materia seca en un porcentaje adecuado ya que esta es la encargada de estimular la masticación lo que a su vez, estimula la secreción de Bicarbonato y tampones de fosfato en la saliva, estos van a neutralizar los ácidos producidos por la fermentación de materia orgánica en el rumen. El equilibrio entre la producción de ácido de fermentación y la secreción de amortiguación es un determinante importante del pH ruminal, de esta forma el ambiente será el indicado para que se pueda producir la digestibilidad de la fibra y por lo tanto, una mejor respuesta productiva (Allen, 1997).

Los beneficios en el uso de aditivos como levaduras o enzimas en el forraje son de gran importancia económica, ya que estos pueden incrementar la digestión de la fibra y con ello, mejoría en la función ruminal. La adición de estas levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) a la dieta da como resultado un mayor consumo de alimento y a la vez un incremento en la ganancia de peso, todo esto debido al aumento de bacterias proteolíticas y celulolíticas, las cuales van a permitir un mejor aprovechamiento de los alimentos (Arcos, Castrejón, Mendoza & Pérez, 2000). Lo que permite el aumento de estas bacterias es el incremento de Nitrógeno Amoniacal, el cual puede estar asociado a la estimulación de bacterias proteolíticas y por ende las bacterias celulolíticas estarán presentes ya que es la fuente de nitrógeno preferida por estas bacterias. Dando como resultado final una mejor degradación y digestibilidad de los alimentos (Arcos et al, 2007).

El uso de enzimas exógenas en la dieta del ganado ovino, cumple un rol muy importante en la función ruminal, debido a que estas van a mejorar la degradación de fibra, y por lo tanto la digestibilidad de N, FDN y posiblemente un incremento en la producción de

propionato; pero para que estas enzimas puedan ejercer su función correctamente dependerá en gran parte de la calidad y tipo de forraje que se está utilizando, debido a que, si el alimento es alto en energía la digestión de la fibra se verá obstaculizada a causa de una disminución en el pH y el rápido tránsito del alimento a través del rumen. Además, si el tipo de alimento no es el correcto como por ejemplo, el silaje de maíz o alfalfa a causa del proceso de ensilado van a producir la fermentación de ácidos y la proteasa no podrá ejercer su función de una forma correcta. Finalmente otra causa es el uso de fibra dietética ya que debido a algunos de sus componentes como la lignina, serán capaces de inhibir la acción de las enzimas proteolíticas y por consiguiente, los efectos de la suplementación enzimática exógena disminuirán (Vera, Smith, Zobell, Young & Eun, 2012).

Un estudio realizado con la finalidad de demostrar si existe un aumento en la producción de leche en vacas mediante la adición de enzimas y levaduras en un mismo porcentaje en la dieta, la cual estaba basada en 35% heno de alfalfa, 15% silaje de maíz y 50% de concentrado, dio como resultado que, el uso de ambos aditivos administrados en altas dosis van a elevar el contenido de nitrógeno amoniacal, debido al aumento en la degradación de proteína, la cual sucede por efecto de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ya que es la responsable del incremento de bacterias proteolíticas en el rumen, lo que conlleva a tener cambios en la fermentación ruminal, mejorando así el flujo de AA al duodeno, dando como resultado una mejora en la producción de leche en vacas alimentadas con levadura (Kung et al, 1997). De ahí, que el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en forrajes fibrosos sobre la fermentación ruminal ovinos.

CAPITULO II

2. Marco Teórico

2.1 Antecedentes Investigativos

Danisco Animal Nutrition (2014), señala que el uso de probióticos y prebióticos es decir, tanto enzimas como levaduras en la dieta de los animales tiene un efecto favorable en su flora intestinal debido a que provoca un aumento del número de bacterias anaerobias y celulolíticas en el rumen, así como un incremento de su actividad. Las levaduras necesitan azúcares y almidón para su metabolismo, lo captan del medio ruminal evitando que estos sean empleados por microorganismos productores de ácido láctico, reduciendo así los niveles de este ácido en el rumen, estabilizando el pH ruminal y manteniéndolo en niveles adecuados para una fermentación. Como consecuencia se produce un aumento en la degradación de la fibra y en la producción de ácidos grasos volátiles, lo cual se traduce en una mejora de la eficiencia de utilización del alimento.

Un experimento realizado con ovinos desde el nacimiento al destete tuvo como objetivo conocer los beneficios que se pueden obtener con la suplementación de dos tipos de levaduras en el concentrado iniciador de corderos lactantes. Se evaluaron tres tratamientos: 1) control, concentrado iniciador sin levadura; 2) concentrado iniciador + Levadura-1; y 3) concentrado iniciador + Levadura-2. La conversión alimenticia resultó menor en el tratamiento tres a diferencia del tratamiento dos que presentó una mejor conversión alimenticia, lo que indica que los animales consumían menos alimento y ganaban más peso. Esa mejor conversión alimenticia es importante ya que de esa manera se puede reducir el costo por concepto de alimento, aumentando la productividad y presentando una mayor ganancia para el productor, pero para que todo esto sea efectivo se concluyó que es importante tener en cuenta la dosis efectiva de la levadura (Mena et al, 2007).

Existen varios tipos de aditivos, pero el aditivo zootécnico es el principal ya que son utilizados para influir positivamente en la productividad de animales sanos y en diversos grupos funcionales, como los digestivos, los estabilizadores de la flora intestinal, etc. Por un lado hay que señalar que las levaduras necesitan azúcares y almidón para su

metabolismo, lo cual captan del medio ruminal reduciendo así los niveles de ácido láctico en el rumen, contribuyendo a estabilizar el pH ruminal y manteniéndolo en niveles adecuados para una fermentación óptima. Como consecuencia existe un aumento en la degradación de la fibra y en la producción de ácidos grasos volátiles, lo cual se traduce en una mejora de la eficiencia de utilización del alimento. Al estimular el crecimiento de las bacterias ruminales, los aditivos microbianos pueden provocar un aumento del flujo duodenal de proteína microbiana. Además estos cultivos pueden utilizar hidrógeno y reducir la producción de metano, resultando así un ahorro energético. Como segundo aditivo se menciona a las enzimas las cuales pueden producir una liberación de azúcares reductores provocada por la degradación de la fibra de los alimentos mejorando así la digestibilidad de los forrajes, pero para que esta enzima funciones es importante conocer el grado de madurez del forraje debido a que de este depende su efecto. Finalmente es importante indicar que, el efecto de los aditivos microbianos es mejor en las primeras fases de lactación, ya que los animales tienen mayor demanda nutritiva, y reciben raciones con mayor potencial para alterar la fermentación ruminal, otros aspectos fundamentales son la dosis de aditivo y las condiciones de manejo (Carro, Ranilla & Tejido, 2006).

NutriNews (2015), menciona que la inclusión de probióticos en la dieta de los animales se ha demostrado que es de mucha importancia ya que la microflora del rumen se vuelve doblemente útil para el rumiante al ser un activo degradador de los aportes alimentarios y, a la vez, ella aporta elementos nutricionales derivados de su lisis. Además que por su ayuda la digestibilidad de la fibra aumenta considerablemente. En vacas lecheras, las levaduras vivas han demostrado ser eficaces en la mejora del rendimiento, siendo los efectos más consistentes el aumento de la ingesta de materia seca y de la producción de leche.

Según estudios realizados se ha demostrado que las levaduras vivas se caracterizan por su capacidad para usar el oxígeno presente en el rumen, lo cual ayuda en el desarrollo de flora microbiana benéfica en el rumen, todo esto va a permitir: estabilizar el pH ruminal, mejorar la degradación de la fibra, aumento en el consumo de materia seca, aumentar la desaparición de almidones en el rumen lo que da como resultado una disminución en problemas digestivos (diarreas), debido a que disminuyen el crecimiento de patógenos en

el tracto digestivo, por esta razón actualmente las levaduras pueden ser usadas como una alternativa preventiva o para el tratamiento de enfermedades relacionadas con enterobacterias reduciendo así la posibilidad de contaminar los productos finales (carne y leche) (Ventura, 2011).

Las principales ventajas del uso de probióticos en la alimentación bovina son: influencia sobre el metabolismo de ácido láctico ya que las bacterias que digieren la fibra producen el ácido acético, las bacterias que consumen el lactato remueven el ácido láctico por ende el pH se estabiliza y mejora la digestión; aumenta el consumo de alimento y agua mejorando así el rendimiento del animal; además aumenta la actividad celulolíticas de bacterias ruminales y ciertos minerales u oligoelementos pueden funcionar como probióticos en el metabolismo ruminal (García, López & Carcassés, 2012).

Las enzimas son compuestos orgánicos, de origen proteínico, que actúan como catalizadores biológicos de los procesos digestivos y metabólicos. Estos incluyen reacciones de síntesis, digestión y degradación, convirtiendo a las enzimas en el motor que mueve la actividad de todas las células del organismo controlando así, todas las funciones de mantenimiento, crecimiento y reproducción de los animales. Las enzimas se caracterizan por su marcada especificidad debido a que existe una forma de enzima particular para cada tipo de sustrato logrando así, una digestión eficaz y completa, mejorando la absorción de nutrientes mediante el efecto hidrolítico que tienen las enzimas, mejora la biodisponibilidad y la absorción en el tracto digestivo del alimento, resultando en un ahorro de energía que se refleja en una mejor conversión y ganancia de peso (Salvador & Solorio, 2015).

En la actualidad, la mayoría de enzimas se obtienen a partir de hongos, levaduras y bacterias, estas son proteínas de estructura tridimensional que cumplen la función de catalizadores biológicos por naturaleza, es decir, aceleran diversas reacciones químicas en el organismo, es por esto que su importancia en la nutrición animal es alta debido a que ayuda a abaratar costos en el empleo de materias primas para las dietas ya que por el efecto catalizador de las enzimas, existe un mejor aprovechamiento de ese alimento, mejorando su digestibilidad y dando como resultado un incremento en la producción (Rojas, 2014).

Recientemente, las enzimas exógenas se están usando para mejorar la digestibilidad y degradabilidad ruminal de la fibra y del almidón presentes en los alimentos utilizados en la dieta de rumiantes. Este aditivo representa una alternativa para incrementar la productividad y reducir los costos de alimentación, ya que podrían reducir el uso de granos, debido al mayor aporte de energía de los sustratos fibrosos. La actividad amilolítica de los microorganismos ruminales se da principalmente por la acción de enzimas extracelulares, las que han manifestado su máximo potencial para digerir el almidón. Al mismo tiempo, varias investigaciones han demostrado que la digestión ruminal del almidón es incompleta en algunos granos, más para aquellos de tasas de digestión lenta como lo es el sorgo. Las enzimas exógenas, producto de la biotecnología, actúan en intervalos amplios de pH (4 - 9) y temperatura (30 - 90 °C), las cuales podrían actuar sinérgicamente con las bacterias microbiales del rumen e incrementar la degradabilidad ruminal del almidón (Rojo et al, 2007).

Castro & Rodríguez (2005), mencionan que con el fin de reducir el uso de antibióticos en la producción animal, se ha explorado el uso de diversas alternativas entre las que se encuentran probióticos y prebióticos. Los probióticos son microorganismos vivos que al aplicar en la dieta, favorecen la digestión y mantenimiento del equilibrio de la flora microbiana en el intestino. Los prebióticos son aditivos no digeribles de la dieta pero cumplen la función de estimular el crecimiento o la actividad de bacterias benéficas en el colon. Entre los probióticos tenemos las levaduras que ayudan a mejorar los índices productivos de los animales, estimulando de las microvellosidades, efecto anti adhesivo frente a patógenos, estimulación de la inmunidad no específica, inhibición de la acción tóxica y el efecto antagonista frente a microorganismos patógenos. Finalmente, las enzimas, minerales, vitaminas y otros nutrientes o factores de crecimiento que producen las levaduras son de suma importancia ya que inducen respuestas positivas en la producción animal. En conclusión, los probióticos y prebióticos ofrecen la posibilidad de mantener el crecimiento de animales alimentados con dietas sin antibióticos y bajo condiciones de estrés sin ningún inconveniente.

2.2. Categorías Fundamentales o Marco Conceptual

2.2.1. Unidad de Análisis

Sistemas de producción ovina en Ecuador

En el Ecuador según datos recopilados en el año 2011 nos indica qué, el número de cabezas de ganado ovino fué de 742.967 animales, todos estos distribuidos en las provincias del Ecuador, que comparado a datos obtenidos en años anteriores como por ejemplo en el 2009 en el cual el número de cabezas de ganado ovino fue de 819.564 distribuidos en las tres regiones del país, lo que nos demuestra que la actividad ganadera ovina de nuestro país ha ido disminuyendo con el pasar de los años, muchas veces debido a que no refleja una verdadera actividad económica para las personas del campo (Pérez, 2013).

Clasificación de los Sistemas de Producción

Pérez et al, (2011). Menciona qué, un aspecto muy importante para poder clasificar los sistemas de producción ovina es su nivel de intensificación. Según el nivel tecnológico alcanzado, se pueden clasificar como extensivos, semi-intensivos e intensivos. En función de la finalidad productiva, se clasifican como laneros, laneros-carneros y producción de carne o leche; considerando el tamaño del rebaño, la cantidad de insumos (internos y externos) y tecnología utilizada se pueden clasificar en tradicionales, transicionales y empresariales.

El manejo de los ovinos se realiza de manera extensiva en su mayoría, salvo algunas excepciones de sistemas semi-intensivos, con alimentación compuesta por forrajes nativos, suplementos y concentrados en otros casos. La falta de asistencia técnica y la aplicación de tecnología en este tipo de explotaciones se deben a que pertenecen a familias campesinas y pequeños productores, por lo que no tienen acceso a estas herramientas. El sistema donde posiblemente se vea más afectado el bienestar animal es el extensivo (Plazas, 2014).

Los sistemas de producción ovina dependen mucho de los recursos económicos de los productores, por lo que la forma más común de alimentar al ganado ovino es por medio del pastoreo, que aunque suele ser económico puede terminar siendo el más costoso debido a parásitos presentes en el pasto contaminado de heces, los cuales son un motivo de pérdidas económicas, ya que las ovejas ingieren con facilidad los huevos de parásitos ocasionando alteraciones en la función ruminal y por ende provocando que los animales en crecimiento no logren ganar peso en forma normal y a su vez que por su condición corporal sean susceptibles a las enfermedades. Además, muchas veces el pasto que consumen no va cumplir con todos los requerimientos nutricionales del ganado (Lema & Caguango, 2012).

Limitaciones en la nutrición ovina en Ecuador

En el Ecuador debido a la falta de dinero o desconocimiento por parte de los propietarios de ovinos, la pradera es la fuente más económica de alimentación, la cual muchas de las veces no suele ser la indicada ya que, estos pastos no suelen ser lo suficientemente buenos y por lo tanto, los microorganismos existentes en el rumen de los ovinos no van a cumplir con sus funciones normales y por ende, serán incapaces de romper el componente de celulosa de los forrajes en la materia vegetal, lo cual impedirá el acceso a la energía contenida en los vegetales fibrosos. Pero existe una solución que consiste en la buena elección de alimentos para estos rumiantes, de tal manera se mantendrá una población de microorganismos sana y productiva, que asegure que las ovejas recibirán suficiente energía y proteína en sus distintos estados fisiológicos (Romero, 2013). Entre algunos de los alimentos adecuados en la nutrición de ovinos podemos señalar: el heno de maíz, paja de cebada, paja de trigo, heno de alfalfa, etc. Finalmente, para potencializar la digestibilidad de estos alimentos se puede utilizar aditivos como levaduras, enzimas exógenas o Bacillus los cuales permitirán que la fibra de estos alimentos sea aprovechada como se indica a continuación.

La aplicación de enzimas como aditivos en los alimentos van a incrementar la digestibilidad de fibra debido a su actividad celulolítica permitiendo que exista una mejor producción lechera, pero se pudo descubrir que, mientras la dosis de inclusión sea mayor, menores serán sus resultados en la digestibilidad de fibra y los niveles de azúcar reducirán,

pero a menor dosis de enzimas su efectividad será mejor, todo esto en dependencia de la calidad del alimento administrado (González, 2004).

Las levaduras cumplen la función de estimular el crecimiento de poblaciones de bacterias consumidoras de lactato lo que reduce la presencia de ácido láctico, evitando así las caídas muy pronunciadas de pH ruminal, lo que disminuye la incidencia de acidosis y por lo tanto los problemas digestivos también disminuyen, permitiendo así una mayor digestibilidad de la fibra de los alimentos administrados en la dieta y un aumento en la producción de los rumiantes (Alvarado, 2011).

2.2.2. Variable Independiente

Uso de Enzimas y Levaduras en la alimentación ovina

Saccharomyces cerevisiae.- Existen más de 1000 cepas de las cuales se enumeran en la American Type Culture Collection Catalogue, y aunque su actividad probiótica de estas cepas no han sido investigadas a profundidad, se puede decir que, al suplementar esta levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la dieta de los animales, va a existir una mejor digestibilidad de materia seca, proteínas y la hemicelulosa, también existirá una mejora en la digestión de materia orgánica ruminal y digestibilidad ruminal verdadera de materia orgánica en la dieta (El-Waziry & Ibrahim, 2007).

Un experimento realizado con el fin de reemplazar promotores de crecimiento en ovinos, se probó la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) que debido a su alto valor biológico, un elevado contenido de lisina y abundante en vitaminas del complejo B, podrían mejorar la ganancia de peso. Además de poseer la característica de mejorar el ambiente del rumen ya que favorecen a la anaerobiosis y estimulan el crecimiento de bacterias celulolíticas, o por reducir la concentración de amonio e incrementar la síntesis de proteína microbiana. Se aplicó las siguientes dosis: T1 (sin levadura); T2 (5 g/día de levadura) y T3 (15 g/día de levadura). Es así que se pudo determinar que la suplementación de levadura en la dieta puede mejorar la ganancia de peso ya sea debido a los nutrientes que aporta la levadura (proteínas, vitaminas, minerales, etc.) o a las enzimas producidas por la misma (proteasas, peptidasas, hidrolasas); por el aumento de pH ruminal ya que permite el crecimiento de bacterias celulolíticas que favorecen la degradabilidad de la fibra de los forrajes, y también

por el incremento de la concentración de ácidos grasos volátiles ya que contribuyen con el aporte energético para los animales (Cifuentes & Gonzáles, 2013).

Otra investigación realizada en 24 borregos, para evaluar el efecto de la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae* a la dieta, dio como resultado que en los corderos alimentados con 3 y 6 gramos al día de levadura tuvieron una mayor ganancia de peso y conversión alimenticia. Todo esto debido a que, la inclusión de esta levadura en la dieta ha demostrado que altera las proporciones molares de los ácidos grasos volátiles del rumen, aumenta la digestibilidad de los nutrientes, aumenta la concentración de amoniaco ruminal, además que puede cambiar las poblaciones bacterianas y por ende aumentar el número de las bacterias ruminales alterando así el flujo de N duodenal. También se logró demostrar que la adición de *Saccharomyces cerevisiae* a la ración de alimento, aumenta la energía neta de la ración, lo que condujo al aumento de la producción (Haddad & Goussous, 2005).

Enzimas.- cumplen la función de mejorar la digestibilidad y la ingestión de materia seca debido a qué, las enzimas fibrolíticas exógenas además de actuar como agentes degradantes de la fibra, promueven una mayor colonización del alimento e incrementan el número de microorganismos, tanto fibrolíticos como no fibrolíticos en el líquido ruminal; lo cual incrementa la degradación en la fracción del alimento digerida más lentamente por los microorganismos ruminales (Moreno et al, 2007).

Los microorganismos del rumen en un ambiente natural producen enzimas que hidrolizan la fibra; sin embargo, la estructura de la pared celular compleja y tiempo de permanencia limitado del forraje en el rumen no permiten una buena digestión de la fibra por los rumiantes, por lo que la suplementación de la dieta con enzimas exógenas van a permitir que esta digestibilidad aumente, pero para la adición de enzimas en la dieta de animales es muy importante tener en cuenta que los aditivos de enzimas van a variar en su eficacia dependiendo de factores tales como la actividad de la enzima, el tipo y dosis de enzima, tipo de dieta, método de aplicación de la enzima, y el estado fisiológico de los animales. En este estudio se utilizó ensilaje de maíz, con dosis de 8, 2, 4 y 2 ug/g de MS, y los aditivos enzimáticos aplicados fueron endoglucanasas, exoglucanasa y xilanasas. Los cuales provocaron un aumento en la FDN Y FDA, y a pesar de que se produjo un incremento en la degradación de la fibra con la dosis de 8 y 2 ug/g de MS, se recomendó

realizar más estudios de estos aditivos en dietas basadas en silaje de maíz (Phakachoed et al, 2013).

Adicionalmente, se realizó un ensayo en el cual se evaluaron 5 productos enzimáticos, con el objetivo de determinar la eficacia para mejorar la degradación ruminal del heno de alfalfa. Dos de los productos enzimáticos (P1 y P2) fueron proteasas, mientras que los otros tres productos (F1, F2 y F3) contenían endoglucanasas y xilanasas. La producción de gas (GP), la degradabilidad de la materia seca y la fibra se midieron después de terminar la incubación a las 12, 18 y 24 horas. Todo esto dio como resultado que dos de los productos que contenían endoglucanasas y xilanasas más un producto de proteasa aumentaron la degradación de producción de gas y materia seca a todos los tiempos de incubación, y además cambios beneficiosos en la composición ácidos grasos volátiles. Además, un cuarto producto que contiene principalmente actividades fibrolíticas dio como resultado un incremento en la degradabilidad de materia seca y fibra a las 24 h de incubación. Por lo tanto, se puede concluir que el tiempo de incubación tiene gran importancia debido a qué, periodos más cortos pueden no proporcionar suficiente tiempo para que las enzimas fibrolíticas interactúen completamente con el sustrato, por esta razón el estudio indica que 24 horas de incubación puede ser las indicadas para lograr evaluar la eficacia de los productos enzimáticos en la mejora de la producción de gas y en la degradación ruminal de materia seca y fibra (Eun et al, 2007).

Este experimento fue realizado con seis corderos con la finalidad de estudiar los efectos de las enzimas fibrolíticas exógenas sobre la digestibilidad y la fermentación ruminal con diferentes relaciones forraje y concentrado. Las enzimas fibrolíticas exógenas cumplen la función de aumentar la velocidad de digestión ruminal de la fracción de fibra detergente neutra potencialmente digestible, la desaparición de la fibra detergente neutra ruminal incrementa cuando se suplementa con enzimas fibrolíticas las cuales tienen actividad xilanolítica en dietas concentradas. Lo que dio como resultado que la mezcla de enzimas fibrolíticas, mejoraron en su gran mayoría la degradación en el de materia seca o fibra detergente neutra, principalmente aumentando la tasa de degradación o la fracción potencialmente degradable de cada uno, provocando así un aumento en el rendimiento del animal (Pinos et al, 2008).

2.2.3. Variable Dependiente

Fermentación ruminal

Las bacterias ruminales producen enzimas en el rumen (amilasas, proteasas y celulasas), las cuales son mayoritariamente anaerobias, cuya función es degradar el alimento para obtener energía y los productos originados de la hidrólisis enzimática. Además, cabe mencionar que existen dos aspectos importantes en el rumen para la fermentación, son las condiciones indispensables para una eficiente actividad celulolítica y las necesidades para una síntesis óptima de proteína microbiana entre estas tenemos: temperatura y pH. La microflora ruminal excreta ácidos grasos volátiles como el acético, propiónico, butírico y láctico los cuales son usados para producir metano y proteína, en estudios realizados en dietas con alto contenido de forraje, el patrón de AGV en la fermentación ruminal fluctúa entre 65:25:10 a 70:20:10 (acetato: propionato: butirato, en porcentaje molar), por otra parte cuando la cantidad de concentrado en la ración se eleva por encima de 70%, las proporciones de AGV varían entre 45:40:15 a 50:40:10. Dietas compuestas únicamente de forrajes dan una mezcla en proporción molar de 65-74% acético, 15- 20% propiónico y 8-16% butírico (Thomas & Rook, 1977); sin embargo, forrajes de alta calidad y una molienda fina pueden causar reducción en la proporción de acético e incremento en propiónico, butírico o ambos. La producción de ácidos grasos volátiles (AGV) se relaciona con la producción de metano en el rumen por tal motivo debe mantenerse un equilibrio en todo momento ya que, el metano y el propionato sirven como captadores del exceso de equivalentes reductores producidos a nivel ruminal. Finalmente se debe recalcar que el butirato se absorbe a mayor velocidad que el propionato, siendo el acetato el de más lento transporte; durante el proceso de absorción de los AGV a través de la pared ruminal, el acetato no sufre cambios aparentes; parte del propionato se transforma a lactato y el butirato se convierte casi totalmente en cuerpos cetónicos. El incremento de propionato en el rumen da como resultado una mayor eficiencia energética, reducción en la pérdida calórica, y una disminución en el empleo de aminoácidos para gluconeogénesis e incremento en la síntesis de proteína corporal lo cual es un gran beneficio para el animal (Shimada, 1991).

Producción de gas in vitro

La producción de gas es una medida indirecta de la degradación de los sustratos, particularmente de los carbohidratos. Esta medida es un buen estimador para la producción de ácidos grasos de cadena corta. Es de aquí que la medición de la producción de gas in vitro puede utilizarse para evaluar la tasa y extensión de la digestión de los ingredientes de la dieta y además sirve para predecir los valores de energía metabolizable de los ingredientes o de la dieta (Lara et al, 2009).

Microorganismos ruminales

El número de microorganismos varía entre 10^{10} , 10^6 y 10^4 por gramo de líquido ruminal, constituido por bacterias, protozoarios y hongos ruminales. Para permitir que organismos de crecimiento lento (hongos y protozoarios) puedan reproducirse se necesita la permanencia del alimento dentro del rumen de 48 a 72 h y sostener así la concentración de las poblaciones microbianas (McAllister, Bae, Jones & Cheng, 1994).

CAPÍTULO III

3.1. Hipótesis

La adición de Enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas mejora las funciones del rumen y aumenta la digestión de la fibra y con ello reduce la producción de gases de efecto invernadero en ovinos.

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en forrajes fibrosos sobre la fermentación ruminal ovinos.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la digestibilidad de los nutrientes y cinética de degradación ruminal.
- Determinar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de AGVs, nitrógeno amoniacal y pH ruminal.
- Determinar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de gas y metano *in vitro*

CAPITULO IV

4. Materiales y métodos

4.1. Ubicación del proyecto

El proyecto de investigación se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, en la granja Experimental Docente Querochaca, sector el Tambo, Cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua. A una altitud de 2900 msnm.

4.2. Animales, alojamiento, alimentación y tratamientos

Se realizaron dos experimentos, en el primero se utilizó 4 animales machos mestizos de 6 meses de edad aproximadamente con un peso vivo promedio de 30kg y en el segundo 4 ovinos machos mestizos provistos de una fistula con una cánula en el rumen (2 pulgadas de diámetro interno y 5 pulgadas de diámetro externo) (Bar Diamond, Parma, Idaho, USA). Tanto los animales fistulados como los no fistulados fueron alojados en jaulas metabólicas individuales distribuidos de manera aleatoria según el diseño empleado. Los animales se alimentaron con una ración integral cubriendo los requerimientos nutricionales acorde al AFRC 1993. A esa dieta se le incluyó enzimas fibrolíticas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* a las siguientes dosis o tratamientos: T1: dieta testigo (sin enzimas o levaduras), T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras). Las dietas experimentales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes y dietas experimentales con y sin enzimas o levaduras

	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Paja de cebada	40.482	40.401	40.444	40.363
Afrecho	0.000	0.000	0.000	0.000
Soya	22.308	22.264	22.287	22.243
Alfalfa	11.197	11.175	11.187	11.164
Maíz	13.781	13.754	13.768	13.741
Melaza	8.613	8.596	8.605	8.588
Aceite de palma	2.153	2.149	2.151	2.147
Sal	0.517	0.516	0.516	0.515
V+M	0.947	0.946	0.947	0.945
Enzima	0.000	0.200	0.000	0.200
Levadura	0.000	0.000	0.095	0.094
Total	100	100	100	100

4.3. Colecta de material vegetal

El sustrato fibroso que componía la dieta integral fue paja de cebada, mismo que se lo adquirió en la Parroquia Pasa, Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua. Esta fue recolectada posterior a la cosecha y trillada del grano, fue deshidratada al sol y después fue molida en un molino de martillo con criba de 4 mm.

4.4. Enzimas y levaduras utilizadas

La levadura utilizada es la *Saccharomyces cerevisiae*, con una concentración de 5.5×10^9 UFC/g, de marca comercial Alltech® (YEA-SACC®, Alltech INC, Nicholasville, KY, U.S.A).

Las enzimas exógenas aplicadas en la dieta fueron xilanasa y celulasa, con una relación de 1:1.

El compuesto enzimático fibrolítico exógeno (Fibrozyme®, Alltech INC, Nicholasville, KY, U.S.A) es una combinación de extracto de la fermentación de *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* y fermentos solubles, protegidos por técnicas de glucosilación. Su actividad xilanásica es de 100 UI/g (una unidad xilanásica es la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μ mol de xilosa).

4.5. Variables de Respuesta

4.5.1. Consumo voluntario de nutrientes

Se estimó mediante el método directo en jaulas metabólicas con el fin de medir individualmente el consumo de alimento voluntario. La cual consistió en la diferencia entre los nutrientes ingeridos y los nutrientes rechazados en 24 horas. Este procedimiento se lo realizó durante cinco días cada periodo experimental. Conjuntamente se tomaron muestras del alimento ofrecido para determinar la MS y el contenido de nutrientes

4.5.2. Digestibilidad aparente de los nutrientes (MS, MO, PC, FDN, FDA)

Se realizó mediante el método directo el cual consistió en utilizar jaulas metabólicas con recolección total de heces donde se utilizó la siguiente fórmula: nutriente ingerido – nutriente excretado cada 24 horas.

4.5.3. Degradación ruminal

Se evaluó mediante la técnica de la bolsa de nylon en el rumen descrita por Orskov et al. (1980). En cada oveja (n=4), dos bolsas que contendrá 5 gramos MS de cada tratamiento serán incubadas por 0, 6, 12, 24, 48, 72 y 96h. Al finalizar las 72h las bolsas fueron removidas y lavadas con agua corriente y secadas a 60 °C. Las bolsas empleadas para medir la pérdida por lavado (0 h), no se incubaron en el rumen y solo se lavaron con agua corriente. Los residuos se almacenaron en bolsas de polietileno a -4 °C hasta su análisis en el laboratorio. La desaparición de los nutrientes fue calculada como una proporción del material incubado y residual.

4.5.4. Producción de gas y metano *in vitro*

Para esta prueba se obtuvo contenido del rumen (líquido y fracciones sólidas) por separado de cada individuo (cuatro ovinos canulados). Se recolectó el contenido ruminal antes de la alimentación y se lo mantuvo a 39 °C en un recipiente de plástico sellado e inmediatamente se lo transportó al laboratorio para su procesamiento dentro de 1h desde la recolección. Medio rico en nitrógeno, se preparó según Menke y Steingass (1988). Al final de la incubación, la digestibilidad *in vitro* (MS fermentable y PC) se estimó mediante el filtrado de los residuos y de corregir con la MS y PC residual en los blanco. La producción de gas se midió según la metodología descrita por Theodorou et al. (1994). De cada tratamiento 0.5 g de MS se colocó en botellas de vidrio (100 ml de capacidad nominal). Después, se añadió 60 ml de inóculo ruminal (70:30 medio/inóculo ruminal) bajo un flujo de CO₂ constante. Las botellas se las sellaron e incubaron a 39-40 ° C. La presión de gas y el volumen se midieron manualmente a las 3, 6, 9, 18, 24, 36, 48, 60, 72 y 96h con un transductor de presión DELTA OHM modelo DO 9704 (Delta OHM Srl, Padova, Italia) y jeringas plásticas y la producción de metano se midió usando un desertor Gas Pro (Gas Analyzer CROWCON Model Tetra3, Abingdon, UK). Para cada tratamiento se utilizó 6 botellas (repeticiones) en cada tiempo y tres botellas adicionales se utilizaron como blanco. Se estimó la producción total de gas y metano por 0,5 g MS fermentable. Así como, la digestibilidad aparente de MS y PC.

4.5.5. Ácidos grasos volátiles AGV, pH ruminal, nitrógeno amoniacal

Durante cada período experimental, se determinó el nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y el AGVs en la mañana 09:00. Se recogió muestras de líquido ruminal una vez por periodo de muestreo (día 5) con ayuda de una sonda esofágica #18. Un total de 50 ml de líquido del rumen se obtuvo de cada animal. Las muestras se filtraron usando una gasa y una sub muestra de 6 ml, se conservó con 6 ml HCL (v/v) al 0.5% y se mantuvo a 4 °C hasta el análisis de N-NH₃. Además, otra sub muestra de 4 ml se mezcló con 1 ml de solución de ácido metafosfórico al 25% y se almacenó a 4 °C hasta el análisis de AGVs (Barros et al., 2015). El pH ruminal se determinó se midió mediante la utilización de un pH-metro.

4.6. Análisis químico

La Materia Seca (#7.007), Nitrógeno (#2.057), y ceniza (#7.009) se determinaron según la metodología descrita por AOAC (1990). La FDN y la FDA se determinaron mediante el método 13 y 12 respectivamente del analizador Ankom Technology 2000. Los AGVs se determinaron de acuerdo a la metodología descrita por Ryan (1980) usando un cromatógrafo de gases. El Nitrógeno Amoniacal (N-NH₃) se determinó mediante una técnica colorimétrica usando un espectrofotómetro según la metodología descrita por Barros-Rodríguez et al. (2015). La proteína cruda se la determino mediante análisis elemental de Nitrógeno (N) usando un Leco corporation.

4.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño de cuadrado latino 4x4, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Cada periodo comprendió de 14 días de adaptación y 4 días de muestreo. Todas las variables se analizaron según el diseño planteado utilizando el PROC GLM del SAS (2009). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5%.

CAPITULO V

5. Resultados y Discusión

5.1. Resultados

5.1.1. Consumo voluntario

En la tabla 2, se observa el consumo voluntario de nutrientes el cual no mostró diferencias ($P>0.05$) entre los tratamientos. El consumo voluntario por $PV^{0.75}$ de nutrientes presentaron un comportamiento semejante $P= (0.0486$ y $0.0491)$ entre los tratamientos. Mientras que el consumo de nutrientes digestibles de MS, MO, FDN y FDA mostraron diferencias entre los tratamientos, obteniendo el mayor ($P<0.05$) consumo los T1, T2 y T4 respectivamente.

Tabla 2: Consumo voluntario y digestibilidad de los nutrientes (g/Kg MS excepto donde se muestra lo contrario) de dietas con enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae*.

	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
Consumo						
MS	1891.0a	1720.7a	1343.2a	1889.6a	154.4	0.0860
MO	1824.8a	1660.4a	1296.2a	1823.4a	149.0	0.0860
FDN	912.6a	830.4a	648.2a	911.9a	74.53	0.0860
FDA	538.7a	490.2a	382.7a	538.3a	44.0	0.0861
Consumo PV^{0.75}						
MS	98.15a	89.83a	69.45a	97.90 a	7.181	0.0486
MO	94.72a	86.67a	67.05a	94.50 a	6.926	0.0486
FDN	47.37a	43.35a	33.50a	47.25 a	3.470	0.0486
FDA	27.95a	25.60.a	19.80a	27.87 a	2.042	0.0491
Consumo de nutrientes digestibles						
MS	985.7a	878.9ab	532.5b	850.9ab	82.9	0.0127
MO	977.5a	869.7ab	536.1b	852.6ab	81.3	0.0134
FDN	336.70a	291.3ab	132.9b	253.2ab	43.2	0.0327
FDA	192.5a	163.1ab	71.4b	139.6ab	28.3	0.0569
Digestibilidad						
MS	51.7a	51.0a	39.6b	45.3ab	2.56	0.0199
MO	53.2a	52.3a	41.4b	47.1ab	2.52	0.0229
FDN	36.2a	34.9a	20.8a	27.9a	4.43	0.1035
FDA	35.0a	33.0a	19.3a	26.0a	5.36	0.2029

a,b Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

En lo que respecta a digestibilidad de FDN y FDA, no se observó diferencias $P= (0.1035$ y $0.2029)$ entre tratamientos. Con respecto a la MS y MO presentó diferencias para $P= (0.0001)$ respectivamente en T1, T2 y T4 con respecto a los tratamientos (Tabla 2).

5.1.2. Producción de gas in vitro

En la Tabla 3 y 4 se observa la producción de gas, el volumen acumulado de gas (Vfi) y tiempo de colonización (b1) muestra diferencia ($P<0.05$) entre tratamientos, obteniendo la menor producción T1, T2 y T4. La tasa constante de producción de gas (c1) se observa los mejores resultados para T1, T3 y T4, presentando diferencia $P= (0.0001)$ con respecto a T2. Mientras que para todos los tiempos (3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60 y 72) de producción de gas presentan diferencia ($P<0.05$) entre tratamientos siendo el de menor valor para T1, T2 y T4 respectivamente.

Tabla 3: Parámetros *in vitro* de Producción de Gas (ml/0.5g MSF) como efecto de la adición de enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de los ovinos.

	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
Gas ml/0.5gMSF						
Vfi	951.8b	823.7b	1314.0a	981.4ab	85.5	0.0044
B	28.3b	31.2ab	38.6a	31.1ab	2.1	0.0152
C	1.16b	1.27a	1.08b	1.15b	0.02	0.0001
Horas de incubación						
3	76.3a	46.5b	98.0a	76.9a	7.06	0.0006
6	139.0a	89.7b	152.1a	136.0a	11.0	0.0038
9	192.0ab	139.7b	216.7a	187.9ab	14.2	0.0090
12	249.1ab	188.7b	281.3a	236.8ab	17.7	0.0125
18	351.4ab	269.2b	399.5a	334.8ab	24.6	0.0113
24	430.0ab	343.9b	499.4a	417.3ab	30.4	0.0161
36	535.3ab	442.7b	627.1a	518.8ab	39.5	0.0298
48	620.3ab	527.1b	734.2a	597.9ab	47.2	0.0410
60	677.6ab	579.3b	814.3a	655.4ab	52.5	0.0353
72	717.3ab	617.8b	878.5a	700.4ab	56.3	0.0277
96	754.5ab	657.5b	949.9a	753.2ab	60.5	0.0200

a, b Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

Tabla 4: Parámetros *in vitro* de Producción de Gas (ml/0.5g MOF) como efecto de la adición de enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de los ovinos.

	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
Gas ml/0.5g MOF						
Vfi	788.4b	803.1b	1257.1a	945.9b	53.4	<.0001
B	28.0b	31.2ab	38.6a	31.1ab	2.10	0.0134
C	1.18ab	1.27 ^a	1.08c	1.15bc	0.02	0.0004
Horas de incubación						
3	60.2bc	45.4c	93.8a	74.2ab	5.0	<.0001
6	113.6b	87.5c	145.5a	131.6ab	6.1	<.0001
9	157.7bc	136.2c	207.3a	181.1ab	7.0	<.0001
12	206.2bc	184.1c	269.1a	228.3b	7.9	<.0001
18	292.4bc	262.5c	382.1a	322.7b	9.1	<.0001
24	358.8bc	335.4c	477.6a	402.2b	11.6	<.0001
36	447.3b	431.7b	599.8a	500.1b	17.7	<.0001
48	518.5b	514.0b	702.3a	576.3b	22.9	<.0001
60	566.6b	564.9b	778.9a	631.8b	26.2	<.0001
72	599.7b	602.4b	840.3a	675.2b	28.6	<.0001
96	631.2b	641.2b	908.6a	726.0b	32.4	<.0001

a, b Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

5.1.3. Cinética de Producción de Metano

En la Tabla 5, se observó la producción de metano, el volumen acumulado de metano (Vfi) y tiempo de colonización (b) mostraron diferencia ($P<0.05$) entre tratamientos, obteniendo la menor producción para T1, T2 y T4. Para la tasa constante de producción de metano (c) se observa los mejores resultados para T3 y T4, presentando diferencia $P=<0.0001$) entre tratamientos con respecto T1 y T2.

Tabla 5: Cinética de Producción de metano (ml/0.5g MS fermentable) como efecto de la adición de enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de los animales.

	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
Metano ml/0.5gMSF						
Vfi	665.53ab	530.38b	778.13a	713.73a	38.54	0.0016
B	14.637c	50.877ab	64.700a	35.208bc	7.0619	0.0005
C	2.4955a	1.7243b	0.8436d	1.2713c	0.0696	<.0001

a, b, c Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

5.1.4. Degradación Ruminal

Los resultados obtenidos en la degradación ruminal *in situ* de la MS (Tabla 6) muestran mayor degradación en la fracción soluble (A) en T2, T3 y T4 ($P<0.05$), mientras que la fracción insoluble pero potencialmente degradable (B) y la tasa de degradación en porcentaje por hora (C) no mostraron diferencias entre los tratamientos ($P<0.05$). Con respecto a los tiempos (6, 12, 24, 48, 72 y 96) de degradación no se observó diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos.

Tabla 6: Parámetros de degradación ruminal de Materia seca en dietas que contienen enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae*.

Dieta	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
Degradación MS						
A	33.9b	39.2ab	38.7ab	43.5a	1.54	0.0074
B	36.9a	30.7a	34.6a	30.3a	1.83	0.0736
C	0.07a	0.07a	0.04a	0.05a	0.01	0.0004
Horas						
0	32.9b	38.8ab	37.8ab	43.8a	1.44	0.0017
6	48.7a	49.5a	48.2a	50.7a	2.02	0.8441
12	57.4a	56.6a	52.07a	55.9a	1.81	0.2172
24	59.6a	63.8a	59.6a	66.4a	3.63	0.4903
48	71.8a	65.5a	66.5a	66.9a	2.36	0.2835
72	71.1a	68.02a	71.6a	69.9a	1.55	0.3993
96	70.7a	73.1a	72.1a	71.4a	1.27	0.6052

a, b, c Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

5.1.5. pH Ruminal, Amoniac y Ácidos grasos volátiles

El pH ruminal no mostró diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos (Tabla 7). El nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$) presenta diferencias entre tratamientos, obteniendo mayor producción ($P=0.0001$) el tratamiento con enzimas T2, con respecto a los demás tratamientos. La producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) como el Acético (A), Butírico, Isobutírico, Isovalérico y Valérico no mostraron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$) (Tabla7).

Tabla 7: pH Ruminal, Amoniac y Ácidos grasos volátiles en ovinos consumiendo dietas que contienen enzimas exógenas y *Saccharomyces cerevisiae*.

	Tratamientos				ESM	Valor P
	T1	T2	T3	T4		
pH	7.36a	7.60a	7.35a	7.66a	0.1947	0.5900
N-NH₃ (mg/dl)	23.52b	27.89a	24.12b	24.78b	0.612	0.0001
AGVs						
Acético	50.12a	48.41a	49.78a	51.32a	1.321	0.0745
Propiónico	34.7a	36.2a	35.87a	34.24a	2.43	0.0639
Butírico	10.32a	10.87a	10.1a	10.0a	0.73	0.2836
Isobutírico	1.41a	1.4a	1.32a	1.28a	0.074	0.5219
Isovalérico	2.31a	2.02a	1.95a	2.04a	0.125	0.2671
Valérico	1.14a	1.1a	0.98a	1.12a	0.0412	0.361

a, b, c Medias con la misma letra en una fila no difieren $P>0.05$. T1: dieta testigo, T2: dieta con enzimas (2 mg/kg), T3: dieta con levaduras (1,5 mg/kg) y T4: dieta con enzimas y levaduras (2 mg/kg enzimas + 1,5 mg/kg levaduras), EEM: error estándar de la media.

5.2. Discusión

5.2.1. Consumo

Los resultados obtenidos en el consumo voluntario de nutrientes (Tabla 2) se dieron posiblemente debido, a que al añadir enzimas exógenas tales como: xilanasas, beta glucanasas y celulasas a la dieta, se complementó la actividad de las enzimas endógenas permitiendo una mejor digestibilidad de la fibra (Phakachoed et al, 2013), estas enzimas hidrolíticas participan en el rompimiento de enlaces glicosídicos β -1,4 presentes en los polisacáridos celulosa y hemicelulosa permitiendo desarrollar un enorme potencial para convertir la lignocelulosa en glucosa y azúcares solubles (Ponce y Pérez, 2002). Además, gracias a este aditivo, la disminución de viscosidad digestiva aumenta y su acción sinérgica sobre los substratos alimenticios más complejos mejoran y por ende la liberación de nutrientes esenciales (almidones, proteínas) de las paredes celulares incrementa (Lata, 2011), dando como resultado una mejor digestión del alimento debido a la reducción de

los efectos negativos de los factores anti nutricionales susceptibles a la acción enzimática, lo que genera una mayor ganancia de peso (Rojas, 2014); del mismo modo, permitió aprovechar una mayor cantidad de energía de la fracción de fibra (Rojo et al, 2007). Con respecto a los resultados obtenidos en el T3 se dio posiblemente debido a la influencia del pH ya que al contrario de las enzimas, el añadir levaduras a la dieta incrementa el pH a nivel ruminal, produciendo así un crecimiento limitado de la levadura, siendo incapaz de mantener una producción productiva dentro del ecosistema ruminal disminuyendo o retardando la digestibilidad del alimento (Anon, 2007).

5.2.2. Producción de gas y metano *in vitro*

Los resultados obtenidos en la Tabla 3, 4 y 5, se dieron posiblemente debido a la calidad de la dieta ya que, se produjo una alteración en el pH ruminal, lo que favoreció al uso del aditivo tipo enzimas, permitiendo que estas se activen y provoquen un aumento de bacterias anaerobias y celulolíticas, creando un ambiente óptimo e incrementando su actividad (Aguiar & Rojas, 2014), produciendo así una adhesión de bacterias celulolíticas al alimento, favoreciendo el crecimiento de estas y finalmente la hidrólisis enzimática del alimento, permitiendo un aumento de la síntesis microbiana (Stefaňuk, 2014); produciendo un aumento en la degradación ruminal de la fibra y por ende un incremento en la producción de ácido propiónico y una disminución en la producción de metano (Aguiar & Rojas, 2014). Con respecto a los tratamientos con levaduras, los resultados concuerdan con lo demostrado por (Andreasen y Stier 1953), los cuales indican que el crecimiento limitado de las levaduras se debe al pH (tabla 7) ya que, estas actúan en un pH (4,5 - 6), lo que no va a permitir mantener una población productiva de microorganismos ruminales generando así una disminución en la degradación y por consiguiente un aumento en la producción de gas. Finalmente, se debe destacar que cuando se añaden enzimas y levaduras a la dieta, estas aumentan el pH, produciendo un efecto negativo en las levaduras ya que su tiempo de vida y funciones se ven afectadas, lo que es aprovechado por las enzimas debido a que se encuentran en un ambiente adecuado para cumplir con sus funciones; además la producción de gas se ve alterada ya que las levaduras disminuyen el ácido acético a niveles del propiónico pero las enzimas incrementan el ácido propiónico dando como efecto una menor producción de gas (Kung et al, 1997).

5.2.3. Degradación

Los resultados obtenidos en la degradación ruminal *in situ* (Tabla 6) están influenciados por el tipo de aditivo agregado a la dieta ya que, estos mejorarán la cantidad de microorganismos ruminales y sumado el tamaño del alimento debido a que, a menor tamaño hay mayor consumo de materia seca dando como resultado un aumento en la tasa de pasaje del alimento permitiendo así un mayor aporte energético (Depetris, 2014). Lo que demuestra que los aditivos enzimáticos poseen mayor capacidad de degradar las paredes celulares de los vegetales (celulosa, hemicelulosa), además poseen una actividad enzimática tipo amilasa, proteasa y pectinasa, los cuales son capaces de producir una liberación de azúcares reductores (Carro, Ranilla & Tejido, 2006) como la glucosa la cual es oxidada para obtener energía (Nelson, 2007). Mientras que, en lo referente al efecto de levaduras en la degradación de carbohidratos se puede mencionar que aunque su actividad sea limitada, poseen una característica importante que colabora con sus funciones y es la invertasa, una enzima derivada de la levadura (Martínez & Morales, 2007) la cual cumple la función de hidrolizar la sacarosa en sus dos monómeros constituyentes: glucosa y fructosa, usados como fuente energética (Gallegos, 2014).

5.2.4. pH Ruminal, Amoníaco y Ácidos grasos volátiles

El pH ruminal se mantuvo neutro-alcalino (Tabla 7) debido al tipo de dieta ya que contenía altas cantidades de carbohidratos lo que dio como resultado un pH estable, el cual permitió mantener el metabolismo de los microorganismos ruminales en un rango óptimo para su crecimiento y así poder digerir la celulosa del alimento (Santini, 2014). Esto se complementó con la adición de enzimas ya que estas actúan en un pH alcalino, a diferencia de las levaduras que funcionan mejor en un pH inferior a 6, el cual disminuiría la actividad de las bacterias celulolíticas dando como resultado un ambiente desfavorable para la degradabilidad de la fibra (Arias et al, 2013).

El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se debió posiblemente al tipo de dieta y a su cantidad de proteína ya que, la concentración óptima de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en el rumen, es aquella que resulta de la tasa de fermentación; la concentración de amoníaco requerida para la máxima síntesis de proteína de origen microbiano, es de 5 a 6 mg/dl en rumen; ésta es la cantidad mínima de amoníaco necesario para soportar el crecimiento microbiano

máximo, todo esto estimulará el crecimiento de las bacterias celulolíticas (Arcos, Castrejón, Mendoza & Pérez, 2000). Con respecto al uso de aditivos en la dieta, se puede indicar que el contenido de nitrógeno amoniacal a nivel ruminal no se afecta por la adición de levadura; por lo que, se sugiere que el aporte de nitrógeno por los microorganismos ruminales no se incrementa cuando se utiliza levadura en la alimentación animal, pero el uso de enzimas mejora la digestión de las proteínas, aumenta la solubilidad dentro del rumen incrementando así, la liberación de amoníaco; por lo tanto, la síntesis de proteína microbiana incrementa (Ricci, 2014).

En cuanto a la producción de AGVs, esto se dio en dependencia a la dieta suministrada debido a que, el patrón de fermentación se puede modificar por el alimento y los AGVs producidos dependerán del tipo de microorganismo presente en el rumen el cual se desarrollara en dependencia al pH. El AGV que siempre se produce en mayor cantidad es el acetato, este es el producto típico de rumiantes consumiendo forraje y aunque el propionato incremente no superará los niveles del acetato. Debido a que la flora celulolítica tiene condiciones óptimas con dietas ricas en fibra donde el pH ruminal se encuentra entre 6.5 y 7, su presencia en el rumen induce el crecimiento de las poblaciones de bacterias celulolíticas, hemicelulolíticas y metanogénicas (Van Lier & Regueiro, 2008). Es así que, el ácido acético se oxida en los diferentes tejidos para generar ATP y también funciona como la principal fuente acetil-CoA para la síntesis de lípidos, el propionato sirve principalmente como sustrato gluconeogénico el cual es de suma importancia para el rumiante debido a que en el intestino delgado casi no se absorbe glucosa y finalmente, el ácido butírico absorbido en forma de ácido β -hidroxibutírico, es oxidado en muchos tejidos para la producción de energía (Nava & Díaz, 2001).

CAPÍTULO VI

6. Conclusión, Bibliografía y Anexos

6.1. Conclusiones

- Bajo las condiciones de este estudio se puede concluir que la adición de enzimas exógenas a la dieta favoreció el consumo del alimento, digestibilidad de la fibra y por ende su degradación.
- En base a los resultados obtenidos en este experimento se observó un aumento en el pH, nitrógeno amoniacal y AGVs en las dietas con enzimas; creando así un ambiente óptimo para el desarrollo de los microorganismos ruminales.
- Se concluyó que gracias a la adición de enzimas a la dieta, se apreció un incremento en la síntesis de la proteína microbiana; lo que dio como resultado una disminución en la producción de gas y metano a nivel del rumen.

6.2. Bibliografía

- Allen, M. S. (1997). Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1447–1462. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76074-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76074-0)
- Aguiar, E & Rojas, A. (2014). Métodos utilizados para reducir la producción de metano endógeno en rumiantes. *Nutrición Animal Tropical* 8(2): 72-90 ISSN: 2215-3527.
- Arcos-García, J. L., Castrejón, F. A., Mendoza, G. D., & Pérez-Gavilán, E. P. (2000). Effect of two commercial yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livestock Production Science*, 63(2), 153–157. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00116-5](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00116-5)
- Arias, R., Unruh-Snyder, L., Scholljegerdes, E., Baird, A., Johnson, K., Buckmaster, D., Lemenager, R., & Lake, S. (2013). Effects of feeding corn modified wet distillers grain plus solubles co-ensiled with chopped whole plant corn on heifer growth performance and diet digestibility in beef cattle. *Journal of Animal Science Abstract - Animal Production*, 91 (9), 4366-4373. Recuperado de <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/91/9/4366>

- Barragán, M., Arredondo, V., Rodríguez, R., Rosales, J & Larios, A. (2009). Efecto de la adición de un cultivo de levaduras y de la ración sobre la degradación in vitro y productividad de corderos Pelibuey. *Técnica Pecuaria en México*, vol. 47, núm. 1, pp. 41-53.
- Carro, M., Ranilla, M., & Tejido, M. (2006). Utilización de aditivos en la alimentación del ganado ovino y caprino, 7(3), 26-37. http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/29aditivos_ovinos.pdf
- Castro, M., & Rodríguez, F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria [en línea]* 2005, 6 (Enero-Junio). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945018004>> ISSN 0122-8706
- Cifuentes, O., & González, Y. (2013). Evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in weight gain of crossbred sheep. *Conexión Agropecuaria JDC*, 3(1), 41–49.
- Danisco Animal Nutrition. (2013). *Enzimas y Levaduras en la alimentación animal*. 8, 1-4 http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/65-Enzimas_en_la_alimentacion.pdf
- Depetris, G. (2014). Uso del ensilaje de planta entera en la alimentación de vacunos para carne en pastoreo y feedlot. *Nutrición Animal Aplicada* pp 64.
- El-waziry, A. M., & Ibrahim, H. R. (2007). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* of Yeast on Fiber Digestion in Sheep Fed Berseem (*Trifolium alexandrinum*) Hay and Cellulase Activity, 1(4), 379–385.
- Eun, J.-S., Beauchemin, K. A., & Schulze, H. (2007). Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Enhance In Vitro Fermentation of Alfalfa Hay and Corn Silage. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1440–1451. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71629-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71629-6)
- Eun, J., Beauchemin, K. A., & Schulze, H. (2007). Use of an in vitro fermentation bioassay to evaluate improvements in degradation of alfalfa hay due to exogenous feed enzymes, 135, 315–328. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.07.003>
- Gomez-Vazquez, A., Perez, J., Mendoza, G. D., Aranda, E., & Hernández, A. (2003).

- Fibrolitic exogenous enzymes improve performance in steers fed sugar cane and stargrass. *Livestock Production Science*, 82(2–3), 249–254. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00016-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00016-2)
- González Garcia, E. (2004). Utilización de enzimas fibrolíticas en cabras lecheras. Evaluación de su actividad y características fermentativas in vitro, 124. Retrieved from <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5653/egg1de1.pdf?sequence=1>
- Gallegos, M. (2014). Caracterización y Purificación de Invertasa desde *Aspergillus niger*. 1-9. Universidad Autónoma de Nueva León.
- García, M., López de Varona, Y., & Carcassés, A. (2012). Empleo de probióticos en los animales. Sitio Argentino de Producción Animal, 1-8. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/45-Empleo_probioticos.pdf
- Garcia, C. C. G., Mendoza, M. G. D., González, M. S., Cobos, P. M., Ortega, C. M. E., & Ramirez, L. R. (2000). Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 83(2), 165–170. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00126-1](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00126-1)
- Guedes, C. M., Gonçalves, D., Rodrigues, M. A. M., & Dias-da-Silva, A. (2008). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 27–40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037>
- Haddad, S. G., & Goussous, S. N. (2005). Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 118(3–4), 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.10.003>
- Kamel, H. E. M., Sekine, J., El-Waziry, A. M., & Yacout, M. H. M. (2004). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the synchronization of organic matter and nitrogen degradation kinetics and microbial nitrogen synthesis in sheep fed Berseem hay (*Trifolium alexandrinum*). *Small Ruminant Research*, 52(3), 211–216.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.001>

- Kung, L., Kreck, E. M., Tung, R. S., Hession, a O., Sheperd, a C., Cohen, M. a., Leedle, J. a. (1997). Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(9), 2045–51. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76149-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76149-6)
- Lata, O. (2011). Evaluación de Enzimas Exógenas en la Alimentación de Cerdos en la Etapa de Crecimiento. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Tesis de Grado. 1-85.
- Lema, E., & Cacuango, G. V. (2012). Crecimiento Y Desarrollo De Ovinos Corriedale Estabulados Utilizando Tres Mezclas Forrajeras Al Corte, En El Sector De Peguche Del Cantón Otavalo.
- Macedo, R., & Castellanos, Y. (2004). Rentabilidad de un sistema intensivo de producción ovino en el trópico. *Revista de Investigacion Y Difusion Cientifica*, 8(May), 1–9.
- MAGAP. (2013). Cría de Ovinos, 20. Retrieved from [http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/HOMBRO A HOMBRO/manuales/Manual La cría de ovinos.pdf](http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/HOMBRO_A_HOMBRO/manuales/Manual%20La%20cría%20de%20ovinos.pdf)
- Mena, S., Bernal, G., Rodríguez, J., Aguilera, A., Reis de Souza, T., Guerrero, M., & Romero, B. (2007). Empleo de cultivos de levaduras de *Saccharomyces Cerevisiae* en raciones para corderos en crecimiento y engorda. http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/41_6UAQMenaSantiago.pdf
- Menke KH, Steingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28, 7–55.
- Municipality, D. B., & State, P. (2008). Con Ovinos En El Municipio San Genaro De Boconoito (Estado Portuguesa , Venezuela)., XVIII, 556–561.
- Nava, C & Díaz, A. (2001). Introducción a la Digestión Ruminal. Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. 9-12.
- Nelson, D. (2007). *Lehninger: Principios de Bioquímica*. Editorial Omega. 5ª Edición. Universitat D'Alacant. pp1-4.
- Nutri News. (2015). Aplicación de probióticos, prebióticos y simbióticos en rumiantes.

- 95-97. <https://nutricionanimal.info/aplicacion-de-probioticos-prebioticos-y-simbioticos-en-rumiantes/>
- Oficialdegui, R. (2002). Sistemas de producción a pasto con ovinos. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*, 10(2), 110–116.
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(02), 499-503.
- Orskov E; Hovell F; Mauld F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. (Use of the nylon bag to evaluate feeds). *Tropical Animal Pro-duction* 5:213–233.
- Pérez Hernández, P., Vilvoa Arroinz, J., Chalate Molina, H., Candelaría Martínez, B., Díaz Rivera, P., & López Ortiz, S. (2011). Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 21(4), 327–334.
- Phakachoed, N., Suksombat, W., Colombatto, D., & Beauchemin, K. A. (2013). Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. *Livestock Science*, 157(1), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.06.020>
- Pinos-Rodríguez, J. M., Moreno, R., González, S., Robinson, P. H., Mendoza, G., & Álvarez, G. (2008). Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of total mixed rations fed to lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 142(3–4), 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.08.005>
- Plazas, V. M. A. (2014). El bienestar animal en sistemas productivos de ovinos-caprinos en Colombia. *Spei Domus*, 10(21), 57–62. <https://doi.org/10.16925/sp.v10i21.918>
- Ponce, T & Pérez, O. (2002). Celulasas y xilanasas en la industria. 1-5. Recuperado de: <https://es.scribd.com/doc/55903085/XILANASAS-Y-CELULASAS>
- Reis, W., Detmann, E., Batista, E., Rufino, L., Gomes, D., Bento, C & Filho, S. (2016). Effects of ruminal and post-ruminal protein supplementation in cattle fed tropical forages on insoluble fiber degradation, activity of fibrolytic enzymes, and the ruminal microbial community profile. *Animal Feed Science and Technology*.

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.001>

- Ricci, P. (2014). Emisión de gases de efecto invernadero en sistemas de producción de carne. *Nutrición Animal Aplicada*. 144-155.
- Rojas, M., (2014). Uso estratégico de enzimas en la nutrición animal, 1-10.
- Rojo, R., Mendoza, G., Montañez, O., Rebollar, S., Cardoso, D., Hernández, J., & González, F. (2007). Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. *23* (2), 173-182. <http://www.redalyc.org/html/154/15423208/>
- Romero, O. (2013). Alimentación y nutrición en los ovinos, 23–40.
- Sales, J. (2011). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters, nutrient digestibility and growth in sheep: A meta-analysis. *Small Ruminant Research*, 100(1), 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.05.012>
- Salvador, F., & Solorio, F. (2015). Utilización de enzimas exogenas en aves y porcinos, 1-14.
- Santini, F. (2014). Conceptos básicos de la nutrición de rumiantes. *Nutrición Animal Aplicada*. 4-23.
- SAS Institute (2000) ‘SAS user’s guide: version 8.’ (SAS Institute: Cary, NC).
- Stefañuk, F. (2014). Efecto del ph sobre la digestión ruminal. *Nutrición Animal Aplicada*. 24-28.
- Theodorou M, Williams B, Dhanoa M, Mcallan A, France J (1994) A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48, 185–197. doi:10.1016/0377-8401(94)90171-6
- Van Lier, E & Regueiro, M. (2008). Digestión en Retículo-Rumen. 9-14
- Ventura, M. (2011). Beneficios del uso de levaduras vivas en la alimentación de bovinos. 44, 352-358. http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/innovacion_tecno/pdfs/44capituloxxxxv.pdf
- Vera, J., Smith, A., ZoBell, D., Young, A., & Eun, J. (2012). Effects of an exogenous proteolytic enzyme on growth performance of beef steers and in vitro ruminal fermentation in continuous cultures. *The Professional Animal Scientist*, 28(4),

452–463. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30385-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30385-5)

Xiao, J. X., Alugongo, G. M., Chung, R., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., ... Cao, Z. J. (2016). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5401–5412. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10563>

Y, O. R., & M, S. B. (n.d.). 1. sistemas de producción ovina en la región de la araucanía, 14–22.

6.3. Anexos

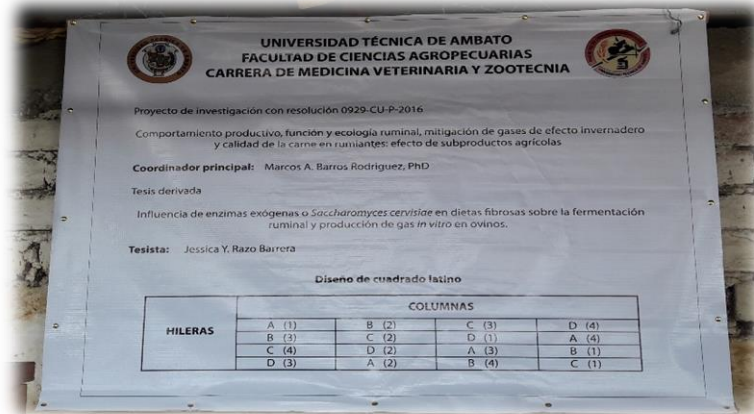
Anexo 1. Recolección de materia prima



Anexo 2. Molienda de materia prima, preparación y mezclado de la dieta



Anexo 3. Diseño de Cuadrado Latino



Anexo 4. Adaptación y alimentación de ovinos



Anexo 5. Extracción de líquido ruminal con ayuda de una sonda nasogástrica



Anexo 6. Pesaje de heces



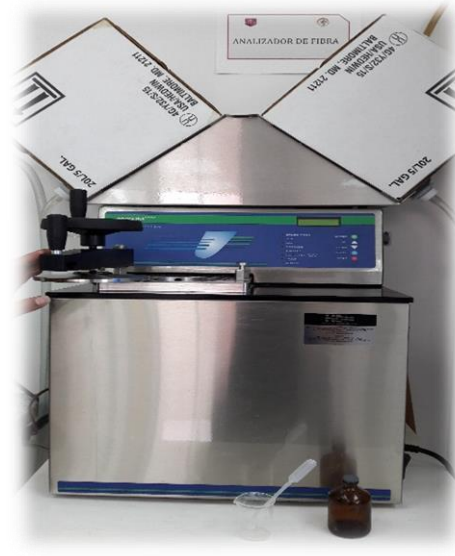
Anexo 7. Medición pH de la orina



Anexo 8. Molida y tamizaje de heces



Anexo 9. Análisis de FDN y FDA de la dieta y las muestras.



Anexo 10. Llenado de líquido ruminal en frascos



Anexo 11. Medición de presión y volumen para producción de gas





Neutral Detergent Fiber - As-Received

**Study
Number**

: 001

Date:

*NOTE: SD and Avg columns used when
multiple replicates are run*

Formulae will have to be inserted as needed

Sample	Sample		Bag	Sample	Final	Neutral Detergent
ID	Description	Bag #	Weight	Weight	Bag Weight	Fiber %
A4M2	heces	1	0,575	0,513	0,895	62,38
A2M4	heces	2	0,567	0,502	0,901	66,53
B4M4	heces	3	0,569	0,524	0,926	68,13
B1M3	heces	4	0,539	0,523	0,872	63,67
B3M2	heces	5	0,573	0,529	0,906	62,95
C2M2	heces	6	0,566	0,516	0,857	56,40
C4M3	heces	7	0,56	0,517	0,896	64,99
D4M1	heces	8	0,559	0,511	0,871	61,06
A1M1	heces	9	0,573	0,524	0,891	60,69
C1M4	heces	10	0,577	0,520	0,930	67,88
B2M1	heces	11	0,583	0,515	0,898	61,17
D3M4	heces	12	0,574	0,522	0,932	68,58
A3M3	heces	13	0,563	0,514	0,897	64,98
D1M2	heces	14	0,571	0,515	0,884	60,78
D2M3	heces	15	0,567	0,51	0,895	64,31
C3M1	heces	16	0,539	0,518	0,868	63,51



Acid Detergent Fiber - As-Received

Study
Number: 002

*NOTE: SD and Avg columns
 used when multiple replicates are
 run
 Formulae will have to be inserted
 as needed*

Sample	Sample		Bag	Sample	Final	Acid Detergent
ID	Description	Bag #	Weight	Weight	Bag Weight	Fiber %
A4M2	heces	1	0,575	0,513	0,765	37,04
A2M4	heces	2	0,567	0,502	0,771	40,64
B4M4	heces	3	0,569	0,524	0,789	41,98
B1M3	heces	4	0,539	0,523	0,744	39,20
B3M2	heces	5	0,573	0,529	0,771	37,43
C2M2	heces	6	0,566	0,516	0,728	31,40
C4M3	heces	7	0,56	0,517	0,769	40,43
D4M1	heces	8	0,559	0,511	0,746	36,59
A1M1	heces	9	0,573	0,524	0,76	35,69
C1M4	heces	10	0,577	0,520	0,795	41,92
B2M1	heces	11	0,583	0,515	0,772	36,70
D3M4	heces	12	0,574	0,522	0,796	42,53
A3M3	heces	13	0,563	0,514	0,767	39,69
D1M2	heces	14	0,571	0,515	0,756	35,92
D2M3	heces	15	0,567	0,51	0,767	39,22
C3M1	heces	16	0,539	0,518	0,737	38,22

CAPÍTULO VII

7. PROPUESTA

7.1. Datos Informativos

Tema:

“Influencia de Enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre la fermentación ruminal y producción de gas *in vitro* en ovinos.”

7.2. Antecedentes de la Propuesta

En el Ecuador la actividad ganadera ovina ha ido disminuyendo con el pasar de los años, muchas veces debido a que no refleja una verdadera actividad económica para las personas del campo (Pérez, 2013). Los sistemas de producción ovina dependen mucho de los recursos económicos de los productores, por lo que la forma más común de alimentar al ganado ovino es por medio del pastoreo (Lema & Caguango, 2012), siendo muchas veces perjudicial para los ovinos ya que la mayoría de estos pastos no cumplen con los requerimientos necesarios para estos animales.

Tomando en cuenta estos antecedentes se puede indicar que el uso de aditivos en las dietas no solo ayuda a los animales sino además puede disminuir el costo de producción, e inclusive mejorar la productividad animal ya que influye de manera positiva sobre la cinética de degradabilidad de la materia, minimizando el gasto energético en la producción de gases de efecto invernadero.

7.3. Justificación

Los microorganismos del rumen en un ambiente natural producen enzimas que hidrolizan la fibra; sin embargo, la estructura de la pared celular compleja y tiempo de permanencia limitado del forraje en el rumen no permiten una buena digestión de la fibra por los rumiantes por lo cual la suplementación de aditivos en la dieta puede mejorar la ganancia de peso ya que permite el crecimiento de bacterias celulolíticas las cuales favorecen la degradabilidad de la fibra de los forrajes (Cifuentes & Gonzáles, 2013).

Este proyecto sugiere implementar a una dieta balanceada enzimas exógenas las cuales van a promover una mayor digestibilidad del alimento e incrementar el número de

microorganismos, tanto fibrolíticos como no fibrolíticos en el líquido ruminal; lo que dará como resultado una mayor degradación debido a que la fracción del alimento digerida será mejor aprovechada por los microorganismos ruminales, por otra parte disminuye la producción de gases de efecto invernadero lo cual implica menor gasto energético, la que puede ser aprovechada por el animal. Por tanto se justifica el uso de enzimas exógenas para mejorar las funciones ruminales.

7.4. Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* en forrajes fibrosos sobre la fermentación ruminal ovinos.

Objetivos Específicos

Evaluar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la digestibilidad de los nutrientes y cinética de degradación ruminal.

Determinar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de AGVs, nitrógeno amoniacal y pH ruminal.

Determinar el efecto de las enzimas exógenas o *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de gas *in vitro*.

7.5. Análisis de Factibilidad

Este proyecto es totalmente factible en los aspectos económico, social y ambiental, ya que al aprovechar el desperdicio de la cebada una vez trillada, esta paja se la emplea en la alimentación de los ovinos, al ser rica en fibra genera efectos positivos sobre la productividad animal, además por no ser un alimento dañino para la salud del animal puede ser utilizada en la alimentación diaria, reduciendo así los costos en la producción.

7.6. Fundamentación

La necesidad de mejorar la productividad animal y disminuir los gastos de producción, es más visible cada día, para esto las alternativas en la alimentación ovina son fundamentales debido a que, el aprovechamiento de los subproductos de cosecha son de suma importancia ya que a parte de su bajo costo, sus características nutricionales pueden ser

una pieza clave en la dieta de los animales ya que al suplementar con un aditivo, las características fermentativas a nivel ruminal mejoran, reflejándose así una mayor productividad y generalmente una disminución en la Producción de Gases de Efecto Invernadero (GEI).

7.7. Metodología, Modelo Operativo

Elaboración de balanceados para ovinos:

- Selección de materia primas.
- Selección, molienda y almacenamiento de los granos.
- Mezclado de la materia prima.

El concentrado deberá suministrarse con la inclusión de enzimas y levaduras a la dieta diaria.

El consumo voluntario se estimó mediante el método directo en jaulas metabólicas con el fin de medir individualmente el consumo de alimento voluntario. La digestibilidad aparente se realizó mediante el método directo el cual consistió en utilizar jaulas metabólicas con recolección total de heces.

La degradación ruminal se evaluó mediante la técnica de la bolsa de nylon en el rumen que contendrá 5 gramos MS, la desaparición de los nutrientes fue calculada como una proporción del material incubado y residual.

Para la producción de gas y metano *in vitro* se obtuvo contenido del rumen (líquido y fracciones sólidas) por separado de cada individuo (cuatro ovinos canulados). La presión de gas y el volumen se midieron manualmente a las 3, 6, 9, 18, 24, 36, 48, 60, 72 y 96h con un transductor de presión DELTA OHM modelo DO 9704 (Delta OHM Srl, Padova, Italia) y la producción de metano se midió usando un desertor Gas Pro (Gas Analyzer CROWCON Model Tetra3, Abingdon, UK).

La producción de AGVs en los ovinos proviene de la degradación de los carbohidratos, la calidad y estructura de estos carbohidratos influye directamente en el tipo de ácidos producidos. Para esto se recogió muestras de líquido ruminal una vez por periodo de

muestreo (día 5) con ayuda de una sonda esofágica #18. La muestra se conservó con 4 ml de líquido ruminal y 1 ml de solución de ácido metafosfórico al 25% y se almacenó a 4 °C hasta el análisis de AGVs. El pH ruminal se determinó se midió mediante la utilización de un pH-metro. Finalmente para el análisis de Nitrógeno Amoniacal, se recogió líquido ruminal 4ml y se conservó con 6 ml HCL (v/v) al 0.5% y se mantuvo a 4 °C hasta el análisis de N-NH₃.

7.8. Administración

La administración de esta investigación estará a cargo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

7.9. Previsión de la Evaluación

Se recomienda realizar la evaluación del proyecto para que los resultados sean confiables, y los mismos publicados en beneficio de los productores de nuestro país.