



Efecto del *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad *in vitro* de cinco especies forrajeras utilizando excretas de ovinos como inóculo

Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces cerevisiae* on *in vitro* Digestibility of five forage species using sheep feces as inoculum

Efeito de *Lactobacillus acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae* na digestibilidade *in vitro* de cinco espécies forrageiras utilizando fezes de ovinos como inóculo

Luisa Fernanda Gómez López¹; Jorge Alberto Ríos Jaimes²;
María Ligia Roa Vega³; César Augusto Navarro Ortíz⁴

*Autor de correspondencia: mroa@unillanos.edu.co

Recibido: 20 de julio de 2024 Aceptado: 25 de agosto de 2024

Resumen

Debido a los elevados costos de los concentrados para animales, los productores de ovinos se han visto obligados a buscar alternativas para hacer más eficientes sus sistemas de producción, mejorando el uso de los forrajes, lo que ha impulsado la adopción de nuevas tecnologías. Entre ellas se encuentran los probióticos, que son microorganismos que se añaden a la ración, y han mostrado ser beneficiosos para la digestión ruminal sin alterar sus funciones fisiológicas. En este contexto, el presente trabajo determinó el efecto de *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad *in vitro* de cinco forrajes que se utilizan en la alimentación de los ovinos. Se tomaron muestras de cayeno (*Hibiscus rosasinensis*), moringa (*Moringa oleifera*), matarratón (*Gliricidia sepium*), morera (*Morus alba*) y del híbrido king grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*). Los tratamientos se organizaron en dos grupos: uno sin microorganismos (SMI) y otro con microorganismos (CMI). El inóculo se obtuvo de las excretas de ovinos en pastoreo, que fueron recolectadas

- 1 Médica Veterinaria Zootecnista, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. [ORCID https://orcid.org/0009-0009-2515-6195](https://orcid.org/0009-0009-2515-6195)
- 2 Médico Veterinario Zootecnista, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. [ORCID https://orcid.org/0009-0008-0648-5770](https://orcid.org/0009-0008-0648-5770)
- 3 Zootecnista, Esp, Msc., Docente Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. [ORCID https://orcid.org/0000-0002-0367-9050](https://orcid.org/0000-0002-0367-9050)
- 4 Médico Veterinario Zootecnista Msc. Docente catedrático, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. [ORCID https://orcid.org/0000-0002-0674-7282](https://orcid.org/0000-0002-0674-7282)

La Revista Sistemas de Producción Agroecológicos es una revista de acceso abierto revisada por pares. © 2012. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Internacional Creative Commons Attribution 4.0 (CC-BY 4.0), que permite el uso, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor y la fuente originales.

Consulte <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

OPEN ACCESS



Como citar este artículo / How to cite this article: Gómez-López, L. F., Ríos-Jaimes, J. A., Roa-Vega, M. L. & Navarro-Ortíz, C. A. (2024). Efecto del *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad *in vitro* de cinco especies forrajeras utilizando excretas de ovinos como inóculo. *Revista Sistemas de Producción Agroecológicos*, 15(2), e-1178. DOI: <https://doi.org/10.22579/22484817.1178>.

mediante palpación rectal y después se mezclaron con solución tampón (saliva de McDougall). Posteriormente, se incorporaron los microorganismos (*Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae*), los cuales fueron previamente macerados y homogeneizados. Los microorganismos o probióticos, el inóculo y las muestras, fueron colocadas en jeringas de 20 ml e incubados a temperatura y agitación constante durante 48 horas, para posteriormente ser secadas en estufa a 60 °C en un periodo de 48 horas. Se determinó la digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), fibra detergente neutra (DIVFDN) y proteína cruda (DIVPC). Los resultados fueron analizados con el software SPSS. Cayeno, morera, moringa y matarratón mostraron diferencias ($P < 0,05$) entre los tratamientos CMI y SMI en la DIVMS, siendo mayor en los tratamientos que no se utilizaron probióticos 75,6 vs. 41,9%, 70,1% vs. 32,7 y 70,1 vs. 27,6%, y 66,9 vs. 48,2%, respectivamente. La DIVFDN del tratamiento CMI y SMI de cayeno, morera y king grass presentaron significancia ($P < 0,05$), siendo mayor en SMI (72,9, 68,9 y 32,2%, respectivamente); en el matarratón y moringa no se observaron efectos cuando se usaron los probióticos. La DIVPC de morera, cayeno, moringa, y king grass fueron mayores ($P < 0,05$) en el tratamiento sin probiótico (SP) (73,7, 64,7, 63,3 y 35,8% respectivamente). No se observó efecto en matarratón SMI y CMI (60, 65 y 59,95). La correlación entre la DIVMS en el tratamiento SMI comparada con la DIVPC en el tratamiento SMI fue de 0,95, lo cual quiere decir que a medida que el valor de materia seca (MS) aumenta, lo hace también el de la proteína cruda. Tendencia similar se observó en la fibra detergente neutra. En esta investigación se determinó que los probióticos favorecen la digestibilidad de las especies forrajeras utilizadas. Se concluye que los probióticos no tuvieron efecto positivo sobre DIVMS, DIVFDN y DIVPC, siendo mayor ($P < 0,05$) en las especies cayeno, morera, moringa y king grass en los tratamientos SP. No se puede descartar totalmente la eficiencia de los probióticos utilizados en el presente estudio, pese a la discontinuidad de los resultados, porque en estudios *in vivo* los resultados son más favorables para estos microorganismos.

Palabras claves: digestibilidad; forrajes; microorganismos benéficos; rumiantes.

Abstract

Due to the high costs of animal feed concentrates, sheep producers have been forced to seek alternatives to make their production systems more efficient by improving forage use, which has driven the adoption of new technologies. Among these, probiotics, which are microorganisms added to the feed, have proven beneficial for ruminal digestion without altering physiological functions. In this context, the present study determined the effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces cerevisiae* on the *in vitro* digestibility of five forages used in sheep fee-

ding. Samples were taken from hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*), moringa (*Moringa oleifera*), gliricidia (*Gliricidia sepium*), mulberry (*Morus alba*), and the king grass hybrid (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*). The treatments were organized into two groups: one without microorganisms (WMI) and the other with microorganisms (WMIcro). The inoculum was obtained from the excreta of grazing sheep, which were collected via rectal palpation and then mixed with buffer solution (McDougall's saliva). Subsequently, the microorganisms (*Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces cerevisiae*), which were previously macerated and homogenized, were added.

The microorganisms or probiotics, the inoculum, and the samples were placed in 20 ml syringes and incubated at constant temperature and agitation for 48 hours, then dried in an oven at 60°C for 48 hours. *In vitro* digestibility of dry matter (IVDMD), neutral detergent fiber (IVNDFD), and crude protein (IVCPD) were determined. The results were analyzed with SPSS software. Hibiscus, mulberry, moringa, and gliricidia showed significant differences ($P < 0.05$) between WMIcro and WMI treatments in IVDMD, being higher in treatments without probiotics (75.6% vs. 41.9%), (70.1% vs. 32.7%), (70.1% vs. 27.6%), and (66.9% vs. 48.2%), respectively. The IVNDFD of WMIcro and WMI treatments for hibiscus, mulberry, and king grass showed significance ($P < 0.05$), being higher in SMI (72.9%, 68.9%, and 32.2%, respectively); no effects were observed in gliricidia and moringa when probiotics were used. The IVCPD of mulberry, hibiscus, moringa, and king grass were higher ($P < 0.05$) in the treatment without probiotic (SP) (73.7%, 64.7%, 63.3%, and 35.8%, respectively). No effect was observed in gliricidia WMI and WMIcro (60.65% and 59.95%). The correlation between IVDMD in the WMI treatment compared to IVCPD in the WMI treatment was 0.95, which indicates that as the Dry Matter (DM) value increases, so does the Crude Protein value; a similar trend was observed in neutral detergent fiber. This research determined that probiotics improve the digestibility of the forage species used. It is concluded that the probiotics did not have a positive effect on IVDMD, IVNDFD, and IVCPD, with the values being higher ($P < 0.05$) in hibiscus, mulberry, moringa, and king grass in the WMI treatments. The efficiency of the probiotics used in the present study cannot be entirely ruled out, despite the inconsistency of the results, as *in vivo* studies yield more favorable results for these microorganisms.

Keywords: beneficial microorganisms; digestibility; forage; sheep.

Resumo

Devido aos altos custos dos concentrados para animais, os produtores de ovinos foram obrigados a buscar alternativas para tornar seus sistemas de produção mais eficientes, melhorando o uso das forragens, o que impulsionou a adoção de novas tecnologias. Entre elas, os probióticos, que são micro-organismos adicionados à ração, mostraram-se benéficos para a digestão ruminal sem alterar suas funções fisiológicas. Nesse contexto, o presente trabalho determinou o efeito de *Lactobacillus acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae* na digestibilidade *in vitro* de cinco forrageiras utilizadas na alimentação de ovinos. Foram coletadas amostras de hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*), moringa (*Moringa oleifera*), gliricídia (*Gliricidia sepium*), amoreira (*Morus alba*) e do híbrido king grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*). Os tratamentos foram organizados em dois grupos: um sem micro-organismos (SMI) e outro com micro-organismos (CMI). O inóculo foi obtido das excretas de ovinos em pastagem, coletadas por palpação retal e depois misturadas com solução tampão (saliva de McDougall). Posteriormente, os micro-organismos (*Lactobacillus acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*), previamente macerados e homogeneizados, foram incorporados. Os micro-organismos ou probióticos, o inóculo e as amostras foram colocados em seringas de 20 ml e incubados a temperatura e agitação constantes por 48 horas, e depois secos em estufa a 60°C por um período de 48 horas. Determinou-se a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), fibra detergente neutra (DIVFDN) e proteína bruta (DIVPB). Os resultados foram analisados com o software SPSS. Hibisco, amoreira, moringa e gliricídia mostraram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos CMI e SMI na DIVMS, sendo maior nos tratamentos sem probióticos (75,6% vs. 41,9%), (70,1% vs. 32,7%), (70,1% vs. 27,6%) e (66,9% vs. 48,2%), respectivamente. A DIVFDN dos tratamentos CMI e SMI de hibisco, amoreira e king grass apresentaram significância ($P < 0,05$), sendo maior no SMI (72,9%, 68,9% e 32,2%, respectivamente); não foram observados efeitos no gliricídia e moringa quando se utilizaram probióticos. Os DIVPC da amoreira, hibisco, moringa e King grass foram maiores ($P < 0,05$) no tratamento sem probiótico (SP) (73,7, 64,7, 63,3 e 35,8% respectivamente). Não se observou efeito no gliricídia SMI e CMI (60,65% e 59,95%). A correlação entre a DIVMS no tratamento SMI comparada com a DIVPB no tratamento SMI foi de 0,95, o que indica que à medida que o valor de Matéria Seca (MS) aumenta, também aumenta o valor da Proteína Bruta; tendência semelhante

foi observada na fibra detergente neutra. Nesta pesquisa, determinou-se que os probióticos favorecem a digestibilidade das espécies forrageiras utilizadas. Conclui-se que os probióticos não tiveram efeito positivo sobre a DIVMS, DIVFDN e DIVPB, sendo maiores ($P < 0,05$) nas espécies hibisco, amoreira, moringa e king grass nos tratamentos SMI. Não se pode descartar totalmente a eficiência dos probióticos utilizados no presente estudo, apesar da descon-tinuidade dos resultados, pois em estudos in vivo os resultados são mais favoráveis para esses micro-organismos.

Palavras-chave: digestibilidade; forragens; microrganismos bené-ficos; ovinos.

Introducción

Digestión y digestibilidad en rumiantes

El rumen ovino es básicamente un compartimen-to con una capacidad que oscila entre 4 y 10 litros, donde se crea un medio ambiente ideal para el crecimiento y supervivencia de los microorganismos. Esto se debe a que la temperatura interna se mantiene estable entre 36 °C y 40 °C, mientras que el agua y la saliva proporcionan la humedad necesaria, y los alimentos suministran la energía para la actividad y proliferación microbiana. Además, la motilidad del rumen facilita el contacto entre los forrajes ingeridos y los microorganismos, y los productos finales de la fermentación son eliminados a través de la absorción en el torrente sanguíneo o mediante el eructo (Krause *et al.*, 2013). Sin estos microorganismos, los rumiantes no podrían sobrevivir, ya que son esenciales para descomponer la celulosa presente en los forrajes, liberando los nutrientes que el animal necesita y permitiéndole acceder a la energía contenida en los vegetales fibrosos. Por lo tanto, el principio fundamental de la nutrición de los rumiantes es alimentar a los microorganismos del rumen y, a su vez, nutrir al rumiante. Por lo tanto, es importante seleccionar con sumo cuidado los alimentos que se van a proporcionar a los ovinos, de manera que se fomente una población microbiana ruminal sana y productiva, garantizando que el animal reciba la energía y los nutrientes necesarios en sus diferentes estados fisiológicos (INIA, 2017).

La producción ovina puede verse afectada por deficiencias en energía, proteínas, minerales y vitaminas en la dieta (INIA, 2017). Los forrajes verdes, un buen heno o granos son fácilmente digeribles debido a su alto contenido de azúcares solubles y almidón, mientras que los carbohidratos estructurales menos digeribles, como la celulosa, se encuentran en las paredes celulares de las plantas. A medida que la planta madura, su digestión se vuelve más lenta, ya que disminuye el contenido de carbohidratos solubles y aumenta la cantidad de fibra. Como resultado, los microorganismos ruminales tardan más tiempo en descomponer los carbohidratos estructurales y liberar la energía contenida en el forraje, lo que provoca que el forraje permanezca mayor tiempo en el rumen, sin que se degraden los nutrientes requeridos por el animal (Rúa-Bustamante *et al.*, 2023).

Uso de probióticos en rumiantes

Probiótico se refiere a algo "a favor de la vida", en contraste con antibiótico, que significa "contra la vida" (Suárez-Machín *et al.*, 2016). Los probióticos son definidos como cultivos de microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas, benefician al animal al mejorar el equilibrio de su microbiota intestinal (Castañeda, 2018). En la producción animal, se busca mantener una buena salud y un rendimiento óptimo en carne para asegurar beneficios económicos. Existe una relación directa entre el funcionamiento del

sistema digestivo y factores como la tasa de crecimiento, el índice de conversión y la aparición de diversas enfermedades (Ángel, 2013). Los probióticos surgieron como una opción para prevenir enfermedades, puesto que son cultivos vivos de microorganismos administrados como suplementos alimenticios, que generan efectos beneficiosos en el animal al modificar la población microbiana en el rumen (Krause et al., 2013).

En zonas tropicales predominan pastos de una deficiente calidad nutricional, por lo tanto, el uso de probióticos en la dieta de rumiantes puede mejorar la eficiencia en el uso de los forrajes, porque se puede incrementar la degradación de la fibra y la producción de ácidos grasos volátiles, lo que crea un entorno favorable para la flora ruminal (Sorrondogui et al., 2012).

Soto-Díaz et al. (2023), argumentan que los beneficios de los microorganismos en los animales están relacionados con la mayor actividad de las enzimas de origen bacteriano en rumen, mejorando los procesos fermentativos de las dietas fibrosas y el aprovechamiento eficiente de la energía en los forrajes. López et al. (2015) observaron que la incorporación de un probiótico a base de bacterias lácticas en la dieta de ovinos en desarrollo, mejoró la estabilización del pH y los niveles de amoníaco en el rumen, incrementando los procesos fermentativos y la ganancia de peso.

Como lo expresan Hill et al. (2014), se considera probiótico a los microorganismos que una vez sean incorporados en la ración, desempeñan varias funciones en el rumen, como la reducción del pH intestinal y la liberación de metabolitos protectores como ácidos grasos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas, que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos tales como: *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* entre otros (Gutiérrez et al., 2013). Además, los probióticos regulan la motilidad intestinal, la producción de moco y emplean mecanismos enzimáticos que bloquean los receptores de toxinas,

previniendo el aumento de la población de patógenos que compite con los microorganismos beneficiosos (Saro et al., 2017).

Entre los aditivos probióticos en rumiantes, las bacterias de los géneros *Bacillus*, *Enterococcus* y *Lactobacillus* son las más que se han utilizado; también se ha experimentado con hongos como *Aspergillus oryzae* y con *Saccharomyces cerevisiae*, que es una levadura. En la Unión Europea, el uso de probióticos en ovinos y caprinos se ha permitido legalmente. Recientemente se autorizó su uso para animales jóvenes y adultos de cualquier especie, mientras que previamente estaba permitido únicamente para bovinos (Saro et al., 2017).

Lactobacillus sp son las bacterias más investigadas en su uso como aditivos no nutricionales en rumiantes. Cifuentes y Gonzales (2013) encontraron que adicionando mezcla de *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* y *L. jugarti* en la ración para terneros de ceba, se permitió reducir la cantidad de concentrado y mejorar el rendimiento de los animales. De manera similar, Sorrondogui et al. (2012) utilizaron un cultivo de *L. acidophilus* en la alimentación de terneros, observando una mejora del 10% en la ganancia diaria de peso. En estudios in vitro, Torres et al., (2009) reportaron un incremento en la digestibilidad de la materia seca y orgánica con el suministro *L. acidophilus*, y Casas (2018) observó que se elevó la producción de leche en vacas, la cual contenía un mayor cantidad de proteínas y sólidos no grasos, a las cuales se les incluyó *L. acidophilus* en su plan de alimentación.

Además de sus beneficios productivos, los microorganismos eficientes pueden mejorar la salud animal, reduciendo la incidencia de enfermedades y el uso de antibióticos. Pereira et al. (2016) informaron que la suplementación de terneros con alimentos fermentados con *L. acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* disminuyó la incidencia de diarrea neonatal, y Casas (2018) observó que una mezcla de *Lactobacillus sp* administrada a terneros se disminuyó: la mortalidad neonatal, frecuencia de diarreas y el recuento de coliformes en las excretas; en la dieta de bovinos de carne se redujo

la excreción fecal de *Escherichia coli* O157:H17. Cifuentes y Gonzales (2013) afirman que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es uno de los microorganismos más investigados por la Unión Europea en su uso para la alimentación de rumiantes: bovinos de carne y leche, corderos, caprinos, ovinos lecheros y búfalas (Hill *et al.*, 2014). Al ser utilizado como suplemento en vacas lecheras, señala su eficacia como fuente de proteína, debido a su capacidad para aumentar la degradación de la celulosa en el rumen y el flujo de proteína microbiana al intestino (Saro *et al.*, 2017).

El mecanismo de acción de las levaduras en rumiantes es complejo: eliminan el oxígeno en el rumen, favoreciendo el crecimiento de bacterias anaerobias, compitiendo con bacterias amilolíticas por glucosa, liberan ácido málico, y producen nutrientes que estimulan el crecimiento bacteriano (Saro *et al.*, 2017). En raciones con altos contenidos de concentrado, *S. cerevisiae* ha mostrado mejorar la degradabilidad de la materia seca y la fibra, así como la producción de ácidos grasos volátiles en estudios *in vitro* (Carro *et al.*, 2014). Casas (2018) también observó que la suplementación con *S. cerevisiae* en vacas en lactancia aumentó el pH ruminal, reduciendo el riesgo de acidosis subclínica.

El hidrógeno que produce la fermentación ruminal es rápidamente utilizado por arqueas metanogénicas, aunque las bacterias acetogénicas también pueden usarlo para producir acetato. Krause *et al.* (2013) observaron que la adición de *S. cerevisiae* mejora el metabolismo de hidrógeno que se encuentra en las cepas que generan ácido acético, reduciendo la disponibilidad de hidrógeno y, por ende, la producción de metano. No obstante, la respuesta a la inclusión de levaduras puede variar según la dieta y la cepa de *S. cerevisiae* utilizada, por lo que es crucial seleccionar la cepa adecuada para asegurar su eficacia en el rumen (Castañeda *et al.*, 2018).

Tilley y Terry (1963) generaron una técnica para valorar la digestibilidad *in vitro* en alimentos, en la cual por duplicado se procesan muestras de medio

gramo de forraje seco a la estufa a 100 °C, sometiendo a digestión en tubos, dejando dos como blanco sin forraje alguno; posteriormente se agregan a cada tubo 40 ml de solución buffer saturada con dióxido de carbono (CO₂) a una temperatura de 38 °C. Finalmente, se filtra el contenido de las jeringas con agua destilada para extraer el residuo. La solución *buffer* se prepara agregándole en agua destilada (un litro), 9,3 g de fosfato de sodio (Na₂PO₄), 9,8 g de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), 0,57 g de cloruro de potasio (KCl), 0,47 g de cloruro de sodio (NaCl), 0,04 g de cloruro de calcio (CaCl₂), y 0,06 g de cloruro de magnesio (MgCl₂) (McDougall, 1948). Inmediatamente después se agregan 10 mL de líquido del rumen a cada tubo. Posteriormente la sustancia *buffer* se gasifica con CO₂ para desplazar el oxígeno presente y, por último, se tapa y se incuba a 39 °C en ambiente oscuro, durante 48 horas, agitándose unas cuatro o cinco veces al día durante este tiempo. Finalmente se lava el residuo con agua y se filtra con papel para llevarlo a secado en estufa a 72 °C, determinando dicha fracción por diferencia de peso. El residuo en los tubos testigos (a los que se añadió solamente líquido ruminal y solución tampón) comprende la fracción indigestible de las partículas y dicho valor es utilizado como factor de corrección. A partir de este procedimiento puede calcularse fácilmente la sustancia digestible de cada forraje (materia seca); conocido el porcentaje "digerido" en las muestras, se puede comparar la eficacia digestiva de la combinación de los inóculos del rumen.

Este procedimiento ha sido ensayado con diversas variaciones, pero en general la técnica *in vitro* en los cuales se utiliza líquido del rumen son los más tradicionales y todavía se utilizan con mucha frecuencia en la estimación de la digestibilidad, cuyo principio se fundamenta en colocar en incubación el forraje durante 48 horas en líquido ruminal. Con este método, la muestra que es degradada por los microorganismos, se considera que es aprovechada y desaparece, por lo tanto fue digerida, la cual se corrige teniendo en cuenta el contenido; con este valor se puede estimar el contenido energético de un alimento. El proceso original investigado

por Tilley y Terry (1963) y los que utilizan la producción de gas (Ahmad *et al.*, 2016), son los métodos *in vitro* más utilizados para determinar tasas digestivas y evaluación de alimentos que son altos en sustancias solubles. El éxito de estos métodos depende de los tratamientos y la secuencia, puesto que son muy dependientes del propósito de la investigación.

Un factor determinante en la calidad del alimento es la digestibilidad de los nutrientes, y la forma más precisa de obtener información sobre la digestibilidad del alimento para rumiantes, es mediante la realización de estudios de digestibilidad *in vivo*, aunque estos métodos son bastante costosos, consumen mucho tiempo, y no son adecuados para el análisis de rutina, por lo tanto, deben desarrollarse métodos confiables de laboratorio en la determinación de la digestibilidad de los forrajes para rumiantes (Leeuw y Siebrits *et al.*, 2018). Aunque las técnicas *in situ* e *in vitro* tienen buen potencial para predecir la digestibilidad *in vivo*, no se han validado por completo; además, de la mayoría de las técnicas desarrolladas para evaluar la digestibilidad de los forrajes, aunque hay algunos informes sobre el uso de las técnicas *in vitro* para estimar la digestibilidad de los forrajes, alimentos y las dietas completas (Arce *et al.*, 2003; Giraldo *et al.*, 2007).

Los alimentos también pueden incubarse con enzimas para predecir la digestibilidad *in vivo*, este proceso tiene como objetivo imitar el proceso digestivo en el animal; el uso de enzimas hace que los análisis sean completamente independientes del animal. La mayoría de los métodos enzimáticos para la estimación de la digestibilidad se desarrollaron para forraje, y algunos se usaron para alimentos compuestos (Segura *et al.*, 2008). Arce *et al.* (2003) utilizaron dos métodos enzimáticos, basados en la digestión por pepsina y celulosa, y posteriormente con ácido clorhídrico (0,1 N HCl) para valorar la digestibilidad de la materia orgánica de los alimentos compuestos adaptando el método enzimático desarrollado inicialmente para forrajes individuales. También hay variaciones del método enzimático para estimar la DMO en ali-

mentos compuestos e incluso pajas y por lo tanto, se ha demostrado el potencial de este método para evaluar la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* de las dietas completas y los forrajes (Rosero y Posada 2007).

Posada *et al.* (2012) identificaron que las heces son una alternativa para ser usadas como inóculo en técnicas de digestibilidad *in vitro*, así como con el método de producción de gases, destacando la ventaja de que los microorganismos presentes en las excretas no son específicos al sustrato, como en caso de utilizar heces de diferentes rumiantes, como ovejas (González *et al.*, 2012) y ganado bovino (Navarro Ortiz & Roa-Vega, 2018).

González *et al.* (2012) utilizaron heces ovinas frescas como inóculo en la técnica de producción de gas para realizar una evaluación del valor nutritivo de pastos tropicales destinados a rumiantes. Se observó una correlación positiva entre la producción de gas con heces ovinas y la producción de gas con excretas bovinas, con un coeficiente de correlación de 0,84; los materiales forrajeros como guinea (*Panicum maximum*) y estrella (*Cynodon nlemfuensis*) mostraron el mayor valor nutritivo, mientras que el pasto pajilla (*Sporobolus indicus*) fue menor su valor. Se recomienda usar excretas frescas de ovinos para evaluar la digestibilidad mediante la técnica *in vitro* de forrajes.

Material Vegetal Estudiado

El pasto *king grass* morado es una variedad híbrida entre *Pennisetum purpureum* y *Pennisetum typhoides* que fue obtenido genéticamente por cruces a partir del pasto elefante (*Pennisetum purpureum*), motivo por el cual su morfología es similar en estos dos forrajes. Madera *et al.* (2013) realizaron un estudio comparativo con relación a la dinámica de producción de gas, emisión de metano y la digestión *in vitro* en materia orgánica e inorgánica, en el *king grass* en combinación con el tanino natural crudo del neem (*Azadirachta indica*). Observaron que el OM o IM mejoraron la fermentabilidad del forraje, mientras que su combinación con hojas que contienen taninos redujo la fermen-

tabilidad, sin afectar la producción de metano. Li y Zhou (2018) estudiaron los efectos asociativos de mezclas de *stylosanthes* (*Stylosanthes guianensis*) y *king grass* (*Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. *Reyan*) a diferentes proporciones en el método con producción de gas *in vitro*. Observaron que bajo las condiciones controladas, la adición de las mezclas de *stylosanthes* y ensilaje de *king grass* podría mejorar la producción de gas (PG) *in vitro*, la digestión *in vitro* de materia seca (DIVMS), la proteína microbiana y promover la vitalidad de los microbios ruminales; además, la mayoría de las mezclas de *stylosanthes* y ensilaje de *king grass* mostraron efectos asociativos positivos, y las mezclas tuvieron el mejor efecto asociativo.

Quintana-Zamora *et al.* (2015) evaluaron un compuesto enzimático fibrolítico exógeno (Fibrozyme®; 0 y 1.50 g enzima/kg MS) y su influencia en la digestibilidad y fermentación ruminal de heno de pasto *king grass* (*Pennisetum hybridum*) cortado a 35 y 70 días. Los resultados indicaron que la degradabilidad *in situ* de la MS evaluada a las 12, 24, 48 y 72 horas no se afectó por el uso de la enzima, tanto en dietas completas como en el forraje. Sin embargo, la degradación *in vivo* de los nutrientes fue mayor en el heno de 35 días que en el de 70 días ($p > 0.05$), al igual que la retención de nitrógeno, la cual fue superior en el heno más joven.

La especie *Morus alba*, que es conocida como morera, es un arbusto utilizado para alimentar gusanos de seda. Rodríguez y Russo (2009) evaluaron diferentes frecuencias de corte para determinar la digestión *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la biomasa digerible de *Morus alba* y *Gliricidia sepium*, entre otras especies. Se observaron diferencias ($P < 0.05$) en la digestibilidad entre leguminosas y no leguminosas, entre edades de rebrote, y entre especies dentro de cada grupo. También se presentó una disminución de la DIVMS a mayor edad de rebrote (74.3% a las 10 semanas frente a 62.9% a las 26 semanas). Aunque no se detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la producción de biomasa digerible entre grupos o especies dentro de un mismo grupo, sí se encontraron dife-

rencias en función de la edad de rebrote ($P < 0.05$). *Morus alba* presentó la mayor DIVMS y biomasa digerible a las 26 semanas, lo que evidencia su potencial bajo condiciones de poda completa y sin fertilización en sistemas de monocultivo.

Nieves *et al.* (2006) llevaron a cabo un experimento en conejos para determinar la digestibilidad aparente de nutrientes en el follaje de morera, y encontraron que la digestibilidad de la fibra cruda (DFC) fue mayor ($P < 0.05$) en la dieta basada en morera ($67.9 \pm 8.1\%$), mientras que la digestibilidad aparente de la proteína cruda (DPC) fue mayor ($P < 0.05$) en la dieta basal ($81.5 \pm 5.8\%$). El contenido de energía digestible (ED) estimado para el follaje de morera fue de 2328.6 ± 501.9 kcal/kg, y la proteína digerible (PD) alcanzó los 136.7 ± 21.4 g/kg MS. Concluyeron que el follaje de morera tiene un alto valor nutricional y puede ser un excelente ingrediente dietético para conejos.

Montejo *et al.* (2012) evaluaron la harina de soya utilizada como reemplazo del concentrado y su efecto en la digestibilidad aparente *in vitro* de la harina de vainas de *Moringa oleifera*. Se observó un aumento en la producción de gas con mayores niveles de adición de soya en la digestibilidad verdadera mostraron un comportamiento similar. La producción de biomasa microbiana alcanzó su máximo valor con un 10% de soya, lo que llevó a concluir que la adición de soya mejora la digestibilidad de las vainas de moringa, siendo la inclusión óptima del 10%.

Gutiérrez *et al.* (2018) realizaron estudios en caprinos utilizando metodologías *in vivo*, colectando las heces, pero con diferentes niveles de inclusión de *Moringa oleifera*. Los resultados mostraron digestibilidades de 58.3 a 52.1% en el primer estudio y de 57.8 a 59.6% en el segundo. En bovinos se utilizaron diversas técnicas y fracciones de plantas, además de tiempos de digestión variables. Por ejemplo, en un estudio de Gutiérrez *et al.* (2018) con forraje de moringa (hojas, ramas, tallos tiernos), utilizando la metodología *in situ* con bolsas de nylon y tiempos de digestión de 3 a 120 horas, se encontraron rangos de digestibilidad de la DMS

entre 37.4 y 64.9%. García *et al.* (2017) empleando la misma metodología con mezclas de *Pennisetum purpureum*, salvado de maíz y torta de algodón, y hojas de moringa al 30% reportaron una DMS de 82% a las 48 horas de incubación.

En Cuba, García *et al.* (2017) analizaron la composición de nutrientes en hojas y tallos de moringa, determinando la digestión *in vitro* de la materia seca y el nitrógeno mediante el uso de pepsina pancreatina. Se encontró que la proteína cruda en las hojas superiores fue superior a la reportada en la literatura, y valores de fibra cruda inferiores en hojas y en tallos. La digestibilidad aparente *in vitro* del nitrógeno fue alta en hojas (84.66%) y tallos (83.61%), superando los resultados encontrados en la bibliografía, incluso comparados con otros recursos arbóreos. Sin embargo, la digestión de la materia seca fue inferior a la reportada en la literatura, aunque comparable con la mayoría de los recursos arbóreos.

Meza *et al.* (2012) investigaron la composición química y bromatológica de cuatro arbustivas forrajeras y su digestibilidad *in vitro* para estimar el valor de la energía digestible (ED). Evaluaron los contenidos de PC, MS, fibra cruda (FC), MO, y determinaron la digestibilidad de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO), proteína cruda (DPC), fibra cruda (DFC), extracto etéreo (DEE), extracto libre de nitrógeno (DELN), energía digestible (DED), nutrientes digestibles totales (DNDT) y cenizas (DC). Los mejores contenidos de nutrientes se registraron en los tratamientos T₀ (testigo), T₂ (*Erythrina poeppigiana*) y T₁ (*Morus alba*), con valores de PC (22.3%), FC (47.2%), MS (84.5%) y MO (83.7%). Los tratamientos T₀, T₃ (*Tithonia diversifolia*), y T₂ mostraron los mayores coeficientes de digestibilidad *in vitro*, concluyendo que las harinas de forraje de morera, caraca, botón de oro y cayeno presentan un alto valor nutricional debido a su gran aporte de aminoácidos esenciales.

Ruiz *et al.* (2006) evaluaron el efecto de la inclusión de heno de *Hibiscus rosa-sinensis* sobre la productividad de corderos en crecimiento, así como su digestibilidad y balance de nitrógeno. El

consumo de MS mostró un comportamiento lineal ($P < 0.05$) con la inclusión de *hibiscus*, alcanzando la mejor ganancia de peso (125 gr/d) con un 60% de *hibiscus*. En la fase de digestibilidad, el consumo fue similar ($P > 0.05$) en las dietas con *hibiscus*, pero diferente ($P < 0.05$) en comparación con el testigo (92.04 vs. 67.90 g/MS/kg). La digestibilidad de la materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína cruda (PC) y fibra detergente neutro (FDN) se incrementó linealmente ($P < 0.05$) con *hibiscus* en la ración.

Un estudio realizado por Obrador *et al.* (2007) para medir la respuesta productiva y metabólica de ovinos suplementados con *Morus alba* e *Hibiscus rosa-sinensis*, demostró que los animales en pastoreo suplementados con concentrado e *Hibiscus rosa-sinensis* mejoraron significativamente ($P < 0.05$) el consumo de suplemento, porque se incrementó la ganancia diaria de peso. Sobre las variables evaluadas se recomienda el uso de *M. alba* e *H. rosa-sinensis*, como suplemento alimenticio para corderos en pastoreo.

El matarratón (*Gliricidia sepium*) es una leguminosa con un buen contenido de proteína sobrepasante en rumen y está protegida por fenoles presentes en las hojas. Aunque no se han reportado casos de toxicidad, incluso en animales alimentados exclusivamente con matarratón, se recomienda combinar su suministro con pastoreo, ya que esto reduce el contenido de taninos adheridos a la proteína y la fibra. Calderón-Chagoya *et al.* (2016) evaluaron la selectividad de novillas *Bos taurus* x *Bos indicus* en pastoreo con diversas especies arbóreas, concluyendo que el matarratón fue la planta más consumida por los animales, independientemente de la temporada de lluvias o sequía.

El propósito de esta investigación fue analizar la influencia de *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* en la degradación *in vitro* de los siguientes forrajes, utilizando como inóculo excretas de ovino: *king grass* (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*), cayeno (*Hibiscus rosa sinensis*), morera (*Morus alba*), moringa (*Moringa oleifera*) y matarratón (*Gliricidia sepium*).

Metodología

Esta investigación se realizó en Villavicencio, Meta, en la Universidad de los Llanos, cuyas condiciones climatológicas son: altitud de 465 m.s.n.m, temperatura promedio de 25.5 °C en un entorno de clima cálido muy húmedo, precipitación promedio anual es de 4383 mm y humedad relativa entre 67% y 83%.

Preparación de muestras

Se realizó una poda de las plantas a utilizar en el estudio, luego de 45 días de recuperación se procedió a recolectar el material vegetal. Las muestras fueron secadas en una estufa modelo MEMMERT UF 55 durante 48 horas. Posteriormente se realizó la molienda con el triturador de impacto PowderLab obteniendo partículas de 2 mm de tamaño, para lo cual se pasó el material vegetal a través de una zaranda (Figuras 1 y 2).

Figura 1. Molino y zaranda usados para preparar las muestras.



Figura 2. Preparación del probiótico.



El manejo del probiótico fue realizado de forma que, en un mortero, se adicionaron y maceraron 1000 mg de probiótico *Saccharomyces cerevisiae* y 1000 mg de probiótico *Lactobacillus acidophilus*, para obtener una mezcla total de 2000 mg de probiótico que fue adicionado a las jeringas de los tratamientos CMI.

Tratamientos

Los tratamientos se distribuyeron así: T_1 Híbrido *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*, T_2 *Hibiscus rosa-sinensis*, T_3 *Moringa oleifera*, T_4 *Gliricidia sepium* y T_5 *Morus alba*; todos los tratamientos anteriores componen el factor sin probiótico (SMI). Los tratamientos T_6 a T_{10} siguen el orden anterior y se adicionaron 200 mg de la mezcla de probiótico (CMI) a cada tratamiento. Se utilizaron diez repeticiones por cada tratamiento, para un total de 100 muestras analizadas.

El inóculo para todos los tratamientos, se obtuvo a partir de la materia fecal de diferentes ovinos con edad variable entre 12 y 18 meses, manejados bajo pastoreo con king grass; las excretas se recogieron directamente del recto, y se colocaron en un frasco herméticamente cerrado para procesarlas inmediatamente.

La solución *buffer* (saliva de McDougal) utilizada en los tratamientos, se preparó agregándole a un litro de agua destilada 9,8 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), 9,3 g de fosfato de sodio (Na_2PO_4), 0,57 g de cloruro de potasio (KCl), 0,47 g de cloruro de sodio (NaCl), 0,04 g de cloruro de calcio (CaCl_2) y 0,06 g de cloruro de magnesio (MgCl_2) (McDougal, 1948).

Posteriormente se gasificó con dióxido de carbono (CO_2) durante dos minutos, para posteriormente hacer la mezcla con el inóculo de ovinaza (Figura 3). Fue necesario realizar pruebas de estandarización antes de iniciar el proceso, debido a que la alta densidad de la ovinaza dificultó el proceso de filtrado. Luego de varias pruebas se obtuvo que la mejor opción es la alícuota del 25%

conseguida luego de mezclar 250 ml de la solución inicial con 750 ml de la solución *buffer* (Figura 4).

Figura 3. Gasificación de la solución *buffer*.



Figura 4. Elaboración de las alícuotas.



Al inóculo (ovinaza diluida en solución *buffer*) se le agregaron 200 mg de MS de los forrajes, y en los tratamientos que correspondió 200 mg de la mezcla de probióticos, completando un volumen de 20 ml, finalmente las jeringas fueron selladas y llevadas a la incubadora agitadora Unimax Heidolph 1010 (Figura 5).

Figura 5. Incubación de las muestras a temperatura y agitación controlada.



Las muestras fueron incubadas a 37.0 ± 0.5 °C; se realizó agitación permanente (100 rpm) por 48 h en la incubadora agitadora Unimax Heidolph 1010; posteriormente el contenido se obtuvo filtrando la muestra Microclar CL 518 y se secaron las muestras en estufa modelo MEMMERT UF 55 en un periodo 48 horas (Figura 6).

Figura 6. Filtrado del contenido de las jeringas luego de la incubación.



Finalmente, por gravimetría se determinó la digestibilidad aparente *in vitro* de la materia seca (MS), fibra detergente neutra (FDN) y proteína cruda (PC) de las muestras procesadas.

Análisis Estadístico

La homogeneidad de los datos se determinó mediante el método de Levene; posteriormente se realizó un análisis de varianza determinando sus diferencias y se compararon las medias utilizando la prueba de Tukey con una significancia del 5%. Finalmente se realizaron unas correlaciones entre digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutra (DIVFDN); también se realizaron estas correlaciones entre MS y PC y PC y FDN. Los datos fueron procesados en el programa SPSS versión 23.

Resultados y Discusión

Análisis nutricionales

Los análisis nutricionales de los forrajes evaluados se observan en la **Tabla 1**. Las gramíneas tropicales como el king grass (*Pennisetum purpureum*

x *Pennisetum typhoides*) cuando son jóvenes tienen un mayor valor de proteína y digestibilidad, sin embargo, su contenido de agua es mayor con cantidad de biomasa; se observa que un contenido de proteína del 10% es este pasto indica que es bastante aceptable en estas condiciones (Madera *et al.*, 2013).

Comparando los otros forrajes de la **Tabla 1** que son fuente proteica como: el cayeno (*Hibiscus rosa sinensis*), morera (*Morus alba*), moringa (*Moringa oleifera*) y matarratón (*Gliricidia sepium*), este último es de mayor contenido de proteína (22,1%) con relación a 13,9, 18,4 y 18,6, respectivamente, puesto que el matarratón es una leguminosa, fisiológicamente tiene mayor capacidad de retener N en sus hojas y ramas, en comparación con los forrajes. También se demuestra que la fibra detergente neutro, es más elevada (57,0%) en el king grass, en comparación con los árboles (Ayala-Burgos *et al.*, 2006).

Tabla 1. Análisis bromatológico (%) de los materiales vegetales estudiados

Nombre	MS inicial	Proteína	Grasa	ENN	FC	FDN
<i>Pennisetum purpureum</i> x <i>Pennisetum typhoides</i>	15,5	10	2,8	45,8	28,7	57,0
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	24,7	13,9	4,2	58,1	6,9	35,8
<i>Morus alba</i>	34	18,4	2,5	54,6	8,9	28,3
<i>Moringa oleifera</i>	34	18,6	2,46	62,43	2,91	15,3
<i>Gliricidia sepium</i>	26,8	22,1	3,4	48,7	12,4	49

ENN: extracto no nitrogenado, FC: fibra cruda, FDN: fibra detergente neutro

Evaluación de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS)

Dado que la población microbiana se ve influenciada por múltiples factores, la fuente del inóculo es considerada la principal causa de variación en la determinación de la digestibilidad *in vitro*, según Soto-Díaz *et al.* (2023). Investigaciones sobre el uso de *Saccharomyces cerevisiae* en la nutrición de rumiantes indican que no todas las cepas de levadura actúan de la misma manera en los distintos sistemas de producción animal (Avijit *et al.*, 2004; Poppy *et al.*, 2012). Las diferencias en la respuesta

entre cepas de *S. cerevisiae* y su interacción con la dieta suministrada a los animales presentan nuevas alternativas para comprender las modificaciones que estas cepas generan en el metabolismo ruminal (Ahmad *et al.*, 2016). La digestibilidad *in vitro* obtenida con el método empleado en este estudio, puede interpretarse como estimaciones de la digestibilidad real de los alimentos. Es importante conocer el contenido de materia seca de los alimentos para garantizar que el animal reciba la cantidad adecuada de nutrientes y así satisfacer sus requerimientos.

El porcentaje de digestibilidad de la MS presentó diferencias entre los tratamientos SMI del matorrón, cayeno, morera y moringa, siendo más baja ($P < 0,05$) la DIVMS del pasto king grass, mientras que en los tratamientos CP las mayores digestibilidades las obtuvieron ($P < 0,05$) *G. sepium* (48,92%) y *H. rosa-sinensis* (41,9%), en comparación con los demás forrajes (Tabla 2).

El uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en dietas para rumiantes incrementa la eficiencia de aprovechamiento de los nutrientes (Castañeda, 2018) e incrementa la digestión de la MS, MO y FDN, tanto *in vivo* como *in vitro* y la degradabilidad de FDA y nitrógeno (Cifuentes y Gonzales, 2013). No obstante, los mecanismos mediante los cuales esta levadura ejerce su acción en el rumen no han quedado debidamente esclarecidos. Esto queda demostrado porque las mayores DIVMS ($P < 0,05$) las obtuvieron todos los tratamientos SMI, en comparación con los forrajes a los que les adicionaron los probióticos (Tabla 2).

La valoración de la producción de gas en incubaciones *in vitro* se ha usado para establecer la digestión y la dinámica de la fermentación del rumen de los forrajes (De Moura, *et al.*, 2011). Se han aplicado fórmulas de regresión múltiple a los contenidos del sustrato (Espinosa *et al.*, 2001), lo que ha propiciado una acertada evaluación de la degradabilidad *in vivo* y de la digestibilidad aparente de la materia seca de forrajes; sin embargo, en esta investigación no se realizó medición de la producción de gas durante el proceso, pero de forma visual por desplazamiento del émbolo, se observó producción de gas en las jeringas donde se realizó el proceso con probiótico (CMI). Es importante notar que son pocas las investigaciones en la que se observa la influencia de microorganismos activadores, como levaduras y lactobacilos, en la producción de gas durante la fermentación del alimento en el rumen.

Tabla 2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (%)

Nombre	Sin probiótico (SP)	Con probiótico (CP)
<i>Pennisetum purpureum</i> x <i>Pennisetum typhoides</i>	46,1 ± 9,3Ab	21,2 ± 11,8Aa
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	75,6 ± 12,2Bb	41,9 ± 17,3BCa
<i>Moringa oleifera</i>	70,1 ± 10,4Bb	27,6 ± 14,3ABa
<i>Gliricidia sepium</i>	66,9 ± 10,1Bb	48,92 ± 16,9Ca
<i>Morus alba</i>	71,7 ± 10,01Bb	32,7 ± 14,4BAa

Nota. La comparación de columnas es con letras mayúsculas y la de filas con minúsculas; letras diferentes hay diferencias significativas en Test de Tukey ($p < 0,05$). Mezcla de probióticos *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus acidophilus*

Evaluación de la digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutra (DIVFDN)

El total de fibra o pared celular que contiene un forraje se conoce como FDN y contiene celulosa, hemicelulosa y lignina. La FDN es la que mide la capacidad de los alimentos para ocupar volumen en el tracto digestivo, por lo que generalmente se asocia con el llenado del estómago, determinando la cantidad de MS que puede consumir el animal (Espinosa *et al.*, 2001). El contenido de FDN de las dietas o forrajes está relacionado negativamente con el consumo voluntario, por lo que una alta FDN determina un menor consumo por la baja disponibilidad de espacio en el estómago.

El porcentaje de digestibilidad de la FDN fue similar entre los tratamientos CMI y SMI en king grass y moringa; caso contrario se observó en cayeno y morera CMI y SMI ($P < 0,05$), donde los mejores resultados se observaron sin adicionar la mezcla de probióticos (72,9 y 68,9% respectivamente), el tratamiento con matorrón CMI y SMI (Tabla 2). También presentó diferencias ($P < 0,05$) con un valor máximo cuando se le adiciona la mezcla de probióticos (48,9%).

Aunque *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* han sido ampliamente estudiados en la alimentación animal, los resultados han sido poco consistentes, probablemente debido a la diversidad de tratamientos evaluados en di-

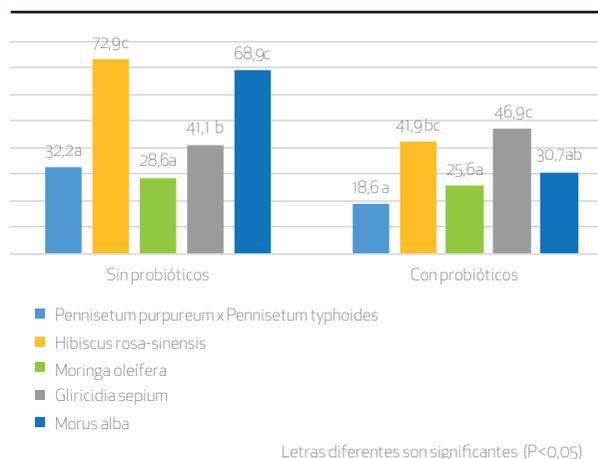
ferentes animales en estudio, que han utilizado diversas proporciones y cepas de microorganismos. Se ha informado que *S. cerevisiae* y *L. acidophilus*, ya sea de manera individual o conjunta, pueden aumentar el consumo de alimento, la producción de leche, la conversión alimenticia y la ganancia diaria de peso, mejorando la actividad y cantidad de microorganismos anaerobios totales y celulíticas, afectando la concentración de ácidos grasos volátiles, el pH ruminal y el nitrógeno amoniacal (Guevara y Carcelén, 2014). Sin embargo, estos resultados no siempre son confiables, lo que ha conllevado a recomendar la selección de cepas específicas que optimicen el uso de la fibra detergente neutro de la ración (Cano et al., 2016).

Dado que el contenido de las células que comprenden los alimentos es altamente digestible, la pared celular y su grado de degradación van a influir en el valor de la digestión *in vitro* de los alimentos. Por lo tanto, la actividad microbiana del inóculo tendrá un mayor impacto al comparar la digestibilidad *in vitro* de alimentos con alto contenido de pared celular (forrajes), con aquellos con menor contenido de concentrados.

Indudablemente, la población de bacterias celulíticas disminuye de manera considerable cuando el pH se encuentra entre 6,0 y 6,3, y se puede bajar a cifras por debajo de 6,0 (Carro et al., 2014); mientras que en los métodos *in vitro* el inóculo de heces se mezcla con solución amortiguadora, lo cual mantiene estable el pH, cercano a la neutralidad durante el periodo de la digestión. En este trabajo no se valoró el pH del medio tras las 48 horas de incubación, por tanto, cabe la posibilidad de variación de pH por causas desconocidas que afectaron la actividad de los probióticos, una de ellas puede ser la actividad microbiana presente en las heces, que pueden servir como inóculo y, por tanto, pueden generar una variación de pH superando la capacidad *buffer* de la saliva de McDougall, comprometiendo de esta manera la actividad de otros microorganismos, incluyendo protozoos y hongos.

Se podría esperar que el efecto sobre los forrajes fuera más evidente en aquellos que presentan un mayor contenido de pared celular, pero no fue así, puesto que la digestibilidad *in vitro* de la FDN de king grass, que es el forraje con mayor contenido de este componente fue superior ($P < 0,05$) sin probiótico 32,2 vs. 18,6%. Lo mismo sucedió con *M. alba* (68,9 vs. 30,7%) y *H. rosa-sinensis* (72,9 vs. 46,9%), siendo estas arbustivas las de mayor DIVFDN ($P < 0,05$) en los tratamientos SP. En *G. sepium* y moringa se observó que el comportamiento de la DIVFDN fue similar con o sin probiótico. La mayor DIVFDN ($P < 0,05$) en los CP fue para *G. sepium* (46,9%) y *H. rosa-sinensis* (41,9%), en comparación con demás forrajes (Figura 7). Estos resultados pueden explicar que la evaluación de la digestibilidad de estos nutrientes está condicionada en alto grado a alguna característica inherente a los mismos, puesto que el contenido de metabolitos secundarios como taninos, fenoles, entre otros, pueden limitar la acción de los microorganismos celulíticos (Casas, 2018).

Figura 7. Digestibilidad *in vitro* (%) de la fibra detergente neutra comparando los cinco forrajes y evaluando el uso de probiótico.

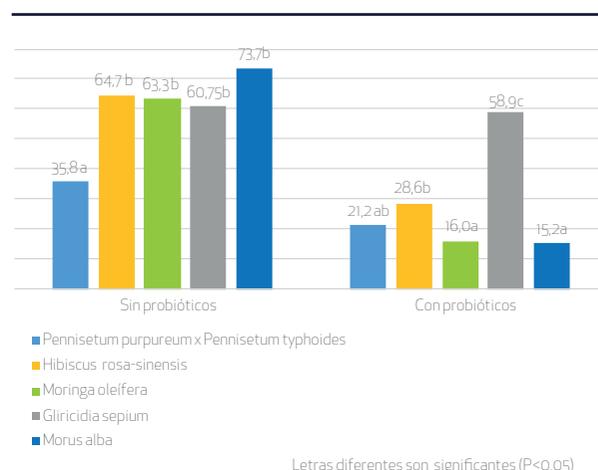


Evaluación de la digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda (DIVPC)

El elevado costo la proteína, que es relevante en las dietas para una adecuada producción pecuaria, requiere de valoraciones de su calidad teniendo los criterios necesarios para saber la calidad de las materias primas que están adquiriendo para las raciones en uso. El porcentaje de digestibilidad de la PC fue diferente ($P < 0.05$) en los tratamientos SMI con relación a los CMI, siendo más altos ($P < 0,05$) en *M. alba* (73,7 vs. 15,22%), *moringa* (63,3 vs. 16,0%), *H. rosa-sinensis* (64,7 vs. 28,6%) y king grass (35,8 vs. 21,2%); mientras que *G. sepium* fue la de mayor DIVP ($P < 0.05$) en los tratamientos CP (58,9%) (Figura 8).

La técnica de digestibilidad *in vitro* que fue empleada en esta investigación, es un procedimiento relativamente rápido y sencillo; se puede afirmar que es válida estableciendo datos de digestibilidad de una gran variedad de forrajes, con antelación (Castañeda, 2018), lo cual fue confirmado por los resultados obtenidos en este trabajo. Es importante resaltar que dado el limitado número de muestras y repeticiones utilizadas, y por la diversidad botánica de los forrajes utilizados, no es posible establecer un criterio definitivo respecto a la no eficiencia del uso de probióticos en procedimientos de laboratorio, para determinar la digestibilidad utilizando como inóculo heces animales. Galina *et al.* (2009) realizaron un estudio con caprinos de levante comparando el efecto del probiótico *Lactobacillus acidophilus* con el concentrado comercial, y concluyeron que la suplementación con un probiótico láctico generó una mayor velocidad de crecimiento en los animales, probablemente producto de una mejor digestibilidad de las dietas con mayor fijación de NNP y formación de proteína bacteriana.

Figura 8. Digestibilidad *in vitro* (%) de proteína cruda comparando los cinco forrajes y evaluando el uso de probiótico.



Coefficiente de correlación de Pearson

Un coeficiente de correlación es significativo si se aleja de 0; cuanto más cerca de 1, mayor es la correlación entre las variables evaluadas. Si el valor es negativo indica correlación inversa entre las variables correlacionadas. La correlación entre la DIVMS y DIVFDN en los tratamientos con inclusión de la mezcla de probióticos fue de 0,66, un valor alto, lo que indica que hay correlación entre ambas variables, por tanto, se determina que la DIVMS es causada por la DIVFDN. Resultados previos respecto a estas correlaciones fueron obtenidos por Rosales *et al.* (2013), quienes estudiaron la degradabilidad *in situ* en rumen y digestión *in vitro* de diferentes preparaciones utilizadas en la elaboración de ensilados de maíz-manzana agregando melaza, concluyeron que la DIVFDN de los forrajes están en correlación negativa con el consumo y la digestibilidad; la variable consumo no fue estudiada en este estudio, pero es una variable importante al plantear estudios *in vivo*.

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre la digestibilidad de materia seca (MS) fibra detergente neutro (FDN) y proteína cruda (PC) en función de la mezcla de probióticos

Nutriente	Probiótico	FDN		PC	
		SP	CP	SP	CP
MS	SP	0,66	-	0,95	-
	CP	-	1	-	0,74
PC	SP	0,64	-	-	-
	CP	-	0,74	-	-

Nota. COD: coeficientes de digestibilidad, SP: sin probiótico, CP: con probiótico.

La correlación entre la DIVMS y DIVPC en el tratamiento sin adición de probióticos fue 0,95, un valor alto para este tipo de prueba, lo que sugiere una alta correlación entre ambas variables, por tanto, a mayor valor de la DIVMS, aumenta también el DIVPC. Por otro lado, la correlación entre la MS y la FDN en el tratamiento con mezcla de probióticos fue de 1, valor más alto en esta prueba, por tanto, significa que la adición de la mezcla de probióticos mejoró la correlación entre el aumento de la digestibilidad de la materia seca y fibra detergente neutra; para este caso, el 100% de la variabilidad de la digestibilidad de la FDN es explicada por la variabilidad de la DIVMS.

Los forrajes utilizados con mayor FDA y celulosa han sido reportados con menor DIVMS. La lignina es totalmente indigerible, y su cantidad se puede correlacionar con la DIVMS y contenido energético de un alimento, dado que la celulosa y hemicelulosa están envueltas por la lignina, lo cual limita disponibilidad de estos carbohidratos, que sí se aprovechan por los microorganismos. También se reporta que los forrajes y la torta de soya, están influenciados por la composición química en cuanto al comportamiento de su digestibilidad, puesto que en la DIVMS afecta de manera negativa los contenidos de FDN y celulosa. Resultado similar se observó en esta investigación, en la cual para los tratamientos sin probióticos la correlación entre DIVMS y DIVFDN, si bien no fue negativa, sí fue relativamente baja.

La correlación entre la digestibilidad de la PC y FDN en los tratamientos sin probióticos fue 0,64, un valor relativamente bajo. La correlación entre PC y la FDN en los tratamientos CP fue 0,74, un valor moderado para la prueba, por lo tanto, la variabilidad de la digestibilidad de la proteína cruda es debida a la variación en la digestibilidad de la fibra detergente neutro. Aunque eso no se pudo observar, puesto que los minerales no están comprendidos en las fracciones estudiadas en esta investigación. Al respecto, un estudio similar realizado por Madera *et al.* (2013), encontró que la degradación *in vitro*, la producción de AGV totales y la producción de ácido propiónico, están correlacionados levemente en forma inversa con el contenido de FDN, mientras que, en el presente estudio, la correlación entre DIVMS CP y DIVFDN CP, que es la correlación más similar a la reportada, se encontró alta y positiva.

Morfológicamente, varios autores (Villareal y Ortega, 2014) reportan datos de digestibilidad para *Moringa oleífera* de MS, FDN y PC de 21, 30 y 23%, respectivamente, valores diferentes a los obtenidos en este trabajo (34, 15,2 y 18,6%). Para el caso del king grass se reportan valores de 13, 73,7 y 9,5% (Ahmad *et al.*, 2016), muy similares a los obtenidos en esta investigación (15,5, 57 y 10% respectivamente). En el caso de la morera se reportan datos variados, que van desde PC con valores de 18 hasta 24% (Nieves *et al.*, 2006; Obrador *et al.*, 2007); para el caso de MS y PC estos autores concuerdan con los datos obtenidos en este estudio, reportando valores de 34 y 18,6% respectivamente. El *Hibiscus rosa sinensis* se reporta (Ruiz *et al.*, 2006) 22, 21,6 y 15,5 de MS, FDN y PC respectivamente, valores dentro del rango a los obtenidos en este trabajo (24,7, 35,8 y 13,9% respectivamente). Finalmente, los investigadores del matarratón reportan valores de MS del 19,5%, FDN de 35% y PC de 14% (Arce *et al.*, 2003), valores inferiores a los encontrados en esta investigación (26,8, 49 y 22,1% respectivamente). Se debe tener en cuenta que la edad y la calidad del suelo, son variables que afectan la calidad y contenido de las diferentes especies vegetales

Contrario a los resultados aquí reportados, un estudio determinó que el uso de los microorganismos *B. subtilis* y *B. licheniformis* en forrajes de *Moringa oleifera*, *Morus alba* y *Gliricidia sepium*, demostraron que se incrementó la DIVMS, DIVFDN y DIVPC ($p < 0.05$) en los corderos (Kritas *et al.*, 2016). Por otra parte, y de forma similar a estos resultados, al comparar el efecto de dos tratamientos (con y sin adición del probiótico *saccharomyces cerevisiae*) se evidencia el descenso en la DIVMS y DIVFDN en el tratamiento con microorganismos. Este resultado parece ser una demostración indirecta de que no hubo colonización por parte de las bacterias en el material vegetal, durante el periodo de 24 horas que duró dicho estudio (Wang *et al.*, 2009).

Hillal *et al.* (2011) también observaron una mayor DIVMS de *Hibiscus rosa-sinensis* adicionada con probióticos (*Brettanomyces sp.*) con relación al tratamiento testigo sin probiótico, contrario a lo reportado en este estudio, siendo diferente en la investigación con bovinos in vivo, a los cuales se les suministró proporciones elevadas de la misma especie forrajera. No se observó efecto cuando se añadió probiótico puesto que no influyó en la digestibilidad de la materia seca.

En concordancia con los resultados, un estudio realizado por Rosario *et al.* (2013) que valoró el uso de dos inóculos que pertenecían a las especies de *Lactobacillus* para evaluar su efecto en DIVMS y DIVFDN de ensilaje de king grass y morera, determinó que estos dos ensayos demostraron que los forrajes ensilados con y sin probiótico no tuvieron variaciones, porque mantuvieron las condiciones anaeróbicas durante cinco días; además, se señala que la DIVMS Y DIVFDN fueron similares ($p < 0,05$) en los dos casos.

De igual forma, Wang *et al.* (2009) estudiaron que *Lactobacillus sp.* no forman parte de la flora bacteriana del intestino, por tanto, no cuentan con la capacidad colonizadora óptima para degradar los forrajes; la baja capacidad colonizadora de dichas bacterias, se apoya en el supuesto de que se requiere de una continua adición de probióticos a la

muestra, con el fin de observar alguna influencia. Aunque los resultados entre los dos ensayos son muy variables, el uso de probióticos en raciones para ovinos podría ser una estrategia nutricional para mejorar el aprovechamiento digestivo de los alimentos.

Conclusiones

La evaluación de *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad in vitro de cinco forrajes, utilizando inóculo de ovinaza, determinó que estos microorganismos no favorecieron la DIVMS, de las cinco especies estudiadas: king grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*), cayeno (*Hibiscus rosa-sinensis*), morera (*Morus alba*), moringa (*Moringa oleifera*) y matarratón (*Gliricidia sepium*). Estos resultados no son definitivos y, además, se han identificado pocos estudios en los que se evalúa el efecto de microorganismos que son activadores fisiológicos, como levaduras y lactobacilos, en las técnicas in vitro, puesto que es necesario medir el gas producido y la dinámica de cómo se realiza la incubación en rumen para la degradación de los forrajes, lo cual no fue evaluado en este estudio.

De igual forma, se concluye que los probióticos no tuvieron efecto positivo sobre la DIVFDN, excepto en el matarratón y moringa, donde no hubo efecto con el uso de la mezcla de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*, puesto que el valor de DIVFDN fue mayor en los otros forrajes de los tratamientos sin probióticos. Con DIVPC no hubo efecto de los probióticos en matarratón y en el resto de las forrajeras; está variable fue menor en los tratamientos con probiótico.

No se puede descartar de manera definitiva la eficacia de los microorganismos activadores utilizados en el presente estudio, pese a la discontinuidad de los resultados, lo cual indica que requieren llevar a cabo más estudios para estandarizar el uso de la ovinaza en las pruebas de digestibilidad in vitro, puesto que en estudios

in vivo los resultados son más favorables, incrementado la digestibilidad cuando se utilizan para estos microorganismos.

Referencias

- Ahmad, S., Awistaros, A., Herdian, H., Khairulli, G., Suryani, E. A., Manu ara, K. P., Jayanegara, A. (2016). In vitro gas production kinetics and digestibility of King grass (*Pennisetum hybrid*) added by organic mineral and natural crude tannin. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 122-125 <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2015.1129339>
- Ángel, M. A. (2013). Uso de probióticos en la nutrición de monogástricos como alternativa para mejorar un sistema de producción. Trabajo presentado como requisito para Optar al Título de Especialista en Nutrición Animal Sostenible. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, 30-38. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/1075/52424223.pdf;jsessionid=DAE6F22EA6129B41472BE64B57C5F553.jvm1?sequence=1>
- Arce P, Carla, Arbaiza F, Teresa, Carcelén C, Fernando, & Lucas A, Orlando. (2003). Estudio comparativo de la Digestibilidad de forrajes mediante dos Métodos de Laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(1), 7-12. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000100002&lng=es&tlng=es.
- Avijit Dey, J. P., Kumar Puniya, A., Singh, K. (2004). Influence of an anaerobic fungal culture (*Orpynomyces* sp.) Administration on growth rate, Ruminant fermentation and nutrient digestion in calves. *Asian Australian Animal Journal Science*, 17(6), 820-824. DOI:10.5713/ajas.2004.820
- Ayala-Burgos, A, Góngora, R, Capetillo, C, Zapata Campos, C, & Sandoval-Castro, C (2006). Composición Química-Nutricional de Árboles Forrajeros. Universidad Autónoma de Yucatán. México: Conacyt-Sagarpa-Cofupro.
- Calderón-Chagoya, R., Calderón-Robles, R. C., Ríos-Utrera, A., Montaña-Bermúdez, M., Lagunes-Lagunes, J. & Vega-Murillo, V. E. (2016). Análisis productivo y reproductivo de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* de doble propósito en clima subtropical húmedo. *Revista Científica*, XXVI(4), 239-246.
- Cano, J., Carcelén F., Ara, M., Quevedo, W., Alvarado, A. & Jiménez, R. (2016). Efecto de la suplementación con una mezcla probiótica sobre el comportamiento productivo de cuyes (*Cavia Porcellus*) durante la fase de crecimiento y acabado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(1), 51-58. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000100007&lng=es&tlng=es.
- Carro, M. D., Saro, C., Mateos, I., Díaz, A., Ranilla, M. J. (2014). Presente y perspectivas de futuro en la UE Empleo de probioticos en la alimentación de rumiantes. *Alimentacion Animal*, 4 (1), 42-49. <https://oa.upm.es/35230/>
- Casas, S. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae*: stimulators and modifiers of ruminal fermentation and the rumen microbial growth. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 1-9. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200001
- Castañeda, C. (2018). Probiotics: an update. *Revista Cubana de Pediatría*, 90(2), 286-298. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312018000200009
- Cifuentes, O., Gonzales, Y. O. (2013). Evaluación de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la ganancia de peso de ovinos criollos. Cone-

ción agropecuaria, 1(3), 41-49. https://www.researchgate.net/publication/334657703_EVALUACION_DE_LA_LEVADURA_Saccharomyces_cerevisiae_EN_LA_GANANCIA_DE_PESO_DE_OVINOS_CRIOLO

- De Moura, R. S., Saliba, E. O., Almeida, F. Q., Lana, A. M., Moreira, D. C., Silva, V. P., Rezende, A. S. et al. (2011). Apparent digestibility of diets with probiotics or phytase in mangalarga marchador foals. *Archivos de Zootecnia*, 25(1), 193-203. DOI:10.21071/az.v60i230.4668
- Espinosa, F., Argenti, P., Gil, J. L., Leon, L., Perdomo, E. (2001). Evaluation of King grass (*Pennisetum purpureum* cv. King grass) Associated with forages legumes. *Zootecnia Tropical*, 19(1), 59-71. <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/1530>
- Galina, M.A, Delgado-Pertiñez, M, Ortiz-Rubio, M.A, Pineda, L.J. & Puga, D.C. (2009). Cinética ruminal y crecimiento de cabritos suplementados con un probiótico de bacterias ácido-lácticas. *Pastos y Forrajes*, 32(4), http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942009000400009&lng=es&tlng=es.
- García Q, Indira Isis, Mora-Delgado, Jairo, Estrada A, Julián, & Piñeros V, Roberto. (2017). ¿Cuál es el efecto de la Moringa oleifera sobre la dinámica ruminal? Revisión sistemática. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(1), 43-55. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i1.11675>
- Giraldo, L. A., Gutiérrez, L. A. & Rúa, C. (2007). Comparación de dos técnicas in vitro e in situ para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(3), 269-279 http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902007000300005&lng=en&tlng=es.
- González Rodríguez M., Resillez Pujal, A., Pedraza Olivera, R., Martínez, S. (2012). Heces ovinas dispuestas como inóculo en la técnica de producción de gases para la valoración nutritiva de forrajes. *Revista de Producción Animal*, 24(2), 18-22. <https://core.ac.uk/reader/327252020>
- Guevara, J., Carcelen, F. (2014). Efecto de la suplementación de probióticos sobre los parámetros productivos de ovinos. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 17(2), 28-33. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/11332>
- Gutiérrez Ramírez, L, Montoya, O. & Vélez Zea, J. (2013). Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *Producción + Limpia*, 8(1), 135-146. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552013000100010&lng=en&tlng=es.
- Gutiérrez, D., González, N., Iglesias, A., García, R., Tuero, R. (2018). Effect of different proportions of Moringa oleifera: *Cenchrus purpureus* on voluntary intake and nitrogen balance. *Pastos y Forrajes*, 41(3), 30-41. <https://www.redalyc.org/journal/2691/269158218010/269158218010.pdf>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merestein, D. J., Pot, B., Sanders, M. E. (2014). The international scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews, Gastroenterology y Hepatology*, 11(8), 506-514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66
- Hillal, L., El-Sayaad, G., Abdella, M. (2011). Effect of growth promoters (probiotics) supplementation on performance, in vitro activity and some blood constituents in growing lambs.

- Archiv fur Tierzucht*, 54(6), 607-617. <https://aab.copernicus.org/articles/54/607/2011/>
- Instituto de Desarrollo Agropecuario - Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). (2017). Manual de manejo ovino Boletín INIA / N° 368 Editoras: Verónica González y Tamel Aike Marilyn. INIA, Santiago, Chile, 158p. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/server/api/core/bitstreams/dbab580e-babb-4c67-b2c1-57fa2e42d7c3/content>
- Krause, D.O., Nagaraja, T.G., Wright, A.D., Callaway, T.R. (2013) Board-invited review: Rumen microbiology: leading the way in microbial ecology. *J Anim Sci.*,91(1), 331-41. PMID: 23404990. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23404990/>
- Kristas, S., Govaris, A., Christodouloupoulos, G., Burriel, R. (2016). Effect of a *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on a sheep milk production and young lamb mortality. *Journal of veterinarian Medicine association*, 53(5), 170-173 doi:10.1111/j.1439-0442.2006.00815.x
- Leeuw, K. J., Palic, D., Siebrits, F. K., Muller, H. & Hindle, V. A. (2018). Prediction of in vivo organic matter digestibility of ruminant feeds using in vitro techniques. *South African Journal of Animal Science*, 48(5), 907-916. <https://dx.doi.org/10.4314/sajas.v48i5.10>
- Li, M., Zhou, H. (2018). Associative effects of stylo and king grass silage different ratios on in vitro rumen fermentation. *Legume Research*, 41(4), 584-588. <https://arccjournals.com/journal/legume-research-an-international-journal/LR-335>
- López, Y., Arece, J., Ojeda, F., Molina, M. (2015). Effect of the inclusion of the sorbifau-na probiotic in the diet of confined weaned sheep. *Pastos y Forrajes*, 38(2), 202-206. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-03942015000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- Madera, N.B., Ortiz, B., Bacab, H.M., Magaña, H. (2013). Influencia de la edad de corte de pasto king grass morado (*Pennisetum purpureum*) en la producción y digestibilidad in vitro de la materia seca. *Avances en investigación agropecuaria*, 17(2), 41-52. <https://www.redalyc.org/pdf/837/83726339005.pdf>
- McDougall El. Studies on ruminant saliva. (1948). The composition and output of sheep's saliva. *Biochem J.* 43(1), 99-109. <https://doi.org/10.1042/bj0430099>
- Meza, G. A., Sánchez, L. A., Meza, M. A., Meza, C. J., Franco, N. G., Avellaneda, J. H., Liuba, G. A. (2012). Digestibilidad in vivo de forrajeras arbustivas tropicales para la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus lenneus*), en el litoral ecuatoriano. *Veterinary and animal science*, 6(2), 10-17. <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v6n2a01.pdf>
- Montejo, I. L., López, O., Sánchez, Tania, Muetzel, S, Becker, K, & Lamela, L. (2012). Efecto del nivel de inclusión de soya en la digestibilidad in vitro de la harina de piscidium de *Moringa oleifera*. *Pastos y Forrajes*, 35(2), 197-204. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000200007&lng=es&tlng=es
- Navarro-Ortiz, C. & Roa Vega, M. (2018). Comparación de la digestibilidad de tres especies forrajeras estimada mediante diferentes técnicas. *Revista Orinoquia*, 22(19). <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v22n1/0121-3709-rori-22-01-00015.pdf>
- Nieves, D., Araque, H., Terán, O., Silva, L., González, C. & Uzcátegui, W. (2006). Digestibilidad de Nutrientes del Follaje de Morera (*Morus alba*) en Conejos de Engorde. *Revista Cien-*

- tífica, 16(4), 315-324. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000400005&lng=es&tlng=es.
- Obrador, P. V., Hernández, D., Aranda, E. M., Gómez, V. A., Camacho, W., Cobos, M. (2007). Evaluación de los forrajes de morera y tulipán a diferentes edades de corte como suplemento para corderos en pastoreo. *Universidad y Ciencia*, 23(2), 115-125. <https://www.redalyc.org/pdf/154/15423203.pdf>
- Pereira, V., Rodríguez, R., Orjales, I., Chapel, J. M., Domínguez, R., Vázquez, P. (2016). Empleo de prebióticos y probióticos en la alimentación de rumiantes. Manual informativo, información disponible en: www.produccion-animal.com.ar
- Quintana- Zamora J, Avellaneda-Cevallos J., Barrera, A., Tapia Moreno E., Peña Galeas M., Barrera Álvarez A., Yepes Macias P. (2015). Enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación ruminal in situ del pasto King grass (*Pennisetum hybridum*) en dos edades de corte. *Ciencias Agrarias*, 8(2), 37-43. doi:10.18779/cyt.v8i2.148
- Poppy, G. D., Rabiee, A. R., Lean, I. J., Sanchez, W. K., Dorton, K. L., Morley, P. S. (2012). A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on a milk production of lactating dairy cows. *American Dairy Science Association*, 9 (10), 6027-6041. doi:10.3168/jds.2012-5577
- Posada, S., L, Noguera, R. & Segura, J. A. (2012). Ruminant feces used as inoculum for the in vitro gas production technique. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(4), 592-602. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902012000400007&lng=en&tlng=en.
- Rodríguez, J. C., Russo, R. (2009). Digestibilidad in vitro en forrajes tropicales a diferentes edades de rebrote. *Tierra tropical*, 5(1), 83-89. https://www.researchgate.net/publication/236626939_Digestibilidad_In_Vitro_en_forrajes_tropicales_a_diferentes_edades_de_rebrote
- Rosales, E., Delgado, L. E., Carrete, F. O., Medrano, R. H., Solís, S. A., Murillo, O. M., Haubi, C. (2013). Degradabilidad ruminal in situ y digestibilidad in vitro de maíz-manzana adicionados con melaza. *Avances en investigación agropecuaria*, 17(2), 76-96. <https://www.redalyc.org/journal/837/83726339007/html/>
- Rosario, C., Rodríguez, A., Randel, P. (2013). Efecto de la aplicación de inóculos microbianos sobre las características fermentativas, estabilidad aeróbica y digestibilidad in vitro de materia seca y fibra detergente neutro de ensilaje de gramíneas tropicales naturalizadas. *Journal Agriculture Universe*, 97(1), 33-56. <https://revistas.upr.edu/index.php/jaupr/article/view/3038>
- Rosero, R., Posada, S. L. (2007). Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(1), 174-182. <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023034009.pdf>
- Rua-Bustamante, C., Cañas-Álvarez, J., Carrascal-Triana, E., Ulloa, L., Ayola, S., Rodríguez, J., Mestra Vargas, L., Paternina, E., Martínez, C., Zambrano Ortiz, J., Paternina E. (2023). Manual para la producción de ovinos en la región Caribe de Colombia. doi:10.21930/agrosavia.manual.7406122
- Ruiz-Sesma, D., Lara-Lara, P. E., Sierra-Vásquez, A. C., Aguilar-Urquijo, E., Magaña-Magaña, M. A., Sanguines García, J. R. (2006). Evaluación nutritiva y productiva de ovinos alimentados con heno de *Hibiscus rosa sinensis*. *Zootecnia Tropical*, 7(6), 98-109. <https://www>.

- researchgate.net/publication/28140506_Evaluacion_nutritiva_y_productiva_de_ovinos_alimentados_con_heno_de_Hibiscus_rosa-sinensis
- Saro, C., Mateos, I., Ranilla, M. J., Carro, M. D. (2017). Uso de probióticos para mejorar la salud digestiva de los rumiantes. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 20(9), 50-62. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/106-Uso_de_probioticos.pdf
- Segura S, F., Echeverri F, R., Mejida G, A. (2008). De lignificación selectiva del pasto Pennisetum purpureum x pennisetum typhoides usando basidiomicetos ligninolíticos. *Vitae*, 15(1), 18-24. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169815394006.pdf>
- Sorrondegui, M., López, Y., Vera, C. A. (2012). Empleo de probióticos en animales. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 5(8), 10-17. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/45-Empleo_probioticos.pdf
- Soto-Díaz, A., Rondón-Castillo A., Iglesias-Gómez J. (2023). Probióticos en la producción animal: mecanismos de acción y efectos beneficiosos para la ganadería. *Pastos y Forrajes*, 46, e25. <https://www.redalyc.org/journal/2691/269176991002/html/>
- Suárez-Machín, C; Garrido-Carralero, N; Guevara-Rodríguez, C (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), 20-28. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- Tilley, J., Terry, R. A (1963). Two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.*, 18(2), 104-111.
- Torres, G., Arbaiza F., T., Carcelén C., F. & Lucas A., O. (2009). Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (celulasa) para estimar la digestibilidad de forrajes en ovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, RIVEP, 20(1), 5-9.
- Villarreal Gómez, A. y Ortega Angulo K. (2014). Revisión de las características y usos de la planta Moringa oleífera. *Investigación & desarrollo*, 22(2), 309-330. <http://www.scielo.org.co/pdf/indes/v22n2/v22n2a07.pdf>
- Wang, Y., Choo, H., Chen, Y., Yoo, J., Huang, Y., Kim, H., Kim, I. (2009). The effect of probiotic Bio-Plus 2B on growth performance, dry matter and nitrogen digestibility and slurry noxious gas emission on growing pigs. *Livestock Science*, 120(2), 35-42. doi: 10.1016/j.livsci.2008.04.018