



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA**

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**EFFECTO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN LA PRODUCCIÓN Y
CALIDAD DE LECHE DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN EN
CONDICIONES DE ESTRÉS CALÓRICO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

PRESENTA:

ISMAEL PONCE CANDELARIO



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

Bajo la supervisión de: Rufino López Ordaz, Ph.D



Junio 2011

Chapingo, Estado de México

**EFFECTO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD
DE LECHE DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN EN CONDICIONES DE
ESTRÉS CALÓRICO**

Tesis realizada por **ISMAEL PONCE CANDELARIO** bajo la dirección del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

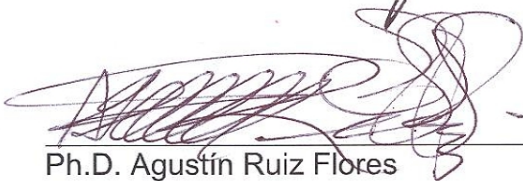
MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



Ph.D. Rufino López Ordaz

ASESOR:



Ph.D. Agustín Ruiz Flores

ASESOR:



Ph.D. José Guadalupe García Muñiz

DEDICATORIA

A la memoria de mi Padre

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo financiero para mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** por brindarme la oportunidad a los estudios de licenciatura y posgrado.

Al **Posgrado en Producción Animal** y a su planta de profesores que con esmero y esfuerzo han dejado en mí la semilla de la superación.

Al **Ph. D. Rufino López Ordaz** por guiarme en el campo de la ciencia; por los momentos de apoyo y sobre todo por la amistad que se forjó en mi estancia en el posgrado.

Al **Ph. D. Ignacio Tovar Luna** por los consejos y apoyo recibido en todo momento durante la fase de campo.

Al Ing. **José Jaimes Jaimes** por el apoyo y cooperación en mi estancia en el establo “18 de julio”.

Al **Ph. D. Agustín Ruiz Flores** por las observaciones vertidas en éste trabajo de investigación.

Al **Ph. D. José Guadalupe García Muñiz** por los consejos y apoyos durante la fase de campo y redacción de la tesis.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos Personales

Nombre: Ismael Ponce Candelario

Lugar de nacimiento: Tecamachalco, Puebla

CURP: POCI790422HPLNNS00

Profesión: Ingeniero Agrónomo
Especialista en Zootecnia

Cédula profesional: 5540846

Desarrollo Académico

Bachillerato: Colegio Unión y Progreso, 3 Norte N. 10, Tecamachalco, Pue.

Licenciatura: Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

Maestría: Maestría en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal.

EFFECTO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LECHE DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN EN CONDICIONES DE ESTRÉS CALÓRICO

CONTENIDO	Pág.
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Biología de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2
2.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y su acción en rumen	2
2.3 Mecanismo de acción de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la absorción de nutrimentos.....	4
2.4 Efecto de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la producción de leche	7
2.5 Efecto de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la reproducción.....	11
2.6 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y producción de ácidos grasos	11
2.7 Minerales orgánicos.....	15
2.7.1 Azufre (S)	17
2.7.2 Cobalto (Co)	19
2.7.3 Cobre (Cu)	21
2.7.4 Hierro (Fe)	22
2.7.5 Cromo (Cr)	22
2.7.6 manganeso (Mn)	24
2.7.7 Zinc (Zn).....	24
2.8 Literatura citada	26
3 EFFECTO DE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LECHE DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN EN CONDICIONES DE ESTRÉS CALÓRICO	34

3.1	Resumen	34
3.2	Introducción	36
3.3	Materiales y Métodos.....	37
3.3.1	Localización	37
3.3.2	Animales y tratamientos	37
3.3.3	Análisis estadístico.....	42
3.4	Resultados y discusión	44
3.5	Conclusiones	54
3.6	Implicaciones	54
3.7	Literatura citada	54
4	Anexo	58

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Producción de leche, pH, concentración de ácidos grasos volátiles y consumo de alimento de vacas Holstein-Friesian suplementadas con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4
Cuadro 2. Efecto de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , características del experimento, consumo de alimento y producción de leche de vacas que consumen dietas completas.....	10
Cuadro 3. Proporción de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe), tipo de experimento y concentraciones de acetato, propionato y butirato en vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.....	13
Cuadro 4. Efecto de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe) en peso vivo(PV), ganancia diaria de peso (GDP) y condición corporal (CC) de vacas complementadas en periodo de reto o producción	14
Cuadro 5. Dosis, acciones y resultados obtenidos con diversas fuentes de Selenio	18
Cuadro 6. Dosis y acción de azufre en vacas Holstein-Friesian utilizando fuentes orgánicas e inorgánicas.....	19
Cuadro 7. Dosis, acción y efectos en producción de leche en vacas Holstein-Friesian alimentadas con fuentes orgánicas e inorgánicas de Cobalto.....	20
Cuadro 8. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de Cobre en la alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.....	21
Cuadro 9. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de cromo en alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.....	23
Cuadro 10. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de Zinc en alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.....	26
Cuadro 11. Temperaturas máximas, mínima y media mensual registradas en el año 2009 en la estación meteorológica URUZA, Tlahualilo Dgo	43

Cuadro 12. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de etapa de reto, número de lactancias y edad de vacas, que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 (DC20) g de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe).	44
Cuadro 13. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de consumo de materia seca (CMS) en tres etapas diferentes y fase completa de vacas que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 g (DC20) de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe).	47
Cuadro 14. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de peso vivo (PV) y metabólico, condición corporal, ganancia diaria de peso (GDP) y peso de la cría de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 (DC20) g de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe).	49
Cuadro 15. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de leche, producción de grasa y proteína en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe) en dietas completas (DC).	50
Cuadro 16. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de componentes de leche en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe) en dietas completas (DC)	51
Cuadro 17. Medias ^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de días a primer celo y días a primer servicio en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe) en dietas completas (DC).	52
Cuadro 18. Medias ^z de cinética de fermentación y digestibilidad <i>in vitro</i> de 5 dosis de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , mediante fermentación de 24 h.	53

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Modo de acción de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la interacción de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y otros microorganismos ruminales.....	6
Figura 2. Interacción ruminal de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCe) con el mineral Fe unidos a la membrana de la levadura a través de receptores de membrana (FET3) y posterior ruptura de los enlaces covalentes (Fre1 y Fre2) por acción del líquido ruminal (Fuente: elaboración propia).	15
Figura 3. Diagrama descriptivo de la unión de levadura y minerales y sus funciones en el tracto gastrointestinal de bovinos (Fuente: elaboración propia).	16

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La adición de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) a dietas de vacas lecheras incrementa la producción de leche. El impacto de los cultivos de levaduras suministrado a vacas durante la lactancia ha sido estudiado en diversas condiciones de producción. Sin embargo, los resultados son contradictorios debido a la composición de la dieta, la cantidad del cultivo incluido y la fuente del cultivo de la levadura probado. Por ejemplo, la adición de 56.0 g de levaduras a la dieta de vacas al inicio de la lactancia afectó el consumo de materia seca (CMS), los cambios de peso corporal, la concentración ruminal de ácidos grasos volátiles, particularmente, el butirato y acetato (Desnoyers *et al.*, 2009). Otros estudios sugieren que la adición de *S. cerevisiae* incrementa la regulación del pH ruminal vía la reducción de la producción de ácido láctico (Williams *et al.*, 1991). Por tanto, la adición de la levadura al ambiente ruminal influye en la fermentación y sirve de apoyo al ecosistema, y como consecuencia, se mejora la adaptación del animal al manejo de dietas con alto contenido de grano.

Por otro lado, considerando el metabolismo acelerado de la vaca alta productora y con necesidades grandes por nutrimentos, posiblemente los nutrimentos más sensibles pueden ser los minerales. Por tanto, la adición de minerales orgánicos a levaduras pueden ser un aliado interesante para mejorar la absorción de nutrimento, la eficiencia alimenticia y el volumen de leche. Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento productivo y reproductivo de vacas Holstein-Friesian suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae* durante la lactancia y adicionada en dieta completa.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Biología de *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) es un hongo ascomiceto que ha sido ampliamente estudiado por su importancia en la industria panadera y vitivinícola. El hongo se adapta a diversas condiciones de estrés (Folch-Mallol *et al.*, 2004), y tiene cinco etapas de crecimiento cuando se cultiva en medios líquidos. El hongo SCe se alimenta de sustratos de carbohidratos como glucosa y sacarosa, es además, fuente de ácido fólico, biotina, niacina, y riboflavina. La levadura se produce de diversas formas, sin embargo, la más difundida es en medios de cultivo de melaza o malta con un mínimo de 5% de azúcares. En principio se extrae por medio de centrifugación, se lava y empaca para la venta, el contenido de humedad varía de 70.0 a 80.0%. En la actualidad, SCe se utiliza en la industria animal como complemento de las dietas para rumiantes y otras especies domésticas (Desnoyers *et al.*, 2009).

2.2 *Saccharomyces cerevisiae* y su acción en rumen

El rumen es la cámara de fermentación de los rumiantes y se caracteriza por un pH entre 5.5 y 7 y temperatura de 39 a 40 °C. Dichas características le proveen condiciones óptimas para el desarrollo de sistemas enzimáticos. En el rumen cohabitan diversos microorganismos incluyendo bacterias celulolíticas, hemicelulíticas, amilolíticas, proteolíticas, hongos y protozoarios. Las bacterias celulolíticas mesófilas más abundantes son *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*; mientras que, *Ruminobacter amylophylus* y *Selenomas ruminantium*, degradan almidón y en conjunto representan el 90% de la población de bacterias ruminales (Weimer, 1996).

Las bacterias tienen una tasa de digestión de celulosa adaptable a las condiciones ruminales. La tasa de digestión de las bacterias celulolíticas disminuye cuando el pH ruminal es inferior a 6 (Baldwin y Allison, 1983; Weimer, 1996).

Un hecho conocido en vacas es que tanto el equilibrio osmótico y pH se afectan con dietas altas en almidón y tiene un impacto en la reducción del número de bacterias como resultado de la producción de ácido láctico (Longuski *et al.*, 2009). El ácido láctico no sólo inhibe el crecimiento bacteriano sino también deprime el consumo de materia seca (CMS), reduce el pH y produce acidosis ruminal (Robinson y Erasmus, 2009).

Las bacterias ruminales requieren nitrógeno, minerales, vitaminas del complejo B y etanol para su funcionamiento (Desnoyers *et al.*, 2009). En el caso particular de las dietas para vacas en lactancia, el enfoque principal es el aporte de proteína y energía para el animal descuidando las posibles causas que perturben las condiciones ruminales.

En las dietas modernas para vacas lecheras algunos aditivos como los buffers son una opción para impedir descensos en pH y evitar posibles trastornos metabólicos como acidosis. Sin embargo, los aportes nutricionales a las bacterias ruminales serían inexistentes. Por otra parte, las levaduras favorecen el desarrollo de bacterias ruminales al aportar etanol y vitaminas del complejo B, necesarias para el desarrollo de éstas y además de ser promotor de bacterias que degradan lactato, lo que permite incrementar el pH (Longusky *et al.*, 2009; Desnoyers *et al.*, 2009).

El hongo *Saccharomyces cerevisiae* tiene efectos favorables en condiciones ruminales, como son, aumentar el pH en 0.5% y reducir 7.0% el ácido láctico contenido en el rumen (Cuadro 1). De la misma forma contribuyen de manera directa en la digestión de la fibra y haciendo simbiosis con microorganismos ruminales acelerando la digestión del sustrato ruminal y aumentando la eficiencia digestiva de la vaca (Lynch y Martin, 2002; Lehloenya *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Producción de leche, pH, concentración de ácidos grasos volátiles y consumo de alimento de vacas Holstein-Friesian suplementadas con *Saccharomyces cerevisiae*.

	N.Exp	N.T.	Tratamiento		Probabilidad
			Control	Levadura	
pH Ruminal	97.0	231.0	6.31	6.34	*
AGV, mM	77.0	177.0	95.2	97.3	**
Ácido láctico, mg L ⁻¹	16.0	38.0	1.2	1.1	NS
CMS, g (kg de PV) ⁻¹	47.0	114.0	34.6	35.0	*
PL, g (kg de PV) ⁻¹	59.0	136.0	46.5	47.7	**
Grasa en leche, %	57.0	131.0	3.8	3.8	NS
Proteína en leche, %	52.0	121.0	3.2	2.2	NS

Fuente: Desnoyers *et al.* (2009). AGV: Ácidos grasos volátiles (Acético, Propiónico y butírico); CMS: Consumo de materia seca; N.Exp: Número de trabajos experimentales; N.T.: Número de tratamientos; PV: Peso vivo; PL: Producción de leche; *: P<0.05; **: P<0.01; NS: No significativo.

2.3 Mecanismo de acción de *Saccharomyces cerevisiae* en la absorción de nutrientes

Las dietas de los rumiantes son abundantes en fibra procedente de dietas ricas en forrajes, la cual representa el sustrato de fermentación de las bacterias ruminales.

Los productos finales de la digestión y fermentación ruminal son energía en forma de ácidos grasos volátiles y compuestos nitrogenados transformados en proteína microbiana. Dichos productos se absorben en el tracto digestivo y se incorporan al metabolismo celular. El modelo de metabolismo intermediario considera la absorción de metabolitos de la sangre y su deposición en diferentes tejidos (Kebreab *et al.*, 2008). Los nutrientes que ingresan vía torrente sanguíneo incluyen al: propionato, acetato, butirato, ácidos grasos de cadena larga, glucosa y AA. El acetato, el butirato, y parte del propionato son metabolizados a CO₂ y glucosa, mientras que la mitad del glicerol se metaboliza como triestearina (estearato) y el remanente de propionato a C₆ (Mendoza *et al.*, 2008).

Los efectos de SCe se observan en los ácidos grasos volátiles al incrementar su concentración en rumen en 2.2% (Cuadro 1); por tanto, el uso de SCe favorece el desarrollo de bacterias y aumento de concentración de los productos de la fermentación.

En dietas de forrajes o concentrados, la fermentación del alimento llevada a cabo por las bacterias varía afectando la composición de la leche; por otra parte, los desbalances de pH influyen en tamaño y color de las papilas ruminales, las cuales son más pequeñas y claras conforme se incrementa la cantidad de grano en la dieta; esta situación reduce la absorción de nutrimentos (Nisbet y Martin, 1991).

El efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en la absorción de nutrimentos ha sido demostrado por Desnoyers *et al.* (2009), quienes observaron variaciones en los resultados de posibles efectos positivos. Por el contrario, otros estudios (Arambel y Kent, 1990; Piva *et al.*, 1993) reportaron efectos contradictorios por la adición de la levadura a las dietas de bovinos lecheros.

La adición de SCe en las dietas no sólo reduce el ácido láctico sino también incrementa las proporciones de propiónico y valérico. Estos últimos son utilizados por algunas bacterias para generar otros ácidos grasos de cadena larga (Miller-Webster *et al.*, 2002). Por otra parte, Longuski *et al.* (2009) observaron un incremento en el propionato y la disminución de acetato, sin dejar de reconocer al propionato como precursor de grasa en leche.

La adición de SCe a la dieta de los animales estimula el crecimiento de bacterias celulolíticas mediante la digestión de fibra, y tiene un incremento pequeño en la actividad ruminal de los animales, y esto a su vez afecta la producción de saliva (Longuski *et al.*, 2009). Por el contrario, Puttman *et al.* (1997) no observaron variaciones en pH y ácidos grasos cuando se suplementó con levaduras; sin embargo, en dietas con alto contenido de proteína se incrementó la disponibilidad de la misma y el pasaje de N al duodeno.

La adición de levaduras puede no interferir en la generación de confort ruminal; sin embargo, genera mayor disponibilidad de nutrientes (Desnoyers *et al.*, 2009); esto debido a que, *Saccharomyces cerevisiae* puede influir de manera indirecta en otras bacterias ruminales; tales como: *Streptococcus bovis*, *Lactobacilli spp*, *Megasphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium* (Jounay, 2006) propiciando de manera indirecta la formación de ácidos orgánicos, vitaminas del complejo B y aminoácidos, que estimulan el crecimiento de microorganismos favorables para la digestión de fibra y la producción de ácidos grasos volátiles (Callaway y Martin, 1997). Además, S*Ce* como efecto colateral contribuye a mantener estables las poblaciones de *Streptococcus bovis*, responsable de la formación de lactato, siendo éste el responsable de una baja en la absorción de nutrientes por parte de las papilas ruminales (Figura 1), como consecuencia de reducir su tamaño.

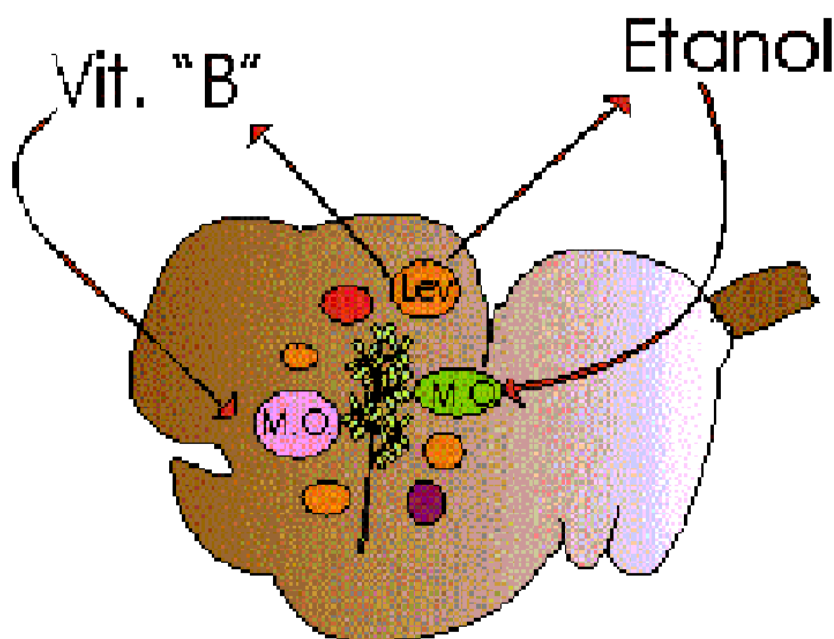


Figura 1. Modo de acción de *Saccharomyces cerevisiae* en la interacción de *Saccharomyces cerevisiae* y otros microorganismos ruminales.

2.4 Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de leche

Aproximadamente, 90.0% de los componentes de la leche se encuentran en la sangre y únicamente el 10.0% se sintetiza en la glándula mamaria a partir de *síntesis de novo* (Reynolds *et al.*, 1994). En las células epiteliales de dicha glándula se sintetizan varios compuestos de la leche incluyendo lactosa, proteína, ácidos grasos de la leche y otros compuestos desconocidos.

Lo anterior describe parcialmente las rutas fisiológicas que sigue el animal para la transformación del alimento en leche. En el proceso participan no solamente el estado fisiológico del animal sino también la calidad de la dieta, el consumo y la conjunción de ingredientes precursores de leche y el ambiente.

Los estudios relacionados con la adición de S_{Ce} se describen en el Cuadro 2 donde se observa que la adición de 10.0 g vaca⁻¹ d⁻¹ no sólo aumentó 33.0% en el volumen de leche sino también mejoró en 39.0% la grasa. Contrariamente, la adición de 20.0 g incrementó en 100% la proteína y mejoró el CMS. El incremento en el CMS fue 1.8 kg d⁻¹ (Kung *et al.*, 1997). Las respuestas en producción pueden variar dependiendo de la dosis utilizada, la composición de la dieta y la fuente del producto. En un estudio para determinar la cantidad apropiada, Soder y Holden (1999) utilizaron una dosis intermedia de 15 g y observaron un incremento de 66.0 y 69.0% en producción de leche y grasa en leche respectivamente; también se observó una reducción de la proteína en leche de 0.9 kg d⁻¹ en comparación a la dieta control. Lo anterior, se relacionó con la simbiosis entre microorganismos ruminales y su interacción en dietas con proporciones iguales de forraje y concentrado. Los efectos positivos de S_{Ce} también dependen de otros factores como la edad de la vaca, la etapa de la lactancia y la fuente de extracción del producto. Por ejemplo, Kung *et al.* (1997) observaron que la complementación de S_{Ce} a vacas de primer parto tuvo un impacto menor en el comportamiento de las mismas; por el contrario, las dosis

idénticas mejoran la producción, la calidad de la leche y el CMS en vacas de segunda o más lactancias.

La cantidad de SCe incluida en las dietas son más efectivas en dietas mezcladas de forraje:concentrado 50:50; contrariamente, la adición de 60.0 g y 60.0% de concentrado en la dieta promovió un descenso de 3.8 y 1.5 kg en la producción de leche y el CMS, respectivamente (Wang *et al.*, 2001). Los mismos autores observaron que la dieta con 50.0% de concentrado tuvo efectos positivos en todos los indicadores productivos; la grasa y proteína en leche incrementan en 0.7 unidades porcentuales. La mejoría en los indicadores productivos se explica parcialmente porque la levadura de SCe pre-digiere la fibra, por tanto, las dosis de SCe requieren cantidades correspondientes de fibra.

Adicionalmente, SCe también influye en el patrón de fermentación ruminal. Los distintos niveles de digestión de la fibra promueven la producción de concentraciones molares diferentes de los ácidos grasos volátiles comunes del rumen. Lynch y Martin (2002) indicaron que la complementación de SCe de 0.35 o 0.73 g L⁻¹ tuvo efectos en el pH, las concentraciones de H₂, CH₄, propionato y butirato; ambas concentraciones de SCe disminuyen el nivel de acetato y cambiaron la relación acético propiónico. Por otra parte, Sullivan y Martin (1999) concluyeron que la incorporación de SCe a los microorganismos que fermentan grano de maíz, maltosa o lactato tiene poco efecto en el pH final. Sin embargo, la adición de heno de alfalfa y SCe incrementa las concentraciones de propionato, butirato y la digestión de la fibra.

Bruno *et al.* (2008) observaron que cuando se adicionó 30 g de SCe en las dietas, las vacas aumentan su producción en 1.2 kg de leche d⁻¹, también produjeron más sólidos no grasos y lactosa que las vacas que consumen dietas sin SCe, sin embargo, cuando la producción se corrigió por el contenido de energía, no se observaron diferencias en los niveles de proteína verdadera,

sólidos no grasos y la producción de leche entre ambos tratamientos (Cuadro 2).

Algunos resultados son inconsistentes debido a la confusión promovida por los tipos de dieta, el origen de la levadura y las concentraciones utilizadas en los diferentes estudios. Sin embargo, Longuski *et al.* (2009) mencionaron que el incremento de grasa en leche utilizando *Saccharomyces cerevisiae* en dietas con 17% FDN se asocia con una mayor fermentación ruminal.

Cuadro 2. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae*, características del experimento, consumo de alimento y producción de leche de vacas que consumen dietas completas.

SCe	Duración experimento, d	del	Núm.	Incremento en leche y sus componentes			CMS ^z	Rel. ^y	Observaciones ^z	Referencia
g vaca- ¹ d ⁻¹			vacas	Leche (kg/d)	Grasa (%)	Proteína (kg d ⁻¹)	Kg/d	C:F		
10.0	28		18	+0.9	+0.31	+0.04	0.0	50:50		Kung <i>et al.</i> , 1997
20.0	28		18	+0.6	+0.19	+0.08	+1.8			
15.0	120									
	28 d preparto			+1.5	+1.0	-0.05	+ 0.7	53:47	PC: 16.5 FDN: 33.2	Soder y Holden, 1999
60 (BFDN)	160 d			-1.0	+0.1	+0.1	+0.4	61:39	El autor utilizó dos niveles de fibra alto (AFDN) y bajo BFDN	Wang <i>et al.</i> , 2001
60 (AFDN)				+2.8	+0.03	+0.03	+1.9	52:48		
56.0 (GS)	28 d		8	+0.4	+0.02	0.0	+0.2	59:41	El experimento se utilizaron 2 fuentes de granos GS: Granos Secos y GH: Granos Húmedos PC:16.1;FDN:24.6	Longuski <i>et al.</i> , 2009
56.0 (GH)	96 DEL		8	+3.8	+0.28	+0.02	+0.6			
30.0	120		723	+1.2	+0.11	-0.02	-0.2	55:45		Bruno <i>et al.</i> , 2008
6.0	120		42	+1.5	+0.14	+0.04	+ 0.6	68:32	PC 16.5; FDN 16	Moallem <i>et al.</i> , 2009
12.0 (SE)	28		33	-3.7	+0.02	+0.08	-1.4	40:60	SE: Sin estrés calórico	Thrune <i>et al.</i> , 2009
12.0 (CE)	28		33	-2.8	-0.06	-0.1	-1.0	40:60	CE: Con estrés calórico	

^z,CMS: Consumo de Materia Seca.

^y Rel. F:C: Relación concentrado Forraje.

^x.CP: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutro;

2.5 Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en la reproducción

Al inicio de la lactancia, la glándula mamaria de la vaca lechera demanda dos o tres veces más nutrimentos comparado con otras etapas de la lactancia, y frecuentemente, este fenómeno se asocia con un balance de energía negativo, niveles reducidos de glucosa y β -hidroxibutirato y concentraciones elevadas de ácidos grasos no esterificados (Boland y Lonergan, 2003).

Rivas *et al.* (2006) observaron el efecto de la complementación con S_{Ce} de vacas Holstein-Friesian y Corora y observaron un inicio más rápido de la actividad ovárica, 28 d menos en intervalo a la formación de cuerpo lúteo; además, presentaron su primer cuerpo lúteo cinco d antes que el grupo control y un menor intervalo a primer servicio (5.0%). Los mismos autores concluyeron que el uso de la levadura tiene efectos sobresalientes en las primeras 15 semanas de lactancia. Esto se atribuyó a los beneficios de S_{Ce} en el rumen y al incremento en CMS.

Por el contrario, Bruno *et al.* (2008) no observaron efecto alguno de la adición de S_{Ce} en la eficiencia reproductiva de los animales. La falta de efecto tuvo aparentemente una confusión debido a que en el estudio no se controlaron los efectos ambientales. Sin embargo, los beneficios de *S. cerevisiae* se ven reflejados en reducción de la incidencia de laminitis en vacas lecheras consumiendo dietas completas.

2.6 *Saccharomyces cerevisiae* y producción de ácidos grasos

El Cuadro 3 muestra la variación en concentración de ácidos grasos volátiles cuando se utilizan diferentes dosis de S_{Ce}. Las dosis utilizadas por Puttman *et al.* (1997) fueron de 10.0 g variando la proteína en la dieta; los autores observaron que propiónico, butírico y la relación acético:propiónico es menor cuando se utilizan dietas altas en proteína. Por otra parte, cuando la dieta contiene un nivel bajo de proteína, la relación acético:propiónico se incrementa

en 1.0%. Contrariamente, cuando se utilizan granos húmedos de maíz y 56.0 g de levadura se observa un incremento en la concentración de acético, butírico y la relación acético:propiónico. Con base en lo anterior, es posible inferir que SCe es mejor aprovechada donde las dietas son bajas en proteína y contienen sustratos fermentables fácilmente, como el caso del grano húmedo de maíz (Cuadro 3). Por otra parte, los estudios de fermentación *in vitro* de Miller-Webster *et al.* (2002) demostraron que SCe en forma de células vivas produce mayor concentración de propionato y SCe en forma de células liofilizadas mejora la concentración de acetato, propionato y butirato (Cuadro 3). Lo anterior indica un mejor comportamiento de SCe en forma de cultivo liofilizado que en forma de células vivas no liofilizadas.

Cuadro 3. Proporción de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe), tipo de experimento y concentraciones de acetato, propionato y butirato en vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.

SCe (g vaca ⁻¹ d ⁻¹) ^z	Duración del experimento	Núm.. vacas	Ácidos Grasos Volátiles (mM)					pH	Rel. ^y C:F	Observaciones ^x	Referencia
			Acetato	Propionato	Butirato	A:P	Total				
10 (BPC)	100	8	-0.31	-0.3	-0.11	+0.1		+0.01	66:44		Puttman <i>et al.</i> , 1997
10 (APC)	100	8	-0.4	-0.2	-0.5	-0.2		0			
57 (SCV)	Fermentación <i>In Vitro</i>		-10.2	+11.6	-2.1	-1.34	+56	-0.13	53:47	SCV: Células Vivas	Miller-Webster <i>et al.</i> , 2002
57 (SCM)			-4.1	+3.2	+0.6	-0.46	+28	+0.07		SCM: Células Muertas liofilizadas	
0.35 g/l (SCM)			-2.0	-1.2	-0.9	+0.13		+0.06			Lynch y Martin, 2002
0.75 g/l (SCM)	Fermentación <i>In Vitro</i>		-1.1	-0.1	+0.3	-0.1		-0.04			
0.35 g/l (SCV)			-5	-1.7	-1.1	-0.16		+0.06			
0.75 g/l (SCV)			-4.8	-1.7	-1.1	-0.19		+0.03			
0.5	344	8	-0.5	-0.1	-0.7	+0.02	-153	+0.21	60:40	PC: 17%; FDN:27.7	Thrume <i>et al.</i> , 2009
56 (GS)	28	8	+0.7	-0.6	+1.2	+0.07	+1.5	0		GS: Granos secos	Longuski <i>et al.</i> , 2009
56 (GH)			+1.3	-0.9	+3.5	+0.12	+3.8	-0.13		GH: Granos Húmedos	

^zBPC: dieta baja en proteína; APC: Dieta alta en proteína; SCV: células vivas de *S. cerevisiae*, SCM: células muertas de SCe liofilizadas; A:P; Relación acético : Propiónico.

^yRel. C:F: Relación concentrado: Forraje.

^xPC: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutro.

Cuadro 4. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) en peso vivo(PV), ganancia diaria de peso (GDP) y condición corporal (CC) de vacas complementadas en periodo de reto o producción.

Autor	SCe (g d ⁻¹)	Vaca ^w	PV		Complementación ^y			p ^x		
			PV, ↑↓ % ^z	GDP, ↑↓ %	CC, ↑↓ %	Reto, d	Pdn, d	pv	GDP	CC
Robinson, 1997	50.0	H-F	0.8	89.0	0.3	21.0	28.0	0.79	0.11	0.01
Wohlt <i>et al.</i> ,1998	10.0	H-F	-0.6	NP	-0.3	30.0	28.0	0.33	NP	0.82
Wohlt <i>et al.</i> , 1998	20.0	H-F	-2.5	NP	0.0	30.0	28.0	0.36	NP	0.62
Robinson y Garrett, 1999	57.0	H-F	3.4	-70.0	-2.5	23.0	26.0	0.33	0.30	0.15
Soder y Holden, 1999	15.0	H-F	2.0	75.0	-2.0	28.0	105.0	0.93	0.16	0.83
Dann <i>et al.</i> , 2000	60.0	Jersey	4.0	4.3	4.4	21.0	140.0	0.02	0.04	0.12
Wang <i>et al.</i> , 2001	60.0	H-F	3.4	-40.0	NP	21.0	110.0	0.31	0.68	NP
Schingoethe <i>et al.</i> , 2004	60.0	H-F	-2.1	NP	1.3	0.0	120.0	0.34	NP	0.77
Longuski <i>et al.</i> ,2009	56.0	H-F	NP	-35.0	-62.5	0.0	96.0	NP	0.69	0.50
Shwartz <i>et al.</i> , 2009	10.0	H-F	-5.0	NP	-11.7	0.0	120.0	0.01	NP	0.01
Ramsing <i>et al.</i> , 2009	57.0	H-F	3.7	NP	NP	21.0	21.0	0.43	NP	NP
Ramsing <i>et al.</i> , 2009	227.0	H-F	0.4	NP	NP	21.0	21.0	0.26	NP	NP
Hippen <i>et al.</i> , 2010	14.0	H-F	-0.3	NP	-0.9	0.0	120.0	0.78	NP	0.88

^zIncremento o decremento en PV y CC.

^yEtapa de complementación de SCe; Reto: etapa previa a parto; Pdn; etapa posterior a parto.

^xProbabilidad.

^wH-F Holstein-Friesian

2.7 Minerales orgánicos

Los minerales orgánicos se forman por uniones covalentes con compuestos proteínicos, aminoácidos o levaduras (Figura 2). La unión con dichos compuestos puede ser natural o artificial, y una de sus funciones es mejorar la absorción de minerales en el tracto gastrointestinal (Kincaid y Scocha, 2004). Los minerales orgánicos mejoran el funcionamiento del sistema inmunológico, el crecimiento, la eficiencia alimenticia, la producción de leche, el desempeño reproductivo y la reducción de células somáticas en leche (Campbell y Miller, 1998; Arthington *et al.*, 2003; Kincaid y Socha, 2007). En adición, la excreción de minerales trazas disminuye cuando los minerales se usan en forma de complejos (Nocek *et al.*, 2006).

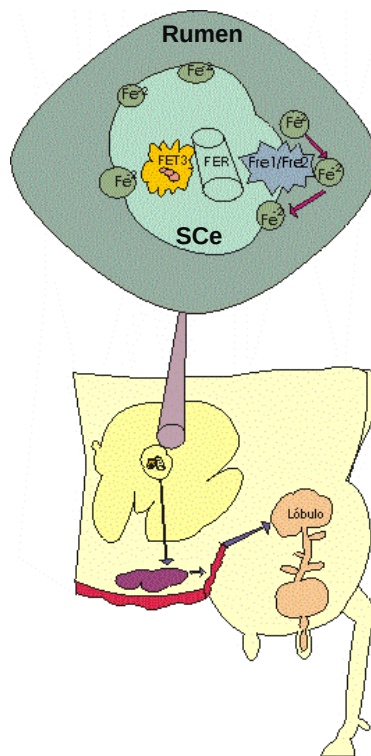


Figura 2. Interacción ruminal de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) con el mineral Fe unidos a la membrana de la levadura a través de receptores de membrana (FET3) y posterior ruptura de los enlaces covalentes (Fre1 y Fre2) por acción del líquido ruminal (Fuente: elaboración propia).

Los complejos minerales orgánicos constan de la unión de un agente quelatante, que puede ser un AA, otra levadura u otro compuesto de origen orgánico e impactan positivamente en la producción de leche. Los incrementos varían de 4.6 a 6.0% (Tomlinson *et al.*, 2002); también se observó efectos positivos en la reproducción; por ejemplo, los servicios por concepción disminuyen en 13.6%, los días a primer servicio en 8.6% y los días abiertos en 2.2% en vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas (Nocek *et al.*, 2006).

Los minerales unidos a *Saccharomyces cerevisiae* se separan en el rumen debido al rompimiento de un enlace covalente formado entre mineral y levadura (Wood, 1998), el mineral sigue su curso a intestino, mientras que la levadura produce etanol y vitaminas del complejo B (Figura 3). Actualmente los productos comerciales han conseguido la unión de minerales con levaduras. Debido a esto, el presente documento discute la relación de S_{Ce} con minerales como Selenio, Azufre, Cobalto, Cobre, Hierro, Cromo, Manganeso, Iodo y Zinc.

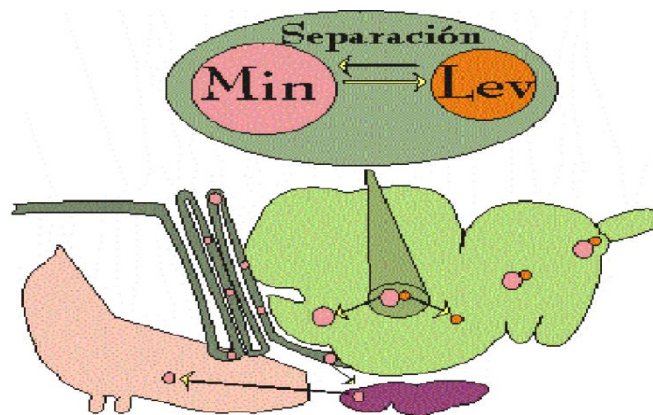


Figura 3. Diagrama descriptivo de la unión de levadura y minerales y sus funciones en el tracto gastrointestinal de bovinos (Fuente: elaboración propia).

2.7.1 Selenio (Se)

El Se se incluye en la dieta de los animales debido a que forma parte de varias enzimas del metabolismo, por ejemplo, es parte de glutatión peroxidasa y como ejecutor en la transformación de peróxidos a agua. El Se también interviene en la conversión de la hormona Tiroxina (T4) a Triiodotironina (T3). En un estudio de revisión, Ceballos *et al.* (2009) indicaron que la adición de Se orgánico unido a levaduras es mejor utilizado en metabolismo y mejor transferido a leche que cunado se encuentra en formas inorgánicas. Las fuentes orgánicas de Se ligado a levaduras aumenta la absorción de 50 a 60% en intestino delgado. La dosis recomendada de Se es de 0.35 a 0.40 mg kg⁻¹ de MS para vacas lecheras (NRC, 2001).

En los últimos años, el selenio cobró importancia en el área reproductiva; debido a que éste mineral forma parte de las llamadas seleno-proteínas, las cuales se encuentran en el aparato reproductor de la hembra y macho y contribuyen con la disminución de radicales libres, responsables de daños en espermatozoides y óvulos afectando su viabilidad; además, el selenio contribuye a la reducción de retención placentaria, así como menores días a primer servicio (Harrison *et al.*, 1984).

2.7.2 Azufre (S)

Otro mineral que se une a levaduras es el S, cuya importancia radica en ser parte esencial de aminoácidos como metionina, cistina, homocisteina, y taurina. Aparentemente, también participa en la regulación ácido base del animal. La absorción de S se realiza en el tracto gastrointestinal del animal cuando las bacterias pasan a intestino donde el transporte se realiza en forma activa (Suttle, 1999).

Cuadro 5. Dosis, acciones y resultados obtenidos con diversas fuentes de Selenio.

Dosis	Acción	Conclusión	Referencia
0, 10.0, 20.0, y 50.0 nM SeMet	Glutation peroxidasa y células epiteliales de la glándula mamaria de bovinos	Glutation peroxidasa x1 y x2 sintetizadas por células epiteliales de glándula mamaria las cuales tienen mejor desarrollo con SeMet, proporcionando el mineral de forma más asimilable.	Miranda (2009)
3.0 mg d ⁻¹	Sales aniónicas tienen efecto negativo sobre Se.	Sales aniónicas principalmente S, no afectan la absorción de Se. Las mezclas aniónicas con Cl y S para disminuir Hipocalcemia en vacas peri-parturientas se les puede agregar Se.	Gant <i>et al.</i> (1998)
0.2 ppm		La adición de Se en dieta disminuye la incidencia de retención placentaria.	Brozos <i>et al.</i> (2009)

El S es utilizado en mezclas minerales aniónicas con el propósito de aumentar la relación anión:catión y disminuir la incidencia de hipocalcemia en vacas. Lo que demuestra que la menor concentración de Ca y K en vacas parto y una fuente de S disminuye la incidencia de fiebre de la leche (Roche *et al.*, 2002).

Los compuestos azufrados tienen importancia en bacterias ruminales cuando utilizan aminoácidos con S en diferentes etapas de la digestión. La metionina tiene mayor relevancia en la producción lechera al actuar en la síntesis de componentes de la leche en la glándula mamaria. Sin embargo, metionina disminuye el CMS cuando se utiliza de 12.0 a 24.0 g; esto es atribuible a la disminución en la disponibilidad del aminoácido (Cuadro 6).

Cuadro 6. Dosis y acción de azufre en vacas Holstein-Friesian utilizando fuentes orgánicas e inorgánicas.

Dosis	Acción	Conclusión	Referencia
	Las combinaciones con metionina y S; este último, se absorbe por bacterias y para síntesis de proteína microbiana.	La metionina es utilizada por bacterias ruminales., la complementación de compuestos de S-Met aumentan la producción de leche. Sin embargo, la complementación de 12 a 24 g d ⁻¹ deprimen el consumo de MS en Ovinos	Suttle (1999)
0.2% de MS	Los microbios del rumen utilizan fuentes de S para la síntesis de AA, en forma de sulfato, sulfito o cisteína. 0.15% de peso corporal es S.	Fuentes de S-Met son utilizadas cuando los aportes de metionina a la dieta son deficientes. El S suplementado como sulfato de Ca, Na, K o Mg con niveles de 0.2% de la dieta es adecuado para mantener una buena retención de S.	NRC (2001)

2.7.3 Cobalto (Co)

El Co es componente principal de vitamina B₁₂ (Cobalamina) que es producida por bacterias ruminales. En excesos de cobalto los microorganismos producen un análogo de vitamina B₁₂ que impide el metabolismo de la misma, como resultado se obtienen signos visibles de deficiencia.

Cuadro 7. Dosis, acción y efectos en producción de leche en vacas Holstein-Friesian alimentadas con fuentes orgánicas e inorgánicas de cobalto.

Dosis	Acción	Producción	Conclusión	Referencia
9.0 mg d ⁻¹ ; vacas: 21 d preparto a 120 posparto	Síntesis de vitamina B ₁₂ . La complementación con Co incrementará el Co en suero sanguíneo	¹ . Utilizar cantidades medias y altas de Co reduce el consumo de materia seca en 6% ² . Utilizar cantidades altas se incrementa la cantidad de grasa en 6.25% respecto a cantidades bajas. ³ . La producción de leche se reduce 4.6% con cantidades medias. No hay efecto con dosis altas y bajas.	La complementación de Co no influyó en el Co sanguíneo. En vacas adultas la concentración de Co disminuye debido a baja absorción intestinal.	Kincaid <i>et al.</i> , 2003
0.15, 0.89, 1.71 mg kg ⁻¹ ms. 36 vacas posparto a 120 días en leche	Síntesis de vitamina B ₁₂ en rumen. Al incrementar Co en pre- parto incrementa la concentración en leche en período posparto	¹ . Los niveles de Co no influyeron la PL, El CMS disminuyó 7.9 % en dosis altas respecto a medias y bajas. ² . El porcentaje de grasa incrementó en 3.4% para dosis altas con respecto al promedio de dosis medias y bajas. ³ . La producción de leche se incrementó 1.63 para dietas altas y medias en comparación a dietas bajas en Co.	Suplementar Co preparto ayuda a aumentar la concentración de B ₁₂ en calostro y leche. En vacas sin complementación adicional antes del parto	Kincaid y Socha, 2007
26.0 mg de Co glucoheptanoato 125.0 mg de Cu como Cu-Lys 199.0 mg de Mn como Mn-Met, y 359.0 mg de Zn como Zn-Met	Complementar compuestos minerales unidos a aminoácidos reduce la incidencia de desórdenes reproductivos.	¹ . Reducción de días a primer servicio en 10.8% cuando se utilizan complejos minerales, de la misma forma un descenso en días abiertos de 14.4% ² . Retención de membranas fetales fue 39.3% mayor en comparación a dietas control.	Los complejos minerales influyen positivamente en los eventos reproductivos que en productivos, aunado a mejora en los niveles de insulina, lo que garantiza la habilidad para mantener la preñez.	Campbell y Miller, 1998

La vitamina B₁₂ es utilizada por enzimas como las metiltransferasas y para síntesis de lactato y metionina (Suttle, 1999). La absorción se realiza en tracto intestinal. Además, la deficiencia de Co ocasiona reducción en fertilidad, producción de leche y aumento de mortalidad de becerros (Tomlinson *et al.*, 2002). Las dosis utilizadas de Co tienen un rango de 9.0 a 199.0 mg en vacas adultas durante la lactancia, su principal efecto es aumentó de vitamina B₁₂ en torrente sanguíneo y mejorar los eventos reproductivos, principalmente cuando se utiliza 199.0 mg de Mn-Met (Cuadro 7).

2.7.4 Cobre (Cu)

El Cu es componente estructural de varias enzimas incluyendo citocromo oxidasa, tirosinasa, y superoxidasa; que son esenciales en el transporte de electrones durante fases aerobias. Además, tiene funciones ligadas al Fe para la formación de hemoglobina.

Cuadro 8. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de cobre en la alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.

Dosis	Acción	Conclusión	Referencia
1)10.0 ppm de Cu forma orgánica; 2) 10.0 ppm Cu en Tri-basico Cu (TBCC); 3) 30.0 ppm de Cu en TBCC; y 4) 30.0 ppm of Cu, a 50:50	Dietas con melaza y forraje la fuente de forraje aporta S la absorción de Cu es limitada.	Las fuentes orgánicas de Cu son mejor aprovechables en dietas con antagonistas del Cu, mejoran el CMS	Arthington <i>et al.</i> , 2003
20.0 ppm de sulfato de Cu	La complementación de Cu está directamente relacionado con el sistema inmune	Al suplementar con 20 ppm de sulfato de Cu: conteo de células somáticas disminuye, a la vez, severidad en los casos de mastitis ocasionada por <i>E. coli</i> .	Scaletti <i>et al.</i> , 2003

Las fuentes de Cu unidas a compuestos proteínicos y aminoácidos han sido ampliamente utilizadas para mejorar la absorción del Cu en intestino delgado demostrando ser más asimilables que las fuentes inorgánicas (NRC, 2001). La absorción de Cu se relaciona con S, Mo, y Se, dificultando la absorción postruminal por pinocitosis. Los niveles altos de Mo en la dieta ocasionan hipocupremia, lo que influye en la liberación de hormonas como LH y FSH. Dicho efecto altera la actividad reproductiva en rumiantes y se asocia con pérdidas embrionarias (Tomlinson *et al.*, 2002).

El Cu se usa en dietas de vacas en lactancia con la finalidad de mejorar la inmunidad, las dietas con 20.0 ppm de Cu han demostrado disminuir los casos de mastitis y la severidad de los mismos, por otra parte, las dosis de 33 mg han modificado las características de grasa en leche modificando ácidos grasos y por tanto sabores en leche (Cuadro 8).

2.7.5 Hierro (Fe)

El Fe es indispensable para la síntesis de proteínas como hemoglobina y mioglobina, las enzimas de transporte de electrones como citocromo oxidasa, mieloperoxidasa, catalasa y algunas otras que utilizan a Fe como co-factor. El Fe es absorbido principalmente en intestino delgado y las dosis recomendadas es 18.0 mg d⁻¹ para vacas gestantes y en lactancia 24.0 mg kg⁻¹ de MS. Sin embargo, Fe es un mineral de absorción variable controlado por la mucosa del intestino, cuando se suplementa de forma inorgánica puede formar complejos con aminoácidos y dificultar su absorción la cual está en función a las demandas del organismo del animal (NRC, 2001).

2.7.6 Cromo (Cr)

El Cr se relaciona con el metabolismo de carbohidratos, específicamente de glucosa, además se relaciona con insulina y el factor de tolerancia a la glucosa (FTG); en donde el rol del Cr es mejorar la comunicación entre insulina y los

receptores de membrana, y en conjunto a FTG incrementan el flujo de insulina al interior de la célula. (Hayirli *et al.*, 2001)

El CMS y la producción de leche aumentan cuando se utiliza 0.06 mg de Cr en la dieta. Por el contrario, las dosis de 8.0 mg o superiores de Cr muestran tendencia a disminuirlo (Cuadro 9). Los complejos minerales como Cr-Picolinato; Cr-Met; Cr-Levaduras han demostrados ser 10% mejor absorbibles por la vaca que fuentes inorgánicas de este mismo mineral (Hayrill *et al.*, 2001)

Cuadro 9. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de cromo en alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.

Dosis	Acción	Producción	Conclusión	Referencia
0, 0.03, y 0.06 mg kg de Cr PV ^{0.75}	Metabolismo de carbohidratos	La PL incrementa de forma lineal al incrementar Cr en dieta. ² . Conteo de células somáticas incrementa en 39.4% al utilizar 0.06 mg de Cr mostrando una tendencia lineal positiva. ³ . La dieta con 0.06 mg reduce los trastornos metabólicos. La cetosis incrementa con su inclusión.	La complementación en el parto aumenta el CMS y la PL	Smith <i>et al.</i> , 2005
0.8 mg/kg de Cr, como Picolinato	Metabolismo de carbohidratos y lípidos		No influye en ácidos grasos volátiles ni en el patrón de fermentación	Besong <i>et al.</i> , 2001
0, 0.03, 0.06, y 0.12 mg de Cr-Met/kg de PV ^{0.75}	Componente del factor de tolerancia de la glucosa	¹ . El CMS incrementó 12.8% con el nivel alto. . ² . La ganancia diaria de peso, producción de leche y porcentaje de grasa y proteína fueron mejores con 0.06 mg de Cr orgánico.	Influye en el CMS y la PL debido a la relación existente con insulina y glucosa	Hayirli <i>et al.</i> , 2001

2.7.7 Manganeso (Mn)

El Manganeso forma parte de la enzima Mn-superóxido dismutasa y también actúa en conjunción con antioxidantes para evitar la acumulación de agentes reaccionantes con oxígeno, y en consecuencia daños a las células. A su vez forma parte de otras enzimas galactotransferasa y glicosiltransferasa. Dichas enzimas están relacionadas con la formación de cartílago y síntesis de colesterol. La deficiencia de Mn altera ciclos reproductivos ocasionando cuerpo lúteo persistente y anestro en mamíferos, así como impide formación de hormonas sexuales. El Mn presenta la mayor concentración en la matriz ósea y en menor grado en forma libre. La concentración recomendada en la dieta de los animales va de 10.0 a 24.0 mg/kg de materia seca (NRC, 2001).

La absorción de Mn es baja, alrededor de 10.0% y se relaciona con la fuente de forraje y minerales presentes en la dieta como Ca o P, para lo cual, el uso de fuentes orgánicas, especialmente aminoácidos, demuestra aumentar la absorción de Mn en 30%(Suttle, 1999).

En un estudio con vacas Holstein-Friesian, Weiss y Hogan (2005) estudiaron el uso de fuentes orgánicas de Mn con 200 mg de Mn-Met y fuentes inorgánicas a niveles de 0.62 g de MnSO_4 ; y concluyeron que no hubo efecto alguno en la absorción del mineral independientemente de la forma de suministrarlo.

2.7.8 Zinc (Zn)

El Zn forma parte de metaloenzimas como Cu-Zn super-óxido dismutasa, anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, carboxipeptidasa y fosfatasa alcalina, entre otras. Además, Zn presenta efectos en el metabolismo de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La absorción de zinc se realiza en intestino delgado y es de 16.0 a 50.0%, dependiendo la dosis. Los requerimientos de Zn están en función del animal y la etapa fisiológica, para el caso de vacas lecheras la dosis recomendada es 480.0 a 800.0 mg por día (NRC, 2001).

Cuadro 10. Dosis y acción de fuentes orgánicas e inorgánicas de Zinc en alimentación de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas.

Dosis	Acción	Conclusión	Referencia
60, 150 y 300 ppm d ⁻¹ de Zn como Zn- Met y Zn- Lys 300 ppm de Zn en la forma de ZnO	Altas concentraciones inhiben el sistema inmune	Dosis de 300 ppm de zinc no causa daño por toxicidad, ni inhibe el sistema inmune. Zn- unido a Lys y Met retención en suero sanguíneo. Zn no influyó en CMS	Kincaid <i>et al.</i> , 1997
0.8 g d ⁻¹ de Zn (Zn-Met y ZnSO ₄), y 12 g de Fe (FeSO ₄ ·7H ₂ O) para Holstein-Friesian y 9 g para Jersey.	Zn y Vit E reducen la retención placentaria, y los días al primer servicio	La retención placentaria no se incrementó al aumentar dosis de Fe y no disminuyó al incrementar Vit E y Zn. Los días abiertos disminuyen así como días de espera voluntaria.	Cambell <i>et al.</i> , 1998
1) 75% Complejo (Zn, Mn, Cu, y Co) ; 2) 100% inorgánico (100I): Zn, Mn, Cu, y Co 100%; 3) 100% complejos : Zn, Mn, Cu, y Co; y 4) complejos inorgánicos: Zn y Cu	Influyó el CMS, reducción de mastitis y salud de los animales	Formas orgánicas e inorgánicas tienen efectos similares en PL. Las formas orgánicas mejoran la absorción de la dieta y la fertilidad	Nocek <i>et al.</i> , 2006

Las formas comunes de Zn son oxido de Zn y sulfato de Zn; la absorción es de 44.0 a 78.0%, existen formas alternas llamadas orgánicas unidas a metionina, lisina picolinato entre otras. Estas últimas no tienen diferencias significativas con las fuentes inorgánicas (Suttle, 1999). Las deficiencias de Zn tiene efecto negativo en la tasa de concepción, aumento en retención placentaria e inhibición de maduración de espermatozoides (Tomlinson *et al.*, 2002).

En los últimos años el mineral Zn ha tenido mayor importancia en el mejoramiento de los eventos reproductivos, las fuentes de Zn son orgánicas e inorgánicas y su mayor diferencia radica en la absorción y concentración de este mineral. Las fuentes orgánicas de Zn son más absorbibles en el tracto gastrointestinal y tienen un efecto positivo en la fertilidad de vacas en lactancia a dosis de 8 mg d⁻¹ de Zn Met (Cuadro 10).

2.8 Literatura citada

Arambel, M. J., and B. A. Kent. 1990. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early to midlactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 73: 1560-1563.

Arthington J. D., F. M. Pate, and J. W. Spears 2003. Effect of copper source and level on performance and copper status of cattle consuming molasses-based supplements. *Journal of Animal Science* 81: 1357-1362.

Baldwin R. L., and M. J. Allison. 1983. Rumen metabolism. *Journal of Animal Science* 57: 461-477.

Besong S., J. A. Jackson, D. S. Trammell, and V. Akay. 2001. Influence of supplemental chromium on concentrations of liver triglyceride, blood metabolites and rumen VFA profile in steers fed a moderately high fat diet. *Journal of Dairy Science* 84: 1679-1685.

Boland M., and P. Lonergan. 2003. Effect of nutrition on fertility in dairy cows. *Advances in Dairy Technology*: 15:19-25.

Brozos C. N., E. M. Kiossis, P. Georgiadis, S. Piperelis, and C. Boscós. 2009. The effect of chloride ammonium, vitamin E and Se supplementation throughout the dry period on the prevention of retained fetal membranes, reproductive performance and milk yield of dairy cows. *Livestock Science*

124: 210-215.

- Bruno R. G., S. H. Rutigliano, R. Cerri, L. P. H. Robinson, J. Santos E. 2008. Effect of feeding yeast culture on reproduction and lameness in dairy cows under heat stress. *Animal of Reproduction Science* 113: 11-21.
- Callaway E. S., and S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digester cellulose. *Journal of Dairy Science* 80: 2035-2044.
- Campbell M. H., and J. K. Miller. 1998. Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *Journal of Dairy Science* 81: 2693-2699.
- Ceballos A., J. Sánchez, H. J. Stryhn, B. H. Montgomery, W. Barkema, and J. J. Wichtel. 2009. Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. *Journal of Dairy Science* 92: 324–342.
- Dann, H. M., J. K. Drackley, G. C. McCoy, M. F. Hutjens, and J. E. Garrett. 2000. Effects on yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *Journal of Dairy Science* 83: 123-127.
- Desnoyers M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science* 92: 1620-1632.
- Folch-Mallol, J., L., A. Garay A., y A. Lledías C. 2004. La respuesta al estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 46: 1-22.

- Gant R. G., W. Sanchez, and L. L. Kincaid. 1998. Effect of anionic salts on selenium metabolism in nonlactating, pregnant dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 81: 1637-1642.
- Harrison, G. A., R. W. Hemken, K. A. Dawson, and R. J. Harmon. 1984. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *Journal of Dairy Science* 71: 2967-2975
- Hayirli A., R. D. Bremmer, J. J. Bertics, M. T. Socha, and R. T. Grummer. 2001. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84: 1218-1230.
- Jounay J., P. 2006. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Animal Reproduction Science* 96: 250-264.
- Kebreab E., J. Dijkstra, A. Bannink, and J. France. 2009. Recent advances in modeling nutrient utilization in ruminants. *Journal of Animal Science* 87: E111-E122.
- Kincaid R. L., and M. T. Socha. 2004. Inorganic versus complex trace mineral supplements on performance of dairy cows. *The Professional Animal Scientist* 20: 66-73.
- Kincaid R. L., L. E. Lefebvre, J. D. Cronrath, M. T. Socha, and A. B. Johnson. 2003. Effect of dietary cobalt supplementation on cobalt metabolism and performance. *Journal of Dairy Science* 86: 1405–1414.
- Kincaid R., L., and M. T. Socha. 2007. Effect of cobalt supplementation during late gestation and early lactation on milk and serum measures. *Journal of*

Dairy Science 90: 1880-1886.

Kung L., E. M. Kreck, R. S. Tung, A. O. Hession, A. C. Sheperd., M. A. Cohen, H. E. Swain, and J. A. Leedle. 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: 2045-2051.

Lehloenya K. V., C. R. Krehbiel, K. J. Mertz, T. G. Rehberger, and L. J. Spicer. 2008. Effects of propionibacteria and yeast culture fed to steers on nutrient intake and site and extent of digestion. Journal of Dairy Science 91: 653-662.

Longuski R. A., Y. Ying, and M. S. Allen. 2009. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. Journal of Dairy Science: 92: 160-167.

Lynch H. A., and S. A. Martin. 2002. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. Journal of Dairy Science 85: 2603-2608.

Mendoza M., G., F. Plata-Pérez, R. Espinosa-Cervantes, y A. Lara-Bueno. 2008. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. Universidad y Ciencia. 24: 1-13.

Miller-Webster T., W. H. Hoover, M. Holt, and J. Nocek. 2002. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. Journal of Dairy Science 85: 2009-2014.

Miranda S., G., Y. Wang J., N. G. Purdie, V. R. Osborne, B. L. Coomber, and J. Cant. 2009. Selenomethionine stimulates expression of glutathione peroxidase 1 and 3 and growth of bovine mammary epithelial cells in primary culture. Journal of Dairy Science 92: 2670–2683.

- Moallem U., L. Leer, L. Livshitz, and S. Yakoby. 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *Journal of Dairy Science* 92: 343–351.
- Nisbet D. J., and S. A. Martin. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomas ruminantium*. *Journal of Animal Science* 69: 4628-4633.
- Nocek J. E., M. T. Socha, and D. J. Tomlinson. 2006. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 89:2679–2693.
- NRC (The National Research Council) 2001. *Nutrients Requirements of Dairy Cattle*. 7a ed. National Academy Press. Washington, D.C. 408 p.
- Piva G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicbaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cows performance, ruminal fermentation, blond components, and milk manufacturing properties. *Journal of Dairy Science* 76: 2717-2722.
- Puttman D., E., C. G. Schwabs, M. T. Socha, N. Whitehouse, N. Kierstead, and B. Garthwaite. 1997. Effects of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. *Journal of Dairy Science* 80: 374- 384.
- Ramsing E. M., J. A. Davidson, P. D. French, I. Yoon, M. Keller, and H. Peters-Fleckenstein. 2009. Effects of yeast culture on prepartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. *The Professional Animal Scientist* 25: 487-495.
- Reynolds, C. K., D. L. Harmon, and M. J. Cecava. 1994. Absorption and delivery of nutrients for milk protein synthesis by portal drained viscera. *Journal of Dairy Science* 77: 2787-2808.

- Rivas J., P. Bastidas, T. Díaz, M. Hahn, and A. Moya. 2006. Efecto de la suplementación con *Saccharomyces cerevisiae* sobre el comportamiento reproductivo en rebaños lecheros de la zona alta del estado de Mérida. *Zootecnia Tropical* 24: 379-391.
- Robinson P., H., and L. J. Erasmus. 2009. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: a systematic review of the literature. *Animal Feed Science and Technology* 149: 185–198.
- Robinson, P. H. 1997. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. *Journal of Dairy Science* 80: 1119-1125.
- Robinson, P. H., and J. E. Garret. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *Journal of Animal Science* 77: 988-999.
- Roche R., J., J. Morton, and E. S. Kolver. 2002. Sulfur and chlorine play a non-acid base role in periparturient calcium homeostasis. *Journal of Dairy Science* 85: 3444-3453.
- Scaletti R., W., D. S. Trammell, B. A. Smith, and R. J. Harmon. 2003. Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science* 86:1240-1249.
- Schingoethe D. J., K. N. Linke, K. F. Kalscheur, A. R. Hippen, D. R. Rennich, and I. Yoon. 2004. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. *Journal of Dairy Science* 87: 4178-4181.
- Shwartz G., M. Rhoads L., M. VanBaale, R. Rhoads, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating

- Holstein cows. Journal of Dairy Science 92:935–942.
- Smith K. L., M. Waldron, R. Drackley, M. T. Socha, and T. Overton. 2005. Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period. Journal of Dairy Science 88:255–263.
- Soder K. J., and L. A. Holden. 1999. Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. Journal of Dairy Science 82:605-610.
- Sullivan H. M., and S. A. Martin. 1999. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on *In Vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. Journal of Dairy Science 82: 2011-2016.
- Suttle N. F. 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing, UK. 614 p.
- Throne M., A. Bach, M. Ruiz-Moreno, M. D. Stern, and J. G. Linn. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. Livestock Science 124: 261-265.
- Tomlinson J.D., M. T. Socha, C. Swenson, and A. B. Johnson. 2002. Efecto de minerales traza inorgánicos en el desempeño del ganado lechero y de engorda. *In: Memorias de XXX Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal*. Guadalajara Jal. pp: 35-45.
- Wang Z., M. L. Eastridge, and X. Qiu. 2001. Effects of forage neutral detergent fiber and yeast culture on performance of cows during early lactation. Journal of Dairy Science 84: 204-212.
- Weimer P. J. 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster? Journal

of Dairy Science 79: 1496-1502.

Weiss W. P. and J. S. Hogan. 2005. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88:4366-4374.

Williams P. E., C. A. Tait, G. M. Innes, and C. J. Newbold 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *Journal of Animal Science* 69: 3016-3026.

Wohlt, J. E., T. T. Corcione, and P. K. Zajac. 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *Journal of Dairy Science* 81:1345-1352

Wood J. R., and H. Okhee. 1998. Recently identified molecular aspects of intestinal iron absorption. *Journal of Nutrition* 128: 1841-1844.

3 EFECTO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LECHE DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN EN CONDICIONES DE ESTRÉS CALÓRICO

3.1 Resumen

En la vaca lechera los productos de la digestión del alimento son transformados por una relación simbiótica compleja entre los microorganismos del rumen y los productos del metabolismo en leche y sus componentes. El objetivo fue estudiar el efecto de *Saccharomyces cerevisiae* (Sce) en el consumo de alimento (CMS), la digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS), los cambios de peso vivo (PV), la producción y la calidad de la leche durante el periodo de reto (16 d preparto) y el inicio de la lactancia (105 días). En el estudio se utilizaron 30 vacas Holstein-Friesian (PV=807.31 ± 31.1kg; con más de dos lactancias); que fueron estratificadas por PV y aleatoriamente asignadas a uno de tres tratamientos: 1) dieta completa (DC; Maíz-Soya); 2) DC + 10.0 g de S Ce (DC10); y 3) DC+ 20.0 g de S Ce (DC20). Las vacas DC20 y DC10 presentaron CMS más altos ($p<0.05$) que las que consumen únicamente DC (17.5 y 17.4 vs. 16.6 kg) durante el periodo de estudio; mientras que la DIVMS ($p>0.05$) fue similar entre tratamientos (62.7, 66.2, y 64.7%, para DC, DC10 y DC20, respectivamente). Paralelamente, la PL (36.9, 37.6 y 38.7 kg vaca⁻¹ d⁻¹ para DC, DC10 y DC20), grasa, proteína lactosa y sólidos totales fueron similares ($p>0.05$) entre tratamientos. En contraste, las vacas DC10 presentaron mayor concentración de urea en leche (11.96) en comparación con DC20 y DC (8.14 y 7.53 mg dL⁻¹). En conclusión, la adición de S Ce a la dieta mejora el consumo de alimento, la utilización del N, sin efectos negativos en la producción y la calidad de la leche al inicio de la lactancia.

Palabras Clave: *Saccharomyces cerevisiae*, Producción de leche, Componentes de la leche.

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Ismael Ponce Candelario.

Director de tesis: Ph. D. Rufino López Ordaz.

Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on yield and quality of milk of Holstein-Friesian cows under heat stress

Abstract

In dairy cows the digestion of feed is performed by a complex symbiotic relationship of rumen microbiota and metabolism of products into milk and milk components. The objective was to study the effect of *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) on dry matter intake (DMI), *in vitro* digestibility of DM (IVDMD), milk yield (MY) and milk quality at early lactation of Holstein-Friesian cows. Thirty cows (BW = 807.8 ± 31.1 kg; with two or more lactations) were stratified by BW and randomly assigned to one of three treatments: 1) total mixed ration (corn-soybean, TMR); 2) TMR + 10 g SCe (TMR10), and 3) TMR + 20 g SCe (TMR20). Cows in TMR20 had higher DMI ($P < 0.05$) than those in TMR10 or TMR alone (17.5 and 17.4 vs. 16.6 kg vaca⁻¹ d⁻¹) throughout the study; whereas *in vitro* digestibility of DM was not affected ($P > 0.05$) by the addition of 20, 10 or 0 g of SCe (64.0, 66.2 and 62.7%, respectively). In parallel, MY (36.9, 37.6 and 38.7 kg cow⁻¹ d⁻¹ for 0, 10 or 20 g), and fat, protein, lactose and total solids of milk were similar for all cows. In contrast, cows fed TMR10 had higher milk urea concentration (11.96) than those in TMR20 and TMR (8.14 and 7.53 ng dL⁻¹). In conclusion, the addition of *S. cerevisiae* to diets improves dry matter intake, milk nitrogen utilization of the cow without negative effects on milk yield and milk components at early lactation.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, Milk yield, Milk components.

Master of Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ismael Ponce Candelario

Advisor: Ph. D. Rufino López Ordaz

3.2 Introducción

Aproximadamente la mitad de la producción de leche (PL) proviene del sistema especializado. A pesar de lo anterior, todavía hay rezagos en la utilización de los recursos productivos de forma que la PL es ineficiente. La explicación de la baja eficiencia tiene varias vertientes; posiblemente una de las principales es el desconocimiento del interface entre el alimento que consume el animal y su transformación en leche. La PL de bovinos en el 2009 fue 10 549 038 L (SIAP, 2010), siendo el sector especializado el que aporta 50.6 % de la producción de leche nacional (SAGARPA, 2010). El sector especializado de producción de leche utiliza la raza Holstein-Friesian por tener los mayores índices productivos en comparación a Jersey o Pardo Suizo. La raza Holstein-Friesian según la Asociación Holstein Americana (2010) la describe como animales grandes, estilizados, con producciones promedio de 10 541 kg de leche, 382 kg de grasa y 323 kg de proteína por lactancia de 305 d. Por tanto, el ser animales grandes y con demandas energéticas elevadas necesitan mayor consumo de nutrimentos de forma constante y acorde a su etapa fisiológica para impedir la merma en su producción de leche y detrimento en su comportamiento reproductivo.

En años recientes, se han hecho esfuerzos notables para incrementar los conocimientos de los componentes de las dietas y la relación con la síntesis de leche. Dichos esfuerzos incluyen: hormonas, antibióticos, enzimas, antioxidantes y otros compuestos como paliativos para incrementar la eficiencia por animal y de esa forma mejorar el volumen y la calidad de la leche obtenida. De dichos productos, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ha sido utilizada en bovinos Holstein-Friesian con éxito. Los beneficios estudiados incluyen el mejoramiento de la digestibilidad de las dietas (Yoon y Stern, 1996; Lila *et al.*, 2006; Marden *et al.*, 2008), el mantenimiento de las condiciones bioquímicas del rumen (Lesmeister *et al.*, 2004; Khanden *et al.*, 2007; Lila *et al.*, 2006) y la

habilidad para mejorar la absorción de vitaminas, minerales y ácidos grasos (Marden *et al.*, 2008; Desnoyers *et al.*, 2009). Sin embargo, persisten ciertas dudas con relación al consumo de dietas completas, la etapa de lactancia de la vaca y su repercusión en la producción y calidad de leche en condiciones de estrés calórico.

Con base en lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron evaluar los efectos de *Saccharomyces cerevisiae* en la digestibilidad y el consumo de alimento, la producción y la calidad de la leche de vacas Holstein-Friesian en condiciones de estrés calórico.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Localización

El estudio se realizó en el establo lechero “18 de Julio” propiedad de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en el municipio de Tlahualilo, Durango. El sitio se ubica entre las coordenadas 25° 54′ 07″ latitud norte y 103° 35′ 09″ longitud oeste. La altura sobre el nivel del mar es de 1,137 m, con clima desértico. La temperatura media anual es de 21.1 °C con una precipitación pluvial de 239.0 mm anuales, distribuidas principalmente en los meses de julio a septiembre (García, 1988).

3.3.2 Animales y tratamientos

Los animales utilizados fueron 30 vacas Holstein-Friesian con peso vivo inicial de 807 ± 31.1 kg y 14.5 ± 5.9 días antes del parto. Las vacas fueron aleatorizadas a uno de tres tratamientos: 1) dieta completa (Sorgo-Soya; DC); 2) DC+10.0 g de S_{Ce}, y 3) DC+20 g de S_{Ce}. La levadura fue proporcionada durante la comida de las 16:00 h; la cual consistía en rociar y mezclar la levadura en la dieta de forma individual para cada vaca. La levadura se pesaba previamente mediante una balanza granataría triple brazo (Ohaus; México, DF).

Las vacas fueron asignadas en un modelo completamente al azar con tres tratamientos, 0, 10 y 20 g de *Saccharomyces cerevisiae* (Biotecap S.A. de C.V.; México, DF). Los animales utilizados fueron de 3.6 ± 1.4 lactancias, reportadas gestantes, saludables y con condición corporal de 3.3 ± 0.5 (escala de 1 a 5). Las vacas se alojaron en un corral exclusivo para la realización del estudio y tuvieron un periodo de reto de 14.5 ± 5.9 d, con una duración total del estudio de 19 semanas.

Los registros de peso vivo (PV) tanto inicial, parto, y catorcenal se midieron en una báscula Revuelta RGI (Revuelta; Coahuila, Méx.) de capacidad máxima de 2000 kg y unidad mínima de 0.5 kg. El PV inicial se registró al ingreso de la vaca al corral donde se alojaron durante el estudio; mientras que el PV catorcenal se registró cada 14 d durante el periodo experimental. Paralelamente se registró la condición corporal (CC) observada previo al peso del animal y utilizando la escala de 1-5 (Wildman *et al.*, 1981).

El periodo de reto (DR) se calculó restando la fecha de ingreso al experimento y fecha de parto; en tanto, número de lactancias (LAC) y edad de la vaca (EV) se obtuvieron a partir de la base de datos del rancho donde se realizó el estudio. La EV se calculó restando la fecha de inicio del experimento a la fecha de nacimiento y el LAC se contabilizó el número de partos por vaca.

La medición del consumo de alimento (CMS) se realizó individualmente separando las vacas dentro del comedero del mismo corral general en donde se alojó a todas las vacas. El registro del consumo fue en cinco horarios: 06:30, 09:30, 16:00, 20:00 y 23:30; los cuales se establecieron en función del comportamiento de las vacas estabuladas. En cada horario se sirvió una cantidad conocida de alimento. Al principio y durante el experimento la dieta completa se formuló diariamente en un carro mezclador Jay Lor modelo 425 (Jay Lor International; Ontario, CAN.) con sinfín mezclador vertical de 12.0 m^3 de capacidad, la dieta fue la misma para las vacas y se almacenó en un espacio

exclusivo formando una bahía por tratamiento. Las dietas utilizadas se formularon de acuerdo con los estándares del NRC (2001; Anexo 1) fueron analizadas en siete periodos durante toda la fase experimental, las mismas se formularon con base en alfalfa, ensilado de maíz, grano de maíz y pasta de soya con una relación 65:35 forraje:concentrado. Dichas dietas se formularon para un contenido de 1.8 Mcal de energía neta de lactancia y un contenido de 17% de proteína cruda.

La dieta ofrecida se pesó a cada vaca con una báscula Tor Rey CRS-HD (Tor Rey, Torreón Coahuila, México) colgante de capacidad máxima de 500.0 kg y unidad mínima de 0.1 kg.

Una vez transcurrido un tiempo aproximado de 2 h, la vaca se liberó de las trampas; posteriormente, las trampas se cerraban para evitar su re-ingreso al comedero. El alimento no consumido se colectaba y se pesaba diariamente para cada horario. El cálculo del consumo de alimento por día fue la resta del alimento rechazado menos el ofrecido para cada horario de alimentación y la suma de los consumos en los cinco horarios fue el consumo de alimento total por día. Una muestra del alimento ofrecido se colectó diariamente para estimar la materia seca de la dieta. La muestra se colectaba a las 06:00 h con el inicio de la elaboración de la dieta. Posteriormente, la colecta de muestras se almacenó en un congelador General Electric 4500 horizontal (General Electric; Fairfield, Connecticut) de 3 m³ de capacidad. La temperatura de almacenamiento fue de -4°C. Las muestras de alimento se descongelaron en periodos quincenales para posteriormente secarlas en una estufa de aire forzado Hafo serie 1600 (Shel lab, Cornelius, Oregon) a una temperatura de 55.0 a 60.0°C por 72 horas para determinar la materia seca de la muestra.

El consumo de materia seca se calculó al multiplicar la materia seca de la muestra por el consumo de alimento del día. Posteriormente, las muestras de alimento se molieron utilizando un molino Willey (A.H. Thomas; Philadelphia,

PA) con una criba de 1.0 mm de diámetro. Los procedimientos utilizados se describen en el manual de laboratorio de la Universidad Estatal de Nuevo México (Galyean y May, 1996). En intervalos semanales se tomaban tres muestras de dieta ofrecida y tres muestras de dieta rechazada; posteriormente, las muestras colectadas se congelaron y previas a los análisis se descongelaron, a las cuales se les determinó: 1) por análisis proximal: materia seca, humedad, nutrimentos digestibles totales (NDT); 2) proteína cruda, proteína dañada por calor, proteína disponible, proteína digestible se determinaron por Kjeldahl; 3) fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) se determinaron en un equipo Ankon; 4) energía neta de lactancia (ENI), energía neta para mantenimiento (ENm), energía neta para ganancia (ENG), para cuyo cálculo se utilizaron las siguientes ecuaciones: $EN_L = 1.044 - (0.0119 \cdot ADF)$; $ENm = -0.508 + (1.37 \cdot B8) - (0.3042 \cdot ME \cdot ME) + (0.051 \cdot ME \cdot ME \cdot ME)$; $ENG = -0.7484 + (1.42 \cdot ME) - (0.3836 \cdot ME \cdot ME) + (0.0593 \cdot ME \cdot ME \cdot ME)$; $EM = 0.01642 \cdot TND$ (NRC, 2001); 5) fósforo (P), calcio (Ca), potasio (K) y magnesio (Mg) se determinaron por espectrofotometría de rayo cercano a infrarrojo (NIRS); 6) extracto etéreo se determinó usando el método Soxhlet con hexano. Cenizas se determinó usando una mufla a 500 °C (AOAC, 1990).

Las vacas fueron ordeñadas 3 veces al día a las, 08:30, 16:00 y 01:00 h, en una sala de ordeña doble 18 paralelo (Westfalia surge, Bonen Alemania). La rutina de ordeño incluyó pre-sello, despunte, ordeño y sellado en forma constante durante los 105 días de ordeño.

La PL y la toma de muestra se realizaron una vez por semana en el horario de las 16:00 h. La producción de leche se midió con un lactómetro Waikato MK V (Waikato, NZ); La producción de leche fue la suma de las producciones de las tres ordeñas y representativa de la semana de lactancia. Las muestras de leche fueron tomadas en viales de 120.0 mL con la adición de una pastilla de Bromopol (BROMOPOL BSM2 D&F Control, San Ramón, CA) como

conservador. La grasa (%), proteína (%), lactosa (%), sólidos totales (%), sólidos no grasos (%) y urea (mg dL^{-1}) de la leche se analizaron con un MilkoScan™ FT 120 (Multispec, Foss Food Technology Corp., Eden Prairie, MN); mientras que, el conteo de células somáticas se hizo con un Fossomatic 90 (Multispec, Foss Food Technology Corp., Eden Prairie, MN).

La producción de grasa y proteína de la leche se calculó multiplicado el porcentaje de grasa y el porcentaje de proteína en la muestra de leche por la producción de leche diaria. De forma similar, los gramos de leche por kg de peso vivo se calcularon dividiendo la producción de leche por día sobre el peso vivo del animal durante el período en cuestión. De la misma forma, el cálculo de la producción de leche por unidad de peso vivo metabólico fue dividiendo la producción de leche sobre el peso de la vaca elevado a 0.75 (Garret *et al.*, 1953). La eficiencia alimenticia se calculó dividiendo la producción de leche semanal sobre los kg de alimento consumido por semana.

El manejo reproductivo de las vacas en estudio consistió en observarlas a su primer celo (DC); transcurridos los 70 d de espera voluntaria, las vacas eran inseminadas en tanto presentaran celo. El uso de hormonas para estimular el celo de los animales fue omitido del estudio, para no incurrir en alteraciones alternas a los tratamientos.

Los procedimientos utilizados para la técnica *in vitro* consistieron en la medición de gas en tiempos definidos a intervalos de 1, 2, 4, 6 y 12 h, por un total de 72 h de medición. Con ese objetivo se utilizaron como recipientes frascos de 125 mL. A cada recipiente se le agregó 0.5 g de dieta única y se le adicionó 0.10, 20, 30 y 40 g de S_{CE} que fueron los tratamientos. Cada uno de los tratamientos buscó representar los tratamientos que fueron usados en la prueba *in vivo* con dos niveles más altos. La adición de los niveles más altos fue debido a la sospecha de que se tenía que, niveles superiores a los 20 g tenían efectos negativos en la digestibilidad. Además, cada frasco contenía 90.0 mL de inóculo

ruminal diluido en soluciones minerales. El gas contenido en los frascos (kg cm^{-3}) se midió con un manómetro en los tiempos establecidos, al término de la lectura de producción de gas en cada frasco, el gas se liberó para retornar la presión a cero. La producción de gas es obtenida en kg cm^{-3} y fue convertida a mL por g de sustrato por medio de la ecuación:

$$\text{Volumen de gas (mL g de sustrato}^{-1}) = \text{Presión de gas (kg cm}^{-3}) + 38.65$$

El volumen de gas fue la base para la estimación de volumen máximo de gas (V , mL g^{-1} sustrato); fase de lag (L , h) y tasa de producción de gas (S , mL h^{-1}), por medio de la siguiente ecuación (Schofield *et al.*, 1994):

$$\text{Volumen de gas} = V_m / (1 + \exp(2 - 4 * S * (t - L)))$$

La digestibilidad *in vitro* se obtuvo después de la fermentación de 72 h, el contenido de los frascos se filtró con papel Whatman No. 4. El filtrado se secó a 100 °C por 24 h y posteriormente se registró el peso, la diferencia del peso original y el residuo fue la digestibilidad *in vitro* a las 72 h de fermentación.

3.3.3 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando los procedimientos estadísticos de SAS (2001). El CMS se determinó diariamente para cada animal, mientras que el PV se registró semanalmente durante el periodo experimental. El PV inicial y el incremento en peso semanal fueron usados para estimar los cambios de PV. El CMS, los cambios de PV, condición corporal, PL, calidad de leche y eficiencia se analizaron utilizando el procedimiento MIXED de SAS en un diseño completamente al azar con medidas repetidas (SAS, 2002). El modelo incluyó el efecto de tratamiento, semana y la interacción semana x tratamiento con vaca anidada dentro de tratamiento como el término repetido. El mismo modelo se utilizó para analizar los contenidos de PC, FDN, FDA, NDT, Grasa, EN_L , EN_m , EN_g y MS de los alimentos. Cuando hubo efecto de tratamiento, semana o la

interacción tratamiento x semana ($p < 0.05$) las medias fueron separadas usando comparaciones ortogonales de las medias y de mínimos cuadrados con el enunciado PDIFF de SAS.

La estructura de covarianza más apropiada fue elegida usando los criterios de Akaike y los criterios bayesianos de Schwarz. La estructura de covarianza de simetría compuesta fue más apropiada para calidad de leche; mientras que, la estructura autorregresiva fue mejor para CMS y PV; por otra parte, para producción de leche, eficiencia alimenticia y producción de grasa y proteína la estructura más apropiada fue simetría compuesta heterogénea.

Cuadro 11. Temperaturas máximas, mínima y media mensual registradas en el año 2009 en la estación meteorológica URUZA, Tlahualilo Dgo.

Mes	Temperatura mínima	Temperatura media	Temperatura máxima
Enero	5.2	14.3	23.9
Febrero	6.0	16.8	27.4
Marzo	10.1	20.2	29.5
Abril	13.4	23.3	32.1
Mayo	17.9	26.1	34.1
Junio	19.5	27.4	35.3
Julio	19.9	27.8	35.3
Agosto	19.0	26.3	33.5
Septiembre	17.5	23.1	29.4
Octubre	14.1	21.1	28.8
Noviembre	6.5	14.9	24.1
Diciembre	3.0	11.6	20.6

Todos los datos fueron ajustados por las covariables ($p < 0.05$): peso vivo inicial (PVi), peso vivo de parto (PVp), días en reto (DR), pérdida de peso vivo

durante el período de reto y días en leche, todas con sus respectivas representaciones cuadráticas. El reporte de los datos es como medias de cuadrados mínimos más menos su error estándar. La significancia se estableció cuando $p < 0.05$.

3.4 Resultados y discusión

Las vacas utilizadas en el presente estudio fueron similares ($p > 0.05$) en su tiempo de reto, número de lactancias, y edad de la vaca (Cuadro 12). Por tal motivo, las características de selección de los animales fueron las apropiadas para el desarrollo del presente estudio.

Cuadro 12. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de etapa de reto, número de lactancias y edad de vacas, que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 (DC20) g de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe).

Item	Tratamientos			p^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de SCe ^x	Dieta completa + 20.0 g de SCe ^w	
Etapa de reto, d	16.0 $\pm$ 2.0 ^a	17.0 $\pm$ 2.0 ^a	15.0 $\pm$ 2.0 ^a	0.44
Lactancias, número	3.5 $\pm$ 0.6 ^a	3.6 $\pm$ 0.6 ^a	3.8 $\pm$ 0.5 ^a	0.87
Edad de las vacas, años	4.2 $\pm$ 0.9 ^a	4.8 $\pm$ 0.9 ^a	5.3 $\pm$ 0.8 ^a	0.72

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p \leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

Como se observa en el Cuadro 13, la evaluación de CMS se dividió en periodos: 1) alimentación de reto (aproximadamente 21 d antes del parto); 2) del parto a la semana 11 de lactancia; 3) de la 11 a la 15 posteriores al parto; y 4) fase completa (incluyó tiempo de reto y las 15 semanas de lactancia).

En el periodo de reto, el CMS fue similar ($p = 0.26$) entre grupos de tratamientos. Los resultados del presente estudio concuerdan con los observados por Wohlt *et al.* (1998). La baja respuesta a la suplementación con SCe fue atribuida a la

depresión del parto y posiblemente a las cantidades de SCe utilizadas. La depresión del CMS previo al parto se relaciona con el movimiento hormonal de preparación de la vaca para la expulsión del feto, y con los preparativos para el inicio de la síntesis de leche, mientras el nivel de 10.0 y 20.0 g de SCe incluidos en las dietas, posiblemente, fue un nivel moderado. Dicha hipótesis tiene sustento en el estudio de Dann *et al.* (2000); quienes complementaron la dieta con 60 g de SCe d⁻¹ durante 20 d previos a parto. Los mismo autores observaron que la suplementación con SCe incrementó 27.0% el CMS en la semana previa a parto. Además, se argumentó que la suplementación con SCe disminuyó la acidez ruminal y como consecuencia el estrés asociado con los tiempos de parto.

Por otro lado Bertics *et al.*, (1992) observaron que durante los 21 días antes del parto, el CMS disminuyó 28.0% como resultado de la movilización de reservas corporales; específicamente, aquellas reservas estacionadas en el hígado y su formación en triglicéridos, lo que ocasiona un bajo nivel de glucosa y una menor concentración de insulina en plasma.

Por el contrario, en el segundo periodo, las vacas que recibieron SCe tuvieron CMS superiores ($p=0.03$) a las del grupo sin SCe (18.9 y 18.8 vs 17.8 kg para DC20, DC10 y DC, respectivamente; Cuadro 13); lo anterior es debido a la acción de SCe en el rompimiento de los enlaces celulolíticos; dicha contribución reduce la densidad de la fibra, aumenta la digestibilidad de los ingredientes y mejora el consumo (Marden *et al.*, 2008; Yoon y Stern, 1996; Lila *et al.*, 2006).

Un efecto parecido fue observado en animales Jersey; Dann *et al.* (2000) observaron que la adición de 60.0 g d⁻¹ de SCe incrementó 15.0% el CMS hasta los 42 días en leche. Similarmente, Robinson y Garrett (1999) observaron una tendencia ($p=0.10$) a mejorar el CMS en 6.8% desde el parto hasta la semana ocho, como consecuencia de la adición de 60.0 g d⁻¹ de SCe.

Por otra parte Wohlt *et al.*, (1998) no observaron efecto alguno en el CMS cuando se suministraron 10.0 g d⁻¹ de SCe a la dieta de vacas Holstein-Friesian en las primeras semanas de lactancia. Por el contrario, los mismos autores observaron efectos en el CMS con la misma dosis de la semana 5 a la 11. Además, dichos efectos desaparecen con la dosis de 20.0 g d⁻¹ de SCe.

Paralelamente, las vacas mostraron CMS similares en el periodo de la semana 11 a la 15 de lactancia ($p=0.77$) entre tratamientos (Cuadro 13). La etapa de 11 a 15 semanas de lactancia de las vacas se ubicó en los meses de noviembre y diciembre, cuando la temperatura descendió 10 °C. Por lo anterior y con lo mencionado por Bruno *et al.* (2009), quienes observaron un nulo efecto de SCe en ausencia de estrés calórico, se puede inferir que, los efectos de SCe en las vacas complementadas dejan de ser importantes en el ecosistema ruminal al carecer de estrés ambiental; por otra parte, la vaca ha recuperado el balance hormonal producto del parto, y en consiguiente, estos dos hechos mitigan el efecto de SCe y por tanto, deja de tener efecto en el CMS.

Los efectos de SCe en el CMS son contradictorios y variables en periodos prolongados de complementación. Por ejemplo Wohlt *et al.* (1998); Dann *et al.* (2000); Moallen *et al.* (2009) observaron un incremento en el CMS; mientras que, Robinson (1997), Soder y Holden (1999) y Longuski *et al.* (2009) observaron efectos contradictorios. Según Moallen *et al.* (2009) *Saccharomyces cerevisiae* tiene un efecto positivo en situaciones de estrés para la vaca lechera; mientras, Longuski *et al.* (2009) observaron que SCe tiene mejor desempeño en ambientes donde las dietas son ricas en carbohidratos solubles.

Como se hizo notar en las líneas anteriores, la adición de SCe a la dieta de vacas lecheras reduce el estrés, y no se sabe si como consecuencia o como un efecto directo incrementa el CMS alrededor del parto. Por esta razón, SCe, independientemente de la dosis utilizada y la duración del periodo de reto, no tiene un efecto claro sobre el CMS en la etapa previa al parto. Sin embargo, sí

se observan efectos en la última semana de gestación, infiriendo que los efectos de S_{Ce} son utilizados para el metabolismo del feto (Cuadro 13).

Cuadro 13. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de consumo de materia seca (CMS) en tres etapas diferentes y fase completa de vacas que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 g (DC20) de *Saccharomyces cerevisiae* (S_{Ce}).

Semanas	Tratamientos			p^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de S ^{Ce} ^x	Dieta completa + 20.0 g de S ^{Ce} ^x	
-----CMS, kg-----				
-3 a 0	14.0 ± 0.6 ^a	13.5 ± 0.5 ^a	12.8 ± 0.6 ^a	0.26
0 a 11	17.8 ± 0.3 ^a	18.8 ± 0.3 ^b	18.9 ± 0.3 ^b	0.03
11 a 15	22.2 ± 0.5 ^a	21.5 ± 0.5 ^a	21.2 ± 0.5 ^a	0.77
-3 a 15	16.6 ± 0.5 ^b	17.4 ± 0.4 ^a	17.5 ± 0.5 ^a	0.01

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p \leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

En el Cuadro 14 se observa que el PV inicial y PV de parto y PV metabólico tanto inicial como de parto fueron similares ($p > 0.05$) para todos los grupos de animales. En el mismo Cuadro se observa que las vacas del grupo DC y DC20 tuvieron vacas 53.0 kg más pesadas que el DC10. Dicha diferencia se conservó en el PV de parto.

En el presente estudio, el periodo de reto fue de aproximadamente 16 d; lo que concuerda con otros estudios publicados anteriormente. Por ejemplo, Robinson (1997) observaron que la adición de 50 g d⁻¹ de S_{Ce} en el periodo de reto de 14 d no influyó en el PV de parto. Dicha pérdida de efecto fue atribuido a una subalimentación energética; lo que posiblemente, provocó la movilización de reservas corporales para el mantenimiento del *conceptus*. En otros estudios donde se adicionaron 60.0 g de S_{Ce} durante 23 d previos al parto de vacas y vaquillas Holstein-Friesian, Robinson y Garrett (1999) observaron que la

suplementación no mejora el estatus corporal del animal, debido a que el CMS no se incrementó. En apoyo a esto, Grummer (2006) observó que en vacas Holstein-Friesian en la etapa de 60 a 21 d a parto, la demanda de energía neta de lactancia incrementa 18.0%, y de 21 a 1 d en 8.0%. Como consecuencia, la energía neta consumida por una vaca en la última quincena de gestación es enviada a formación de *conceptus* (placenta, membranas, líquidos) y feto en lugar de reservas corporales. Las indicaciones de Robinson (1997) y Grummer (2006), y los resultados del presente estudio permiten inferir que el PV de los animales no mejora con la complementación de SCe en periodos de 15 d previos al parto. La falta de respuesta, puede explicarse debido a la partición de la energía para formación del *conceptus* y feto en vez de la acumulación de reservas corporales.

Las vacas de los grupos de tratamientos tuvieron crías con pesos al nacimientos similares ($p=0.62$) independientemente de los tratamientos (42.8 kg); sin embargo, se observa un ligero incremento gradual a medida que se complementa con SCe. Los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los observados por Silva-del-Rio *et al.* (2009); quienes observaron que los pesos de las crías fueron similares a los del presente estudio. Los mismos autores observaron que el peso de las crías fue independiente no sólo al periodo de reto (tres u ocho semanas) sino también al nivel de energía de las dietas (1.3 ó 1.6 Mcal EN_L). Por tanto, el incremento de peso de los terneros a medida que se incrementa la dosis de SCe fue atribuible a SCe.

El PV promedio (Cuadro 14) fue diferente entre tratamientos ($p=0.01$); en el tratamiento DC20 se observó vacas con menor talla, 5 y 8 kg en comparación a DC10 y DC, respectivamente. Sin embargo, en el PV promedio metabólico no existió diferencia; por consiguiente, las vacas tuvieron un metabolismo basal similar, lo cual, puede ser atribuido directamente al efecto de SCe. En el mismo Cuadro se observa que el PV final fue diferente ($p<0.01$) entre tratamientos. No obstante, la diferencia que existió en PV inicial disminuyó entre DC y DC20 con

respecto a DC10. Por lo tanto, DC10 y a diferencia de DC20 acumuló mayor masa corporal.

En cuanto a condición corporal (CC, Cuadro 14), el tratamiento DC fue 6% mejor ($p<0.05$) que los tratamientos DC10 y DC20; ésta diferencia indica que S*Ce* tiene un efecto negativo en la condición corporal; sin embargo, los PV iniciales, si bien no fueron diferentes, presentan una diferencia de al menos 25 kg, hecho que marca la diferencia al registrar un mayor CMS y conseguir mayores GDP para el final del estudio. Cabe destacar, y con base en lo observado por Roche *et al.*, (2007) que las vacas con condiciones corporales en intervalos de 3.2 a 3.3 son óptimas para el confort de la vaca lechera; por tanto, S*Ce* mantiene la condición corporal de la vaca sin comprometer sus reservas para posteriores ciclos reproductivos.

Cuadro 14. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de peso vivo (PV) y metabólico, condición corporal, ganancia diaria de peso (GDP) y peso de la cría de vacas Holstein-Friesian que consumen dietas completas (DC) y complementadas con 10.0 (DC10) y 20.0 (DC20) g de *Saccharomyces cerevisiae* (S*Ce*).

Item	Tratamientos			p^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de S <i>Ce</i> ^x	Dieta completa + 20.0 g de S <i>Ce</i> ^w	
PV inicial, kg	827.7 $\pm$ 36.5 ^a	771.3 $\pm$ 36.3 ^a	824.6 $\pm$ 31.1 ^a	0.33
PV final, kg	721.8 $\pm$ 18.9 ^b	703.6 $\pm$ 17.3 ^a	708.5 $\pm$ 17.9 ^{ab}	0.01
PV de parto, kg	775.2 $\pm$ 38.5 ^a	709.2 $\pm$ 38.2 ^a	772.6 $\pm$ 32.8 ^a	0.33
PV de parto metabólico, kg	148.1 $\pm$ 4.1 ^a	138.8 $\pm$ 4.1 ^a	145.5 $\pm$ 4.1 ^a	0.27
PV promedio, kg	720.1 $\pm$ 9.9 ^a	717.2 $\pm$ 10.1 ^a	712.7 $\pm$ 9.4 ^b	0.01
PV promedio metabólico, kg	137.6 $\pm$ 1.7 ^a	137.9 $\pm$ 1.9 ^a	137.6 $\pm$ 1.7 ^a	0.10
Condición corporal	3.5 $\pm$ 0.04 ^b	3.2 $\pm$ 0.04 ^a	3.4 $\pm$ 0.04 ^a	0.01
GDP, kg	-0.41 $\pm$ 0.2 ^a	-0.53 $\pm$ 0.2 ^a	-0.43 $\pm$ 0.2 ^a	0.91

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p\leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

De forma contraria a CC, GDP (Cuadro 14) no fue diferente ($p>0.05$) para los tratamientos; sin embargo, las mayores pérdidas de peso se observan en el tratamiento DC10; basados en este hecho, las vacas con menor CC es reflejo de la GDP.

Como se observa en el Cuadro 15 la PL, PL por kg de PV y PL por kg de PV^{0.75} fue similar ($p>0.05$) entre grupos de tratamiento. Sin embargo, las vacas complementadas con SCe incrementaron la PL conforme el nivel de complementación. Similarmente, las producciones de proteína y grasa, además de eficiencia alimenticia no fueron diferentes ($p>0.05$) entre tratamientos. Los resultados obtenidos del presente estudio concuerdan con los observados por Arambel y Kent (1990) y Kalmus *et al.* (2009)

Cuadro 15. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de leche, producción de grasa y proteína en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) en dietas completas (DC).

Item	Tratamientos			p^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de SCe ^x	Dieta completa + 20.0 g de SCex	
Leche, kg d ⁻¹	36.9 $\pm$ 1.6 ^a	37.6 $\pm$ 1.6 ^a	38.7 $\pm$ 1.6 ^a	0.54
Leche, g kg de PV ⁻¹ d ⁻¹	50.3 $\pm$ 2.7 ^a	57.6 $\pm$ 2.7 ^a	52.7 $\pm$ 2.7 ^a	0.17
Leche, kg 100 kg de PV ⁻¹ d ⁻¹	5.03 $\pm$ 2.7 ^a	5.7 $\pm$ 2.7 ^a	5.2 $\pm$ 2.7 ^a	0.17
Leche, kg kg de PV ^{-0.75} d ⁻¹	0.26 $\pm$ 0.02 ^a	0.28 $\pm$ 0.02 ^a	0.27 $\pm$ 0.02 ^a	0.34
Producción de proteína, kg d ⁻¹	1.06 $\pm$ 0.04 ^a	1.14 $\pm$ 0.04 ^a	1.12 $\pm$ 0.04 ^a	0.20
Producción de grasa, kg d ⁻¹	1.05 $\pm$ 0.07 ^a	0.92 $\pm$ 0.07 ^a	1.09 $\pm$ 0.07 ^a	0.16
Eficiencia, kg de leche kg de CMS ⁻¹	2.02 $\pm$ 0.09 ^a	2.01 $\pm$ 0.09 ^a	2.07 $\pm$ 0.09 ^a	0.98

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p\leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

En contraste con a lo anterior, Hippen *et al.* (2010) observaron un incremento de 4.4% en la producción de proteína cuando suplementaron con 14 g d⁻¹ a vacas Holstein-Friesian. De la misma forma Bruno *et al.*, (2009) reportaron incremento de producción de proteína de 2.4%. Lo anterior, predispone a que S*Ce* incrementa la producción más que los sólidos en leche; por lo tanto, las vacas suplementadas mejoran su producción, tanto de leche como de grasa y proteína, pero no su porcentaje de sólidos en leche (Kalmus *et al.*, 2009).

Cuadro 16. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de componentes de leche en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de *Saccharomyces cerevisiae* (S*Ce*) en dietas completas (DC).

Componente	Tratamientos			<i>p</i> ^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de S <i>Ce</i> ^x	Dieta completa + 20.0 g de S <i>Ce</i> ^x	
Grasa, %	3.04 $\pm$ 0.20 ^a	2.94 $\pm$ 0.21 ^a	2.77 $\pm$ 0.21 ^a	0.698
Proteína, %	3.08 $\pm$ 0.08 ^a	3.02 $\pm$ 0.08 ^a	3.08 $\pm$ 0.08 ^a	0.534
Lactosa, %	4.89 $\pm$ 0.05 ^a	4.92 $\pm$ 0.05 ^a	4.85 $\pm$ 0.05 ^a	0.997
Sólidos totales, %	11.80 $\pm$ 0.22 ^a	11.39 $\pm$ 0.26 ^a	11.14 $\pm$ 0.25 ^a	0.112
Sólidos no grasos, %	8.91 $\pm$ 0.10 ^a	8.79 $\pm$ 0.11 ^a	8.70 $\pm$ 0.11 ^a	0.123
Urea, mg dL ⁻¹	7.53 $\pm$ 0.88 ^a	11.96 $\pm$ 1.22 ^b	8.14 $\pm$ 0.97 ^a	0.015
CCS, X 1000	157.56 $\pm$ 220.77 ^a	736.36 $\pm$ 280.72 ^a	246.95 $\pm$ 263.54 ^a	0.645

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p \leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

En el Cuadro 16 se describe los componentes de la leche que fueron incluidos en el estudio. Como se puede observar en el mismo Cuadro, los contenidos de grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos y conteo de células somáticas no fueron diferentes ($p > 0.05$) entre grupos de tratamientos; sin embargo, se puede observar que grasa en leche tiende a disminuir ($p = 0.698$) su porcentaje a la inclusión de S*Ce*; lo anterior permite suponer que S*Ce* presenta un efecto negativo en la síntesis de grasa en leche, explicado por un cambio en

el patrón de fermentación ruminal, limitando la producción del ácido acético, precursor de grasa en leche, y en su lugar, mayor síntesis de ácido butírico, responsable de mayor síntesis de leche (Marden *et al.*, 2008). Por otra parte, urea en leche fue mayor ($p<0.05$) para el tratamiento DC10; mientras que, los tratamientos DC20 y DC fueron similares. Este hecho indica una mayor movilización de nitrógeno a leche por efecto de SCe; sin embargo, la dosis de 20 g no presentó una magnitud similar a la de 10 g; esto puede sugerir errores de muestreo, sin embargo el comportamiento dispar entre DC10 y DC20 permite inferir que los comportamientos son propios de SCe.

En cuanto a comportamiento reproductivo (Cuadro 17), SCe complementada a la dieta de vacas Holstein-Friesian no presenta efecto ($p>0.05$); lo anterior coincide con Bruno *et al.*, (2009). Estos autores observaron que la adición de SCe en dosis de 30 g d⁻¹ no tiene efectos en la reproducción; por tanto, SCe no mejora los días abiertos, y a su vez los días a primer servicio; de esta forma, las vacas que consumieron SCe no sufrieron cambios en la condición corporal, ni pérdida de peso, lo cual no modificó su comportamiento reproductivo.

Cuadro 17. Medias^z de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) de días a primer celo y días a primer servicio en vacas Holstein-Friesian complementadas con 10 (DC10) y 20 (DC20) g de *Saccharomyces cerevisiae* (SCe) en dietas completas (DC).

Item	Tratamientos			p^w
	Dieta completa ^y	Dieta completa + 10.0 g de SCe ^x	Dieta completa + 20.0 g de SCe ^x	
Días a primer celo	35.88 ^a $\pm$ 6.49	43.88 ^a $\pm$ 6.49	47.44 ^a $\pm$ 6.49	0.448
Días a primer servicio	76.55 ^a $\pm$ 4.77	65.88 ^a $\pm$ 5.06	71.00 ^a $\pm$ 5.06	0.305

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p\leq 0.05$)

^yForraje: concentrado, 60:40%

^x*Saccharomyces cerevisiae*

^wProbabilidad

En cuanto a cinética de fermentación de SCe (Cuadro 18) no hubo efecto de la dosis de la levadura; excepto, en la tasa de producción de gas (S, mL h⁻¹) a las 72 h de fermentación. Donde se observa que, la tasa de fermentación disminuye hasta la dosis de 20 g y vuelve a incrementar en la dosis de 30 y 40 g de SCe; por tanto, SCe detiene la tasa de fermentación de los microorganismos ruminales al incluirla en dosis bajas, sin afectar la digestibilidad de la fibra (Cuadro 18). En cuanto a producción de gas (V) no hubo diferencias ($p<0.05$); sin embargo, se observa que existe un incremento a la inclusión de la levadura; por lo cual se puede atribuir que SCe disminuye la tasa de fermentación, sin afectar la fase de crecimiento de los microorganismos (L), la digestibilidad y la producción de gas; por tanto y en función al comportamiento *in vitro*, SCe tiene un efecto benéfico en los microorganismos ruminales al aumentar la eficiencia de fermentación ruminal. Lo anterior y en conjunto con el desempeño del animal en la prueba *in vivo* indica que, SCe mejora el desempeño ruminal con énfasis en la primera etapa de lactancia.

Cuadro 18. Medias^z de cinética de fermentación y digestibilidad *in vitro* de 5 dosis de *Saccharomyces cerevisiae*, mediante fermentación de 24 h.

	Dosis de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>					<i>p</i> ^y
	0 g	10 g	20 g	30 g	40 g	
Digestibilidad, %	52.7 ^a	66.2 ^a	64.5 ^a	65.6 ^a	67 ^a	0.542
V, mL g ⁻¹	366.9 ^a	405.2 ^a	386.1 ^a	401.3 ^a	397.7 ^a	0.437
S, mL h ⁻¹	0.0429 ^b	0.041 ^{ab}	0.0408 ^a	0.043 ^b	0.045 ^b	0.007
L, h	7.4 ^a	7.3 ^a	6.8 ^a	7.1 ^a	7.2 ^a	0.119

^zMedias sin una letra en común, dentro de hileras, son diferentes ($p\leq 0.05$)

^y Probabilidad

Chaucheyras *et al.* (2008) observaron que SCe mejora el ambiente ruminal, estabiliza el pH, incrementa las bacterias encargadas de degradar lactato y mejora la digestión de la pared celular. De igual forma, Lila *et al.* (2006) en pruebas de fermentación *in vitro* observaron que, SCe mejora ($p>0.05$) la

digestibilidad de la fibra a la inclusión de 10, 20, 40 y 60 mg L⁻¹, sin embargo, la producción de gas no presentó cambios ($p>0.05$)

3.5 Conclusiones

La adición de pequeñas cantidades de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de las vacas mejora el consumo de alimento durante las primeras 11 semanas de lactancia.

La adición de levadura en la dieta no tiene efectos directos en el volumen de leche ni tampoco en la calidad de la misma, con un posible efecto negativo en el contenido graso y un incremento en el contenido de urea en leche.

La levadura de *Saccharomyces cerevisiae* mejora el confort ruminal mediante la reducción en la producción de la mezcla de gases, incluyendo metano y CO₂.

3.6 Implicaciones

Bajo las condiciones de este estudio, el uso de SCe en vacas lecheras mejora el consumo de materia seca al momento del parto y hasta las once semanas de lactancia; sin embargo, puede afectar negativamente la grasa en leche. De esta forma, la levadura tiene efectos benéficos sin afectar la salud de la vaca, cuando se suministró hasta 20 g por día a la dieta de las vacas lecheras.

3.7 Literatura citada

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed.. Association of Analytical Chemists. Arlington, VA. 650 p.
- Arambel, M. J., and B. A. Kent. 1990. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early to midlactation dairy cows. Journal of Dairy Science 73: 1560-1563.
- Bertics J. S., R. R. Grummer, C. Cadorniga-Valino, and E. Stoddard E. 1992. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. Journal of Dairy Science 75: 1914-1922.

- Bruno, R. G. S., H. M. Rutigliano, R. L. Cerri, P. H. Robinson, and J. E. P. Santos. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Animal Feed Science and Technology* 150: 175-186.
- Chaucheyras-Durand F., N. D. Walker, and A. Bach. 2008. Effects of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: past, present and future. *Animal Feed Science and Technology* 145:5-26.
- Dann M. H., J. K. Drackley, G. C. Mc Coy, M. F. Hutjens, and J. E. Garrett. 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of jersey cows. *Journal of Dairy Science* 83: 123-127.
- Desnoyers M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science* 92: 1620-1632.
- Galyean M. L., and T. May. 1996. Laboratory procedures in animal nutrition research. 15th ed. New Mexico State University. Las Cruces. 189 p.
- García, E. 1988. Modificaciones del Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. pp: 105-108.
- Garret, W. N., J. H. Meyer, and G. P. Lofgreen. 1959. The comparative energy requirements of sheep and cattle for maintenance and gain. *Journal of Animal Science* 18: 528-547.
- Grummer R. R. 1995. Impact of changes in organic metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science* 73: 2820-2833.
- Grummer, R. R. 2006. Optimization of transition period energy status for improved health and reproduction. In memoria del XXIV World Buiatrics Congress. 15 al 25 de octubre. Nice, France. 12 p.
- Hippen A. R., D. J. Schingoethe, K. F. Kalsheur, P. L. Linke, D. R. Rennich, M. M. Abdelqader, and I. Yoon. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus soluble. *Journal of Dairy Science* 93: 2661-2669.
- Holstein Association USA. 2010. The Holstein Breed. www.holsteinusa.com. Consultada el 16 de enero de 2011.
- Kalmus, P., T. Orro, A. Waldman, R. Lindjärv, and Kalle Kask. 2009. Effect of

yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51:1-7.

- Khadem A. A., M. Pahlavan, A. Afzalzadeh, and M. Rezaein. 2007. Effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation parameters and microbial populations of rumen, total tract digestibility of diet nutrients and on the *in situ* degradability of alfalfa hay in Iranian chall sheep. *Pakistan Journal of Biological Science* 4: 590-597.
- Lesmeister, K. E., A. J. Heinrichs, and M. T. Gabler. 2004. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. 2004. *Journal of Dairy Science* 87: 1832-1839.
- Lila, Z. A., N. Mohammed, T. Tacahashi, M. Tabata, T. Yasui, M. Kurihara, S. Kanda, and H. Itabashi. 2006. Increase of ruminal fiber digestion by cellobiose and a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells in vitro. *Animal Science Journal* 77: 407-413.
- Longuski R. A., Y. Ying, and M. S. Allen. 2009. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. *Journal of Dairy Science* 92: 160-167.
- Marden, J. P., C. Julien, V. Monteils, E. Auclair, R. Moncoulon, and C. Bayourne. 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high yielding dairy calves. *Journal of Dairy Science* 91: 3528-3545.
- Moallen, U., H. Lehrer, L. Livshitz, M. Zachut, and S. Yakoby. 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *Journal of Dairy Science* 92: 343-351.
- NRC (The National Research Council) 2001. *Nutrients Requirements of Dairy Cattle*. 7a ed. National Academy Press. Washington, D.C. 408 p.
- Piva G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicbaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cows performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. *Journal of Dairy Science* 76: 2717-2722.
- Robinson P. H. 1997. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. *Journal of Dairy Science* 80: 1119-1125.
- Robinson P. H., and J. E. Garrett. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *Journal of Animal Science* 77: 988-999.
- Roche, J. R., J. M. Lee, K. A. Macdonald, and D. P. Berry. 2007. Relationships among body condition score, body weight, and milk production variables

- in pasture-based dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90: 3802-3915.
- SAGARPA (Secretaría de agricultura, ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2010. Estadísticas de ganado bovino en estabulación en las tres regiones de México. www.SAGARPA.gob.mx. Consultada el 15 de enero de 2011.
- SAS. 2001. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Gary, NC. 622 p.
- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science* 72: 2980-2991.
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2010. Estadísticas de Producción de leche de ganado bovino en sistemas especializados. www.Siap.gob.mx. Consultada el 15 de enero de 2011.
- Silva-del-Rio, N., P. M. Fricke, and R. R. Grumer. 2009. Effect of twin pregnancy and dry period feeding strategy on milk production, energy balance, and metabolic profiles in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88: 1048-1060.
- Soder, K. J., and L. A. Holden. 1999. Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. *Journal of Dairy Science* 82: 605-610.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, and R. L. Boman. 1982. A dairy cows body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science* 65:495-501.
- Wohlt E. J., T. T. Corcione, and P. K. Zajac. 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *Journal of Dairy Science* 81: 1345-1352.
- Yoon I. K., and M. D. Stern. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79: 411-417.

4 ANEXO

Anexo 1. Análisis bromatológico de las dietas utilizadas en la fase de campo.

Variable	Periodos						
	1	2	3	4	5	6	7
Dieta total mezclada							
Heno de alfalfa, %	2.4	2.2	2.1	2.4	2.2	2.2	3.2
Alfalfa verde, %	37.4	37.8	37.8	36.3	38.0	37.4	37.4
Concentrado, %	17.3	17.1	17.1	20.9	17.1	17.1	17.2
Maíz Rolado, %	14.6	14.4	14.3	14.5	14.7	14.6	14.4
Ensilado de maíz, %	26.0	25.8	26.3	26.0	25.7	26.4	25.6
Semilla de algodón, %	18.9	19.0	19.3	19.7	18.8	20.2	19.5
Salvado de trigo, %	0.9	0.9	0.9	0.0	0.9	0.9	0.8
Cascarilla de soya, %	20.6	20.3	20.9	20.1	20.6	21.0	20.6
Concentrado							
Pasta de soya, %	19.2	19.0	20.0	18.8	19.5	19.7	19.3
Melaza, %	12.0	13.0	13.0	12.0	13.0	13.0	13.0
Salvado de trigo, %	26.0	25.0	26.0	26.0	25.0	27.0	26.0
Vitaminas y minerales, %	0.4	0.4	0.4	0.4	0.0	0.0	0.4
Carbonato de calcio, %	2.6	2.9	0.1	2.6	2.7	0.0	1.2
Cascarilla de soya, %	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
% de forraje	65.7	65.9	66.2	64.7	65.8	65.9	66.1
% de concentrado	34.3	34.1	33.8	35.3	34.2	34.1	33.9
Composición química							
PC, %	14.9	15.0	15.5	17.9	17.6	17.8	16.6
FDA, %	16.2	15.6	15.2	15.4	16.8	16.0	15.5
FDN, %	32.9	32.6	32.7	28.7	31.8	30.9	32.8
TND, %	76.9	77.5	77.9	77.7	76.2	77.0	77.6
Grasa, %	3.5	3.4	4.1	4.2	4.2	4.2	4.4
Cenizas, %	6.2	6.4	7.2	9.7	7.1	7.2	7.8
EN _L , Mcal	1.8	1.8	1.8	1.8	1.7	1.8	1.8
EN _m , Mcal	1.9	1.9	1.9	1.9	1.8	1.9	1.9
EN _g , Mcal	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
P, %	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Ca, %	0.2	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.4
k, %	1.1	1.1	1.1	1.4	1.5	1.4	1.3
Mg, %	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3