



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EVALUACIÓN DE LA CÁSCARA DE SOYA Y *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE LOS ÍNDICES GLICÉMICOS EN CABALLOS MADUROS CON TRABAJO MODERADO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A :

IAZ ALEJANDRO ESQUIVEL VELÁZQUEZ

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Marzo de 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EVALUACIÓN DE LA CÁSCARA DE SOYA Y *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE LOS ÍNDICES GLICÉMICOS EN CABALLOS MADUROS CON TRABAJO MODERADO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

P R E S E N T A :
IAZ ALEJANDRO ESQUIVEL VELÁZQUEZ

COMITÉ DE TUTORES

Tutor Académico
DR. ABDELFATTAH ZEIDAN MOHAMED SALEM

Tutores Adjuntos
M. en C. JOSÉ PABLO MEDINA NAVARRO
DR. JOSÉ LUIS BORQUEZ GASTELUM

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Marzo de 2017

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la fermentación fecal sobre el reemplazamiento parcial del grano de maíz rolado al vapor por cáscara de soya (CS) o harina de nopal (HN) como fuente de energía en dietas para caballos en presencia de *Saccharomyces cerevisiae*. El grano de maíz rolado al vapor fue reemplazado por CS al 0 (control), 7.5 (CS75) y 15% (CS150) en el primer experimento. También se reemplazó con HN al 0 (control), 7.5% (HN75) y 15% (HN150) en el segundo experimento. Se adicionó levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en 0,2 y 4 mg/g de Materia Seca (MS) de los sustratos incubados. El inóculo fecal fue obtenido de 4 caballos adultos alimentados con alimento comercial y heno de avena *ad libitum*. Se observaron interacciones entre las dietas con HN y la dosis de levadura sobre la producción asintótica de gas (PG), en el rango de PG y en la producción de CO₂ en algunas horas de la incubación. Se observó un incremento ($P < 0.05$) en el rango de PG para la dieta HN75 en comparación a la otras dietas. Por otro lado las dietas HN75 y HN150 con 0mg de levadura/g de MS disminuyó linealmente ($P < 0.05$) la producción de CO₂ en algunas horas de la incubación. Sin embargo las dietas CS75 y CS150 incrementaron ($P = 0.005$) la degradación de la materia seca (DMS). La adición de levadura en 2mg/g de MS incrementó la asintótica de PG ($P = 0.048$) para las dietas CS75 y CS150. El nivel de 4mg/g de MS incremento la asintótica de PG ($P = 0.048$) en la dieta CS150. La adición de levadura a 2 y 4mg/g de MS incrementó la asintótica de PG en las dietas HN75 y HN150, aumentando respectivamente la DMS con ambas dosis. La adición de levadura incrementó ($P < 0.05$) la producción de CO₂ de las dietas CS75, CS150, HN75 y HN150. Se concluye que la CS y HN pueden reemplazar al grano de maíz rolado al vapor en niveles que vayan de 7.5 al 15% sin ningún efecto negativo sobre la cinética de fermentación y con un mejor comportamiento en la fermentación cuando se utilizó el nivel de levadura de 2mg/g de MS de los sustratos. Al nivel *in vivo*, se observó que la formulación de las dietas han producido respuestas glicémicas atenuadas puede tener beneficios en la salud de los caballos.

Palabras clave: Nopal, Cáscara de soya, Alimento energético, inóculo fecal, producción de gas, levadura.

Abstract

The aim of the study was to evaluate the fecal fermentation of partial replacing steam rolled corn with soybean hulls (SH) or prickly pear cactus (PC) as energy source in horse diets, in the presence of *Saccharomyces cerevisiae*. Steam rolled corn was replaced with SH at 0 (control), 7.5 (SH75) and 15% (SH150) - first trial, while it was replaced with PC at 0 (control; the same of the first trial), 7.5 (PC75) and 15% (PC150) in the second trial. Yeast of *Saccharomyces cerevisiae* was added at 0, 2 and 4 mg/g DM of incubated substrates. Fecal *inoculum* was obtained from 4 adult horses fed on an amount of commercial concentrate and oat hay *ad libitum*. Interactions occurred between PC rations and yeast dose for the asymptotic gas production (GP), the rate of GP and CO₂ production during some incubation hours. Moreover, with no effect due to SH rations, increased (P<0.05) rate of GP was observed with the ration PC75 compared to other rations. Besides, PC75 and PC150 rations with 0 mg yeast/g DM linearly decreased (P<0.05) CO₂ production at some incubation hours. However, SH75 and SH150 ration had increased (P=0.005) dry matter degradability (DMD). Yeast addition at 2 mg/g DM increased the asymptotic GP (P=0.048) with the SH75 and PC150 rations. The level of 4 mg yeast/g DM increased the asymptotic GP (P=0.048) from the SH150 ration. Yeast addition at 2 and 4 mg/g DM increased the asymptotic GP from PC75 and PC150 rations, respectively with increasing DMD with the both doses. Yeast addition increased (P<0.05) CO₂ production from SH75, SH150, PC75 and PC150 rations. It could be concluded that SH and PC can replace corn at levels of 7.5 to 15% without negative effect of fermentation kinetics and with better fermentation performance in the presence of yeast 2 mg/g DM of substrates. In the *in vivo* level, it was observed that the formulation of diets have produced attenuated glycemc responses that may have health benefits to horses.

Keywords: cactus, energy feeds, fecal inoculum, gas production, soybean hulls, yeast.

AGRADECIMIENTOS

A dios por darme la oportunidad de vivir y disfrutar esta gran experiencia.

A mi Esposa e hijos por su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios.

A mi Familia por sus valiosos consejos.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para realizar mis estudios de Maestría.

A la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) por hacerme parte de ella.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por el apoyo de sus investigadores y personal administrativo para alcanzar el objetivo.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mi comité de tutores, conformado por el **Dr. Abdelfattah Zeidan Mohamed Salem, M en C. José Pablo Medina Navarro, Dr. José Luis Borquez Gastelum**, por la supervisión directa, consejos y comentarios a lo largo de mis estudios, los cuales fueron de gran valor.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
Abstract.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE GRAFICOS.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
2.1 PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LOS FORRAJES Y CONCENTRADOS.....	8
2.1.1 FORRAJES.....	8
2.2 INGREDIENTES EN LOS CONCENTRADOS.....	9
2.2.1 CEREALES.....	9
2.2.2 INSUMOS PROTEICOS.....	11
2.2.3 INSUMOS DE CARBOHIDRATOS SIN ALMIDÓN.....	11
2.3 EFECTOS DE LA SUPLEMENTACION DE LEVADURAS EN CABALLOS.....	14
2.3.1 TIPOS DE LEVADURAS.....	15
2.3.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE UNA LEVADURA ACTIVA EN CABALLOS.....	15
2.4 INDICE GLICEMICO EN CABALLOS.....	16
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. HIPÓTESIS.....	19
5. OBJETIVOS.....	20
OBJETIVO GENERAL.....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
6. MATERIALES Y METODOS.....	21
6.1 EXPERIMENTO <i>IN VITRO</i>	21
6.1.1 SUSTRATOS Y LEVADURAS.....	21
6.1.2 INCUBACIONES <i>IN VITRO</i>	21
6.1.3 ANÁLISIS Y CÁLCULOS QUÍMICOS.....	22
6.1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
6.2 EXPERIMENTO <i>IN VIVO</i>	24

6.2.1	ÁREA DE ESTUDIO.....	24
6.2.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24
6.2.4	TOMA DE MUESTRAS.....	26
7.	RESULTADOS.....	27
7.1.	Evaluación <i>in vitro</i> de la dietas	27
7.2.	Evaluación <i>in vivo</i> de las dietas (concentración de glucosa sanguínea).	50
8.	DISCUSIÓN.....	57
9.	CONCLUSIÓN.....	62
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Presentación esquemática del tracto gastro-intestinal del equino	5
Figura 2.- Anatomía del estómago del equino	6

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Composición química (g/kg de Materia Seca), Proporción de lisina (% de Proteína Cruda), y contenido de ácido linoleico y linolénico (g/kg de Materia Seca) y Energía (MJ/kg de M S) en cereales y sub-productos de cereales ^a ^b ... 9	
TABLA 2. Composición química (g/kg de Materia Seca), Proporción de lisina (% de Proteína Cruda), y contenido de ácido linoleico y linolénico (g/kg de Materia Seca) y Energía (MJ/kg de M S) en varios sub-productos ^a 12	12
TABLA 3. CONTROL (SIN Y CON LEVADURA <i>Saccharomyces cerevisiae</i>).. 25	25
TABLA 4. 7.5 % DE INCLUSION DE CASCARA DE SOYA (CON Y SIN <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) 25	25
TABLA 5. 15 % DE INCLUSION DE CASCARA DE SOYA (CON Y SIN <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) 26	26

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO 1. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta Control sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1).....	51
GRAFICO 2. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta Control con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1).....	51
GRAFICO 3. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1).....	52
GRAFICO 4. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1)	52
GRAFICO 5. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1).....	53
GRAFICO 6. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 1)	53
GRAFICO 7. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta control sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 2).....	54
GRAFICO 8. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta control con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 2).....	54
GRAFICO 9. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las distintas horas de medición (Periodo 2)	55

GRAFICO 10. Nivel de Glucosa en sangre mg/Dl para la dieta cáscara de soya 7.5% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2) 55

GRAFICO 11. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2) 56

GRAFICO 12. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2) 56

1. INTRODUCCIÓN.

Las prácticas de alimentación son distintas entre países, básicamente varía según la disponibilidad de materias primas o alimentos, así como las creencias de las personas de cuál es la mejor manera de alimentar a sus caballos. Sin embargo existen una gran cantidad de insumos disponibles que pueden ser utilizados en la formulación de dietas para caballos. (Nehra *et al* 2005, Suavant *et al* 2004). Debido a dichas tradiciones o creencias, los dueños de caballos están acostumbrados a utilizar solo un número muy bajo de insumos de los disponibles y se niegan a probar nuevas alternativas.

Hablando de alimentos compuestos, el rango de insumos que se utilizan es bastante amplio lo que conlleva a un gran interés por parte de la industria de alimentos balanceados a encontrar nuevas alternativas en la alimentación del caballo.

Existen diferentes maneras de clasificar a los alimentos, puede depender del criterio utilizado en la formulación de dietas (Axelsson, 1943). El sistema internacional de identificación de alimentos, clasifica a los insumos de la siguiente manera (Kellems y Church, 2010).

- 1- Forraje seco.
- 2- Pastura y pastizales.
- 3- Forraje ensilado.
- 4- Concentrados altos en energía.
- 5- Fuentes proteicas.
- 6- Minerales.
- 7- Vitaminas.
- 8- Aditivos.

Desde un punto de vista nutricional la clasificación debería de ser basada en las propiedades y el contenido nutricional del alimento (ricos en proteína, ricos en grasa, de rápida fermentación, ricos en carbohidratos, etc). En las prácticas de alimentación la clasificación se basa en los alimentos mayormente utilizados, como son los forrajes, concentrados, balanceados, etc.

El forraje siempre debe de ser la base en la formulación de una dieta para caballo, esto es debido a la buena relación simbiótica que existe con los microorganismos del sistema digestivo del caballo, así como la producción de energía dejando residuos en forma de ácidos grasos volátiles. Esto nos lleva a decir que es posible cubrir los requerimientos energéticos en la mayoría de los caballos solo con dietas a base de forrajes (NRC, 2007). Sin embargo hoy en día las prácticas más comunes en la alimentación de caballos que practiquen cualquier deporte, es la suplementación de una parte de la dieta con forraje y otra con un concentrado generalmente elaborado a base de cereales (Gallagher *et al.*, 1992, Linder y Gansen 1995, Richards *et al.*, 2006).

El concentrado es incluido en dietas para caballos atletas para incrementar la densidad energética y de esta manera poder llegar a cubrir los requerimientos energéticos. Por otro lado muchas fuentes de fibra pueden ser utilizadas en los alimentos de caballos (Kellems y Church, 2010), sin embargo los más utilizados en la actualidad son las pajas, ensilados o forraje achicalado, en diferentes composiciones botánicas (pastos, leguminosas, etc). (NRC, 2007, Nehra *et al.* 2005).

La Fibra (heno / pastura) es una fuente de energía que frecuentemente se subestima en la nutrición del caballo. Los caballos tienen un colon altamente desarrollado con millones de bacterias capaces de fermentar grandes cantidades de fibra de las plantas. Los ácidos grasos volátiles el producto final de la fermentación de la fibra son absorbidos desde el colon y transportados al hígado. Una vez en el hígado los AGV pueden ser convertidos en glucosa y acumulados

en el hígado como glucógeno o ser convertidos en grasa y ser usados para fortificar el tejido adiposo. La fibra entonces puede ser usada como fuente de energía durante el ejercicio de resistencia ya que la fermentación de la fibra y la absorción de AGV continua largo tiempo luego de la comida. La salud intestinal de un caballo es crítica para el éxito. Normalmente el tracto digestivo del caballo está activo moviendo los ingredientes de las comidas por todo el largo del tracto.

Otro atributo importante del sistema digestivo repleto de fibra es el mantenimiento del flujo de sangre hacia el tracto digestivo durante el ejercicio. La presencia física de fibra en el tracto digestivo ayuda a asegurar que la sangre no se aleje totalmente del sistema digestivo durante el ejercicio. Duren (1990) reporto que el porcentaje de flujo sanguíneo que sale del corazón distribuido al sistema digestivo era más elevado en ponies alimentados que en ponies hambreados durante el ejercicio. Para un caballo el mantenimiento del flujo sanguíneo al sistema digestivo incrementará la habilidad del tejido intestinal para mantenerse activo y evitará el cólico. La fibra en forma de heno o pastura probó ser una excelente fuente de energía para los caballos. Además de la fibra como el forraje están las llamadas "súper fibras". Estas súper-fibras poseen los mismos aspectos beneficiosos del forraje para mantener la salud intestinal y el balance de fluidos y electrolitos pero contienen más energía.

La energía adicional es el resultado del alto contenido de fibra y un componente bajo en lignina (fibra no digestible). Sin embargo estos ingredientes tienen más fibra disponible para la digestión microbiana. Estas súper fibras (pulpa de remolacha, salvado de arroz, cáscara de soya, cáscara de almendras, cascarilla de avena) contienen energía equivalente a la avena y la cebada pero son más seguros porque no producen síntomas de sobrecarga de almidón.

Por otro lado también es importante mencionar el uso de las levaduras, las cuales se han suministrado a animales durante más de 100 años. Su administración se ha dado en distintas formas, ya sea en una masa fermentada producida en el

rancho, como subproductos de levaduras de cervecería o destilería y/o productos comerciales elaborados a base de levaduras específicas para la alimentación de animales. Aun cuando en ciertas explotaciones pecuarias el uso de levaduras en alimentos destinados a la producción animal ha estado presente por varios años, en ciertas regiones su uso y efectos positivos se desconocen. (Ramírez, 2008).

El uso de aditivos de origen natural, en especial de las levaduras activas o vivas y de productos derivados de ellos como minerales en levadura, paredes celulares (Oligosacáridos y β -glucanos), en los últimos años han tomado importancia por los resultados positivos obtenidos de evaluaciones específicas para cada especie productiva. Lo anterior conlleva a una mejor salud del animal, maximiza los procesos de digestión e incrementa la utilización de los nutrientes, así como una mayor producción de energía y síntesis de proteína y hasta una reducción en el uso de antibióticos. (Ramírez, 2008)

Particularmente en equinos la suma de estos efectos favorece la salud del caballo, la condición corporal, reduce trastornos de tipo metabólico como cólicos y laminítis, optimiza los procesos productivos y reproductivos, que se traduce en una mejor estampa, aspecto físico y semblante del caballo (Ramírez, 2008).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

El caballo es un animal monogástrico, en donde la mayor parte de la comida es degradada en el ciego y el colon (**Fig. 1**). Una gran cantidad de saliva es producida a lo largo del esófago permitiendo pero sobre todo facilitando el paso de la comida, además de actuar como bufferizante en el proceso de digestión (Cunha, 1991). Una vez recorrido el esófago, el alimento llega al estómago en donde el paso por el mismo es relativamente rápido, sin embargo una buena porción del alimento permanece de 2 a 6 horas en la parte inferior del estómago (Pilliner, 1991). (**Fig 2**).

Figura 1.- Presentación esquemática del tracto gastro-intestinal del equino. (adaptado de Cunha, 1991)

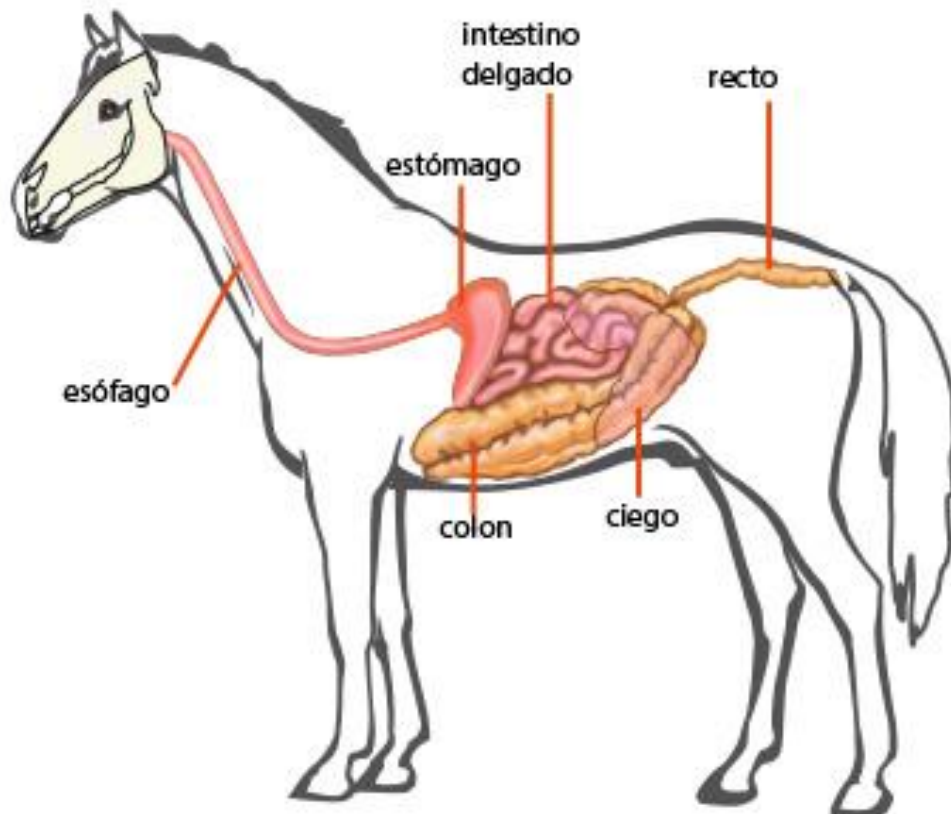
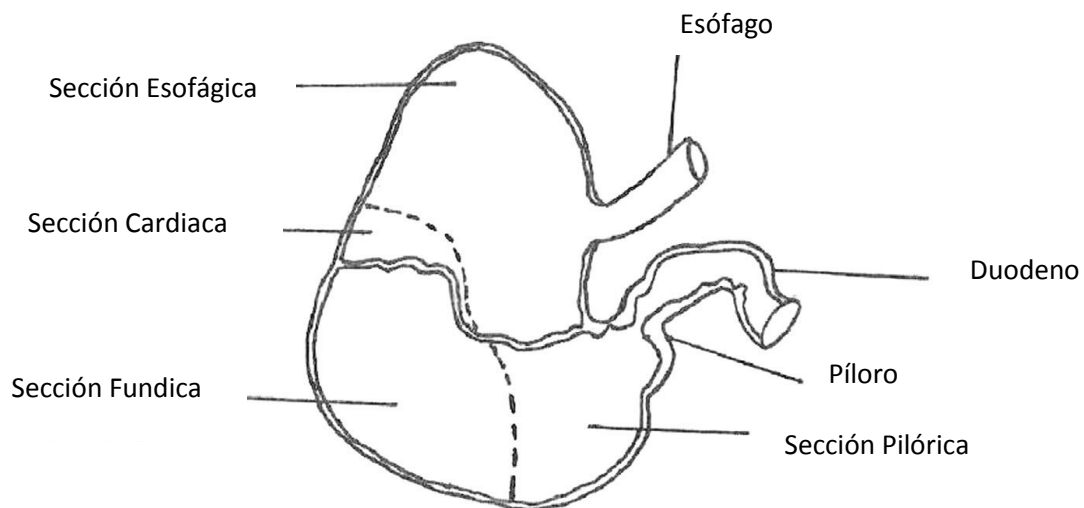


Figura 2.- Anatomía del estómago (adaptado de Pilliner, 1993).



Como producto del proceso de fermentación de carbohidratos se obtiene ácido láctico y el nivel del pH disminuye a 2.6 en el estómago (Frape, 2010). La mayor actividad enzimática y absorción de nutrientes tiene parte en el intestino delgado. Llegando al duodeno el alimento proveniente del estómago es muy ácido y es neutralizado por la bilis producida en el hígado (Colville y Bassert, 2008).

Las proteínas son digeridas para producir aminoácidos y las grasas son transformadas en ácidos grasos volátiles y glicerol (Pagan, 1998).

El alimento llega al ciego y al colon aproximadamente 3 horas después de que el caballo lo consumió (Frape, 2010). El pH del ciego y del colon tiene las condiciones ideales para el correcto funcionamiento de las bacterias anaeróbicas. En esta parte del tracto digestivo se presenta la fermentación de carbohidratos complejos, así como la síntesis de aminoácidos esenciales y de algunas vitaminas (Pagan, 1998).

Cuando tenemos un alimento alto en almidones, los residuos son fermentados en el ciego y el colon y el proceso tiende a volverse más lento, lo cual puede favorecer el crecimiento de bacterias amilolíticas y ocasionar un incremento de

ácidos grasos volátiles (AGV) y la producción de ácido láctico, lo que genera una baja considerable del pH (Biddle *et al*, 2013). La disminución del pH puede llevar al caballo a una acidosis o a generarle un cólico.

El ácido láctico obtenido del proceso de fermentación del almidón en el estómago (Varloud *et al*, 2007) y posteriormente degradado en glucosa por un proceso enzimático en el intestino delgado, es transportado a través de la pared gastrointestinal (Cunha, 1991; Pilliner, 1993).

La ingesta de almidones debe de ser cuidadosamente controlada, cantidades excesivas pueden incrementar los niveles de glucosa en sangre por arriba de lo normal 4.4 – 4.7 mmol/L a más de 6.5 mmol/L después de 2 horas de haber alimentado al caballo (Frape, 2010). Geor (2010) sugiere que la ingesta de almidón debe de ser limitada de 1 – 1.5 gr/kg P.C./día. Reemplazar granos de cereales ricos en almidón con alimentos a base de carbohidratos sin contenido de almidón como la cascara de soya (Lindberg, 2005) o grasa, o aceites (Potter *et al*, 1992b) pueden ser una alternativa para prevenir los problemas relacionados al alto consumo de almidón.

Una dieta para caballos bien balanceada debe de contener solo el 4 % de grasa (Pilliner, 1993). La grasa es degradada mediante un proceso enzimático en AGV's y glicerol en el intestino delgado y posteriormente son absorbidos (Cunha , 1991). Niveles excesivos de grasas pueden reducir la fermentación y la digestibilidad de la fibra. (Rossister, 2008).

Acerca de los minerales en la alimentación de caballos, el calcio y el fósforo tienen un papel fundamental para la formación de huesos (Frape, 2010, Pilliner, 1993). El calcio solo es absorbido en el intestino delgado a diferencia del fósforo que se absorbe en el delgado y el grueso. Según el NRC (2007), los requerimientos de calcio y fósforo para un caballo de 2 años de edad con un peso de 500 kgs debe de ser de 36.7 g/d y 20 g/d respectivamente.

El potasio se absorbe justo antes de llegar al ciego y está asociado con el balance del pH, así como la regulación de fluidos y el metabolismo de carbohidratos (Pilliner, 1993).

En cuanto a las vitaminas, estas juegan un papel importante en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. El requerimiento de vitaminas está ligado al nivel del ejercicio y a las condiciones fisiológicas del caballo. Durante el ejercicio el fluido sanguíneo del tracto digestivo disminuye, a diferencia del fluido sanguíneo en músculo. Esto ocasiona una disminución en la digestibilidad de la materia seca y un incremento en el tiempo de pasaje (Pagan, 1998).

2.1 PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LOS FORRAJES Y CONCENTRADOS.

2.1.1 FORRAJES

Los forrajes están compuestos de contenido celular (proteína, grasa y carbohidratos solubles) y también de paredes celulares (celulosa, hemicelulosa y lignina); existe una variación entre la proporción de los contenidos o tipos de paredes celulares, y es debido a la fuente de forraje y la madurez del mismo al tiempo que fue realizada la cosecha. El contenido celular es altamente digestible (~80 – 100%; Fonnesebeck 1968, 1969), mientras que la verdadera digestibilidad de las paredes celulares es menor (~40 – 50% ; Fonnesebeck 1968, 1969). Por lo que la energía y el valor nutricional de los forrajes puede variar considerablemente (Ragnarsson y Lindberg 2008, 2010). Esto implica que el uso de forraje en la dieta de un caballo debe de ser cuidadosamente seleccionado para poder brindarle los niveles apropiados de energía y de nutrientes y no solo cubrir las necesidades de fibra para el correcto funcionamiento del tracto digestivo.

2.2 INGREDIENTES EN LOS CONCENTRADOS

2.2.1 CEREALES

El contenido de proteína, grasa y carbohidratos puede variar considerablemente según sean las fuentes de cereales, como se muestra en la siguiente tabla (**Tabla 1**).

TABLA 1. Composición química (g/kg de Materia Seca), Proporción de lisina (% de Proteína Cruda), y contenido de ácido linoleico y linolénico (g/kg de Materia Seca) y Energía (MJ/kg de M S) en cereales y sub-productos de cereales^a ^b

	AVENA		CEBADA		TRIGO		MAÍZ			ARROZ		
	Regular	S/cascara	Grano	Grano	Salvado	Afrechillo	Grano	Salvado	Harina	Grano	Salvado	Salvado extr.
Proteína Cruda.	111	124	116	121	170	176	94	123	103	88	153	160
Grasa Cruda.	55	29	21	17	39	41	43	41	62	14	182	34
Almidón.	411	614	602	697	227	314	742	340	522	882	304	335
Azúcares.	12	14	24	28	77	70	18	25	29	5	32	25
FDN.	372	135	216	143	455	355	120	594	293	59	227	267
Fibra Cruda.	138	47	53	25	106	79	25	146	66	13	87	103
Lisina.	4.2	4.2	3.8	3.1	3.9	4.0	3.0	3.7	4.1	3.7	4.4	4.5
Acido Linoléico.	19	10	9	7	18	18	21	20	30	4	52	8
Acido Linolénico.	0.7	0.4	0.9	0.7	1.8	1.9	0.4	0.3	0.5	0.2	2.2	0.4
EB.	19.5	18.8	18.3	18.2	18.8	18.9	18.7	18.9	19.4	18.1	21.5	17.6
ED.	13.1	14.7	14.7	15.4	11.7	13.1	15.9	11.0	13.7	15.7	14.2	12.2
EM.	11.9	13.7	13.7	14.5	10.1	11.4	15.2	9.9	12.6	15.4	12.3	10.7
EN.	9.3	10.8	10.8	11.6	8.1	9.1	12.2	8.1	10.1			

^a Datos de Suavant et al 2004.

^b EB= energía bruta, ED= energía digestible, EM= energía metabolizable, EN= energía neta.

Por otro lado, algunas diferencias en las propiedades nutricionales pueden ser relacionadas a la variación de la composición química debida a alteraciones climáticas, factores agronómicos y la variedad del cereal (Åman *et al*, 1985, Pettersson y Åman, 1987).

El contenido proteico es mayor en el trigo, seguido en orden descendiente por el grano de avena, cebada y con menor contenido el arroz y el grano de maíz. Sin embargo la calidad de la proteína es mayor para el grano de avena, cebada y el arroz, que para el trigo y el maíz (Degussa 1996).

El contenido de grasa es 2 veces más alto en la avena y el maíz, en comparación al del trigo y el arroz (**Tabla 1**). Esto se ve reflejado también en el contenido individual de ácidos grasos esenciales (linoleico y linolénico). Basado en datos existentes, se puede estimar que la grasa que aporta la avena puede proveer aproximadamente el 14 % de la energía digestible (Lindberg *et al*, 2006). En contraste con otros cereales comúnmente utilizados en dietas de monogástricos, en donde la grasa solo provee del 3-5% del contenido de la energía digestible.

En cuanto al contenido de almidón, el arroz es el que tiene mayor contenido, seguido del maíz, trigo, cebada y por último el grano de avena.

El almidón está compuesto de polímeros de glucosa y se presenta en 2 formas: amilasa y amilopectina. El almidón contiene distintas proporciones de amilasa y amilopectina y el rango entre uno y otro depende del origen botánico del almidón. Por ejemplo el trigo contiene un 30% de amilosa del total de almidón, mientras que el maíz contiene el 70%. Por lo que el peso molecular del almidón puede variar significativamente, influyendo en la digestibilidad del alimento. La disponibilidad de glucosa es mayor cuando el tipo de almidón es amilopectina (Lindberg, 2006). Una ingesta alta de almidón puede derivar en varias enfermedades para el caballo, tales como el cólico, úlceras gástricas y laminítis (Beyer, 1998).

Para la porción de fibra el grano de avena es el de mayor contenido, seguido de la cebada, trigo, maíz y arroz (Lindberg, 2006).

Por lo general se dice que algunas causas de cólicos y laminítis son el resultado de cambios en la población microbiana y la fermentación en el ciego y el intestino grueso del caballo que puede ser causado por la cantidad de almidón en la dieta (Bailey *et al*, 2004, Julliand *et al*, 2006).

2.2.2 INSUMOS PROTEICOS

Además de ser altos en proteína, los contenidos de fibra, grasa y almidón varían considerablemente entre cada insumo. La calidad de la proteína (Lisina como % de Proteína Cruda) es más alta en alimentos como en la colza, soya, chícharo, haba y papa, mientras que para otros insumos la calidad de la proteína es mínimamente mejor que la de los cereales (Lindberg, 2006).

La necesidad de suplementar la dieta con un insumo rico en proteína, depende de los requerimientos del caballo, la calidad de la fuente de forraje, así como la cantidad de forraje en la dieta.

2.2.3 INSUMOS DE CARBOHIDRATOS SIN ALMIDÓN

En contraste con los cereales los carbohidratos sin almidón son caracterizados por tener una fracción del carbohidrato compuesta de azúcares hidrosolubles y/o fibra dietética (**Tabla 2**).

TABLA 2. Composición química (g/kg de Materia Seca), Proporción de lisina (% de Proteína Cruda), y contenido de ácido linoleico y linolénico (g/kg de Materia Seca) y Energía (MJ/kg de M S) en varios sub-productos^a

	GDDM ^b	GDDT ^c	GDDC ^d	CASCARA DE SOYA	PULPA DE REMOLACHA	PULPA DE CITRICOS	MELAZA DE CAÑA
PROTEINA CRUDA	279	375	262	134	91	70	54
GRASA CRUDA	44	72	73	25	10	25	15
ALMIDON	130	42	75	0	0	32	0
AZUCARES	6	9	10	17	74	227	639
FDN	356	421	574	631	454	216	0
FIBRA CRUDA	83	102	166	382	194	135	0
LISINA	2.5	3.1	3.2	5.9	7.9	4.1	0.4
ACIDO LINOLEICO	19	26	18	13	2	5	6
ACIDO LINOLENICO	0.3	3	1.8	1.7	0.4	1	-
EB	19.4	21.4	20.5	18.2	17.1	17.6	14.9
ED	15.3	15.2	12.3	12.6	13.8	14.4	12.4
EM	12.3	11.6	10.0	8.7	12.3	12.8	11.7
EN	9.3	8.9	8.0	6.5	8.0	9.9	11.2

^a Datos de Suavant et al 2004.

^bGrano de destilería de maíz, ^cGrano de destilería de trigo, ^dGrano de destilería de cervecería.

EB= energía bruta, ED=energía digestible, EM=energía metabolizable, EN=energía neta.

Son bajos en su contenido de grasa cruda y algunos en su contenido de proteína cruda. Los insumos clasificados en esta categoría son básicamente subproductos y en general el contenido energético es alto. (Lindberg, 2006)

Dentro de este grupo existen 3 subgrupos, los que son ricos en azúcares, ricos en pectina y ricos en celulosa.

-Ricos en azúcares.- En general la energía que contienen los insumos de este sub-grupo es alta. Las melazas y los jarabes se encuentran dentro de los ricos en azúcares. Los azúcares simples tales como la glucosa y la fructosa son bien utilizados por el caballo y son absorbidos en el intestino delgado. Esto se ve reflejado en un incremento en los valores de la glucosa plasmática. (Bullimore *et al*, 2000)

-Ricos en pectinas.- Para este estudio es el sub-grupo de mayor importancia, en el encontramos insumos como la pulpa de remolacha, pulpa de cítricos, cascara de soya de los cuales una fracción de la fibra de la dieta está compuesta de pectina. La energía que contiene este grupo también es alta. Los valores de la energía metabolizable y digestible de estos insumos es comparable a los que aporta la avena regular (**Tabla 1 y Tabla 2**).

La cascara de soya es potencialmente recomendada para el uso en la alimentación de caballos, de igual forma ha sido satisfactoriamente utilizada en la alimentación de rumiantes por mucho tiempo. El componente de carbohidrato en la cascara de soya es caracterizado por tener un alto contenido de fibra en la dieta (~80 % de MS) y un alto contenido de pectina (~30 % de MS) (Karr-Lilienthal *et al* 2005). En contraste el contenido de carbohidratos hidrosolubles y almidón es bajo.

Estudios han demostrado que caballos alimentados con cascara de soya tienen un índice glicémico menor en comparación con los que fueron alimentados con cereales y concentrados. La cascara de soya es mayor y rápidamente fermentada por la microflora del ciego en comparación de la paja (Karr-Lilienthal *et al*, 2005).

-Ricos en celulosa.- En este sub-grupo entran los insumos tales como el salvado de arroz, cascarilla de avena y cascarilla de cebada. Son caracterizados por tener un alto contenido de fibra dietética y celulosa (Karr-Llienthal *et al*, 2005). Por lo general el contenido de energía en este sub-grupo es bajo.

2.3 EFECTOS DE LA SUPLEMENTACION DE LEVADURAS EN CABALLOS

En las últimas 2 décadas han sido reportados los efectos a la suplementación de levaduras en el proceso de digestión y la población microbiana del caballo. Regularmente se observan efectos positivos como el incremento en la disponibilidad de los nutrientes de la dieta, por otro lado la población microbiana puede o no ser incrementada (Lattimer, *et al*, 2007) (Morgan, *et al*, 2007).

Sin embargo la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae* en dietas para caballos ha demostrado una disminución en la acumulación de lactato, así como una disminución del pH, generando un ambiente idóneo para la actividad microbiana. (Jouany, *et al*, 2008)

-Características generales y descripción de una célula de levadura *Saccharomyces cerevisiae*.-

La levadura es un hongo microscópico (organismo unicelular del reino vegetal) que suelen medir de 5 a 10 micras, se consideran como un organismo facultativo anaeróbico, lo cual significa que pueden sobrevivir y crecer con o sin oxígeno (García, 2001). La propagación de las levaduras es un proceso mediante el cual la levadura convierte al oxígeno y al azúcar por medio del metabolismo oxidativo.

La levadura en sí, proporciona vitaminas del complejo B, minerales, es buena fuente de proteína y aminoácidos. Aproximadamente el 40% del peso de la levadura seca consiste en proteína. Aun cuando la levadura no es un ingrediente proteico como tal, la proteína de la célula de la levadura en su gran mayoría está compuesta por aminoácidos esenciales como Lisina, Metionina, Triptofano, entre otros (García, 2007 y García, 2001). Los principales productos utilizados

comercialmente en la alimentación animal, provienen de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Apergyllus oryzae*.

2.3.1 TIPOS DE LEVADURAS

Dentro de las descripciones más afines en producción animal García (2007) explica los tipos de la siguiente manera:

- Levadura inactiva o muerta: Mezcla física con granos de fermentación y levadura viva. Son considerados como nutrilitos y su principal mecanismo de acción es proporcionar nutrientes a los organismos del rumen. No presentan viabilidad.
- Levadura activa o viva.- es un producto a base de productos de fermentación y levadura viva. Tiene la factibilidad de cambiar el tipo y número de microorganismos presentes y mejorar el patrón de fermentación. Tienen alta viabilidad.
- Levadura mineralizada.- Producto derivado de la fermentación, en donde la levadura después de ser sometida a un medio alto de un mineral específico, absorbe al mineral, obteniéndose un mineral ligado a la levadura.
- Levadura de cerveza.- subproducto derivado de la producción de cerveza, su principal función es el aporte de proteína y vitaminas del grupo B.

2.3.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE UNA LEVADURA ACTIVA EN CABALLOS.

La función de las levaduras vivas en caballos es maximizar la digestibilidad, mejorar el patrón de fermentación a nivel del ciego, reducir la acumulación de ácido láctico e incrementar la síntesis tanto de energía como de proteína.

Los caballos tienen una limitada capacidad para digerir grandes cantidades de almidón y comúnmente el exceso del mismo contenido en los granos llega al tracto digestivo y no es digerido en su totalidad. El efecto adverso de la baja capacidad de digestión de almidones a nivel del intestino delgado, ocasiona una alta producción de ácido, el cual origina de manera proporcional una baja en el pH, baja la motilidad intestinal, altera el balance microbiano e incrementa la susceptibilidad a cólicos o laminitis (Ramírez, 2008).

El suministro de granos de cereales a caballos es una práctica común que se realiza de la cual el animal obtiene la energía complementaria para cubrir sus requerimientos cuando su alimentación es a base de forrajes. Potter *et al*, (1992) señalan que cierta cantidad de almidón a nivel de intestino delgado no es digestible, lo cual altera la relación forraje-grano e induce a un disturbio del balance microbiano. Lo anterior conlleva a una acumulación de ácido láctico (baja del pH) y reduce la población de bacterias celulóticas a nivel intestinal, esto incrementa la posibilidad de incidencia de cólicos, úlceras gástricas y laminitis (Kronfeld y Harris, 1997). Una de las estrategias nutricionales con mayor eficacia para contrarrestar dichos problemas ha sido el uso de levaduras vivas *Saccharomyces cerevisiae*. Medina *et al*, (2002) señalan que el suministro de levaduras vivas mejora el balance microbiano a nivel intestinal, estimula la actividad de bacterias celulóticas e incrementa la digestibilidad de los nutrientes. Mientras que Jouany *et al*, (2008) señalan un incremento estadísticamente significativo en la digestibilidad de la fibra y mejora las condiciones a nivel intestinal con el uso de *Saccharomyces cerevisiae* en caballos alimentados con dietas ricas en almidón.

2.4 INDICE GLICEMICO EN CABALLOS

Para tener una dieta más saludable hoy en día la utilización del grano está siendo reemplazada por ingredientes llamados super-fibras (pulpa de cítricos, pulpa de

remolacha, salvado de arroz y cascara de soya), ya que son una buena alternativa como ingredientes con un alto contenido energético para los caballos (Duren, 2000).

El metabolismo energético puede ser dividido en dos procesos: el metabolismo de glucosa y el metabolismo de lípidos (Mcardé, 2001). La estabilidad glicémica es mantenida principalmente por 2 vías metabólicas; el consumo de carbohidratos y la gluconeogénesis, los cuales utilizan principalmente el propionato (Frape, 2008).

Dietas con altos contenidos de alimentos procesados resultan en altos niveles de glucosa e índices glicémicos (Gobesso *et al.*, 2009). El metabolismo energético puede ser evaluado por diferentes variables sanguíneas, tales como los triglicéridos, el colesterol y los ácidos grasos de cadena corta (Wittwer, 2000). Los microorganismos en ciego y colon degradan la fibra del alimento y la convierten en ácidos grasos de cadena corta como el acético, propiónico, láctico y butírico los cuales son responsables de aportar del 30 al 70% del total del requerimiento energético del caballo, esto dependiendo del contenido de fibra, carbohidratos solubles o del contenido de almidón en la dieta (Lewis, 2000).

El valor glicémico para un alimento es determinado mediante la comparación del área debajo de la curva de respuesta de glucosa plasmática del alimento a probar con la de un alimento estándar. Para el caso del caballo el alimento estándar es el grano de avena. El índice glicémico de cualquier alimento es calculado y expresado como el porcentaje de la respuesta de glucosa, con el de la respuesta del alimento estándar (Wolever, 1991).

Formular dietas para caballos que produzcan respuestas glicémicas atenuadas puede brindar beneficios en la salud del caballo, como la prevención o disminución de la resistencia a la insulina y efectos relacionados a laminitis y a otros trastornos metabólicos (Kronfeld, 2005).

3. JUSTIFICACIÓN.

Se ha encontrado que la alimentación tradicional de caballos basada en el uso de alimentos concentrados con altos contenidos de cereales que aportan cantidades elevadas de almidón se asocian a trastornos digestivos en el caballo, así mismo, que el uso de las denominadas súper fibras y las levaduras vivas pueden contribuir a disminuir dichos trastornos.

4. HIPÓTESIS.

La inclusión de cáscara de soya en presencia del aditivo *Saccharomyces cerevisiae*, contribuyen a mejorar significativamente el aporte energético y benefician la ecología de las cámaras de fermentación en caballos maduros con trabajo moderado.

5. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.-

Evaluar distintos niveles de inclusión de cáscara de soya con o sin la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre los índices glicémicos en comparación a una dieta convencional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.-

- Determinar el mejor nivel de inclusión de cáscara de soya sobre los parámetros de fermentación *in vitro*, para la utilización de las mismas en el experimento *in vivo*.
- Determinar la mejor dosis de *Saccharomyces cerevisiae* sobre los parámetros de fermentación *in vitro*, para la utilización de las mismas en el experimento *in vivo*.
- Determinar la degradabilidad *in vitro* de la materia seca de los distintos niveles de inclusión de cáscara de soya y *Saccharomyces cerevisiae*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 EXPERIMENTO *IN VITRO*

6.1.1 SUSTRATOS Y LEVADURAS

En la primera prueba, tres raciones totalmente mezcladas (RTM) fueron formuladas y utilizadas como sustratos para la incubación (Tabla 3). El maíz rolado al vapor fue reemplazado por cáscara de soya al 0% (control), 7.5% (CS75) y 15% (CS150). En la segunda prueba, tres RTM fueron formuladas de igual manera a las anteriores y utilizadas como sustratos para la incubación, reemplazando el grano de maíz rolado al vapor por harina de nopal al 0% (control), 7.5% (HN75) y 15% (HN150). Se utilizó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* de Procreatin 7 (Safmex/Fermex S.A. de C.V., Toluca México) en forma de polvo que contiene 1×10^{10} células/g) y fue adicionada a cada ración en 0,2 y 4 mg/g de materia seca (MS).

6.1.2 INCUBACIONES *IN VITRO*

Antes de comenzar la incubación, se colectaron muestras fecales (la fuente de inóculo) directo del recto de 4 caballos adultos en el Hospital de Grandes Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Estado de México, México (7 a 9 años de edad y un peso de 490 ± 20.1 kg) antes de que fueran alimentados por la mañana. Los caballos fueron alimentados con un concentrado comercial y heno de avena *ad libitum*. El contenido fecal de cada caballo fue mezclado y homogenizado para obtener una muestra homogénea de heces, la cual fue mezclada con la solución buffer de Goering y Van Soest sin tripticasa en una proporción de 1:4 v/v. Los medios de incubación se mezclaron y se sometieron a filtrado a través de cuatro capas de gaza en un matraz con un espacio libre de O₂ y se usaron para inocular tres ciclos idénticos de incubación en frascos de suero de 120 ml que contenían 1 g de MS de sustrato.

Se utilizaron un total de 135 frascos (3 dosis de levadura × 3 repeticiones × 3 corridas × 5 sustratos) más tres botellas sin sustrato y levadura como blancos. Después de llenar todos los frascos, se les inyectó CO₂ y se cerraron inmediatamente con tapones de goma, se agitaron y se colocaron en una incubadora previamente colocada a 39 °C. Las producciones de gas y CO₂ se registraron a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48 y 72 horas utilizando la técnica del transductor de presión (Extech instruments, Waltham, USA) de Theodorou. La producción de CO₂ se registró utilizando un detector Gas-Pro (Analizador de gases CROWCON Modelo Tetra3, Abingdon, Reino Unido).

Al final de la incubación después de las 72 h, se destaparon los frascos y se midió el pH usando un potenciómetro digital (Conductronic pH 15, Puebla, México) y el residuo de cada botella se filtró. Los residuos de fermentación fueron secados a 65 ° C durante 72 h para estimar la degradación de la MS (DMS).

6.1.3 ANÁLISIS Y CÁLCULOS QUÍMICOS

Las muestras de la RTM se analizaron para MS (# 934.01), ceniza (# 942.05), N (# 954.01) y EE (# 920.39) de acuerdo con la AOAC (1997)

Se calculó la energía digestible (ED, Mcal/kg) como: $ED = (3.6 + 0.211PC + 0.421E + 0,015FC) / 4.184$ (NRC, 2007)

Se calculó la proteína cruda digestible (PCD; g / kg de MS) como: $PCD = 4.49 + 0.8533 PC$ (NRC, 2007)

Para estimar los parámetros cinéticos de producción de gas (PG), los resultados de PG (ml / g MS) se ajustaron utilizando la opción NLIN de SAS (2002) de acuerdo con la ecuación de France *et al* (2000) como:

$$A = b \times (1 - e^{-c(t - L)})$$

Dónde: A es el volumen de PG en el tiempo t; b es la PG asintótica (ml / g de MS); c es la tasa de PG (/ h), y L (h) es el tiempo de retardo antes de la PG.

6.1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de cada una de las tres corridas, dentro de la misma muestra de cada una de las tres muestras individuales de la RTM se promediaron antes del análisis estadístico. Se utilizaron los valores medios de cada muestra individual como unidad experimental. Los resultados de la producción de gas *in vitro* y de los parámetros de la fermentación fecal fueron analizados como un experimento con arreglo factorial de tratamientos utilizando el PROC GLM opción de SAS (2000) como:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j + (R \times A)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = es cada observación de la i-ésima RTM

(R_i) = la j-ésima dosis de levadura (A_j)

μ = es la media general

$(R \times A)_{ij}$ = es la interacción entre el tipo de dieta y la dosis de levadura

E_{ijk} = es el error experimental

Se utilizaron contrastes de polinomios ortogonales para examinar las respuestas (lineal y/o cuadrática) a los niveles de adición de la prueba (reemplazo de grano de maíz rolado con vapor y dosis de levadura). La significancia estadística se declaró a $P < 0.05$. La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey.

6.2 EXPERIMENTO *IN VIVO*

6.2.1 ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de Hacienda La Purísima, situado en el Municipio de Ixtlahuaca, Estado de México. Dicha explotación cuenta con un criadero de caballos lusitanos dentro de los cuales se llevó a cabo la selección de los caballos utilizados en el experimento.

6.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar con 24 caballos de raza lusitano y un peso promedio de 458 kg \pm 10 kg y con un promedio de edad de 8 años. La duración del experimento fue de 21 días dividido en 2 periodos, el periodo uno del día 0 al día 5 y el segundo periodo del día 16 al día 21 y fueron utilizados 6 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Los caballos fueron alimentados con 4 Kg de concentrado al día, repartidos en 2 comidas, por la mañana (8 a.m.) y por la tarde (5 p.m.). Se ofreció heno de pradera y agua ad libitum. A continuación se muestran las tablas de ingredientes con los tratamientos utilizados.

TABLA 3. CONTROL (SIN Y CON LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae*).

Tratamientos 1 y 2

Ingrediente	% Inclusion	ED	PC	PCD	Ca	P	Mg	Na	K	Cl	Zn	Cu	Fe
Avena	24.8	0.83	24.304	20	0.27	0.79	0.248	0.0248	1.1408	0.248	5.704	0.744	26.288
Maíz	25.0	0.94	20.25	16	0.10	0.65	0.25	0.01	0.8	0.125	4.75	0.5	8
Cebada	25.0	0.88	25.25	20	0.18	0.85	0.275	0.025	1.2	0.275	7.5	2.25	39.5
Salvado	12.0	0.40	17.52	14	0.17	1.16	0.324	0.012	1.428	0.096	0	0	0
Gluten Feed	3.0	0.10	5.79	5	0.05	0.27	0.102	0.069	0.36	0.06	1.59	0.15	6.54
Pasta Soya	3.0	0.10	12.99	11	0.10	0.19	0.087	0	0.636	0.012	0	0	0
Cascara de soya	0.0	0.00	0	0	0.00	0.00	0	0	0	0	0	0	0
Melaza	7.0	0.23	2.8	2	0.52	0.04	0.231	0.161	2.618	0.0833	0.91	2.03	13.16
Vit/Min	0.2	0.01	0.4	0	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	100.0	3.49	12.14	89	1.38	4.05	1.52	0.30	8.18	0.90	20.45	5.67	93.49

TABLA 4. 7.5 % DE INCLUSIÓN DE CÁSCARA DE SOYA (CON Y SIN *Saccharomyces cerevisiae*).

Tratamientos 3 y 4.

Ingrediente	% Inclusion	ED	PC	PCD	Ca	P	Mg	Na	K	Cl	Zn	Cu	Fe
Avena	24.8	0.83	24.304	20	0.27	0.79	0.248	0.0248	1.1408	0.248	5.704	0.744	26.288
Maíz	17.5	0.66	14.175	11	0.07	0.46	0.175	0.007	0.56	0.0875	3.325	0.35	5.6
Cebada	25.0	0.88	25.25	20	0.18	0.85	0.275	0.025	1.2	0.275	7.5	2.25	39.5
Salvado	11.0	0.37	16.06	13	0.15	1.07	0.297	0.011	1.309	0.088	0	0	0
Gluten Feed	3.0	0.10	5.79	5	0.05	0.27	0.102	0.069	0.36	0.06	1.59	0.15	6.54
Pasta Soya	3.0	0.10	12.99	11	0.10	0.19	0.087	0	0.636	0.012	0	0	0
Cascara de soya	7.5	0.17	9	7	0.37	0.11	0.165	0.0075	0.9	0.015	3	0.6	43.5
Melaza	8.0	0.26	3.2	2	0.59	0.05	0.264	0.184	2.992	0.0952	1.04	2.32	15.04
Vit/Min	0.2	0.01	0.4	0	0.41	0.10	0.08	0.00	0.00	0.00	0.16	0.10	0.10
Total	100.0	3.37	12.35	90	2.19	3.87	1.69	0.33	9.10	0.88	22.32	6.51	136.57

TABLA 5. 15 % DE INCLUSIÓN DE CÁSCARA DE SOYA (CON Y SIN *Saccharomyces cerevisiae*).

Tratamientos 5 y 6

Ingrediente	% Inclusion	ED	PC	PCD	Ca	P	Mg	Na	K	Cl	Zn	Cu	Fe
Avena	24.8	0.83	24.304	20	0.27	0.79	0.248	0.0248	1.1408	0.248	5.704	0.744	26.288
Maíz	10.0	0.38	8.1	6	0.04	0.26	0.1	0.004	0.32	0.05	1.9	0.2	3.2
Cebada	25.0	0.88	25.25	20	0.18	0.85	0.275	0.025	1.2	0.275	7.5	2.25	39.5
Salvado	12.0	0.40	17.52	14	0.17	1.16	0.324	0.012	1.428	0.096	0	0	0
Gluten Feed	3.0	0.10	5.79	5	0.05	0.27	0.102	0.069	0.36	0.06	1.59	0.15	6.54
Pasta Soya	2.0	0.07	8.66	7	0.07	0.12	0.058	0	0.424	0.008	0	0	0
Cascara de soya	15.0	0.33	18	15	0.74	0.21	0.33	0.015	1.8	0.03	6	1.2	87
Melaza	8.0	0.26	3.2	2	0.59	0.05	0.264	0.184	2.992	0.0952	1.04	2.32	15.04
Vit/Min	0.2	0.01	0.4	0	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	100.0	3.25	12.36	90	2.10	3.82	1.70	0.33	9.66	0.86	23.73	6.86	177.57

6.2.4 TOMA DE MUESTRAS

Se tomaron muestras de sangre vía venopunción yugular a los 24 caballos que fueron alimentados con los tratamientos antes mencionados en el último día de cada periodo. Las muestras fueron tomadas en la comida de la mañana y en la comida de la tarde, 15 minutos antes de ser alimentados, a los 30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después de haber sido alimentados. Se utilizó un equipo de medición de glucosa ACCU-CHEK Performa para poder graficar las curvas de glucosa por tratamiento.

7. RESULTADOS

7.1. Evaluación *in vitro* de la dietas

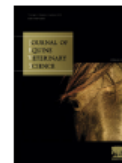
Journal of Equine Veterinary Science 42 (2016) 94–101



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Equine Veterinary Science

journal homepage: www.j-evs.com



Original Research

Effect of Partial Replacement of Steam Rolled Corn With Soybean Hulls or Prickly Pear Cactus in the Horse's Diet in the Presence of Live *Saccharomyces cerevisiae* on In Vitro Fecal Gas Production



Alejandro Esquivel Velázquez^a, Ahmed E. Kholif^b, Mona M.Y. Elghandour^a, Abdelfattah Z.M. Salem^{a,*}, Roberto Montes de Oca Jiménez^a, Alberto Barbabosa Pliego^a, Nicholas Odongo^c, José Luis Bórquez^a, Moisés Cipriano^d, Jaime Olivares^d

^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, México

^b Dairy Science Department, National Research Centre, Giza, Egypt

^c Department of Animal Sciences, School of Agriculture, Pwani University, Kilifi, Kenya

^d Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guerrero, Guerrero, México

Effect of partial replacement of steam rolled corn with soybean hulls or prickly pear cactus in the horse's diet in the presence of live *Saccharomyces cerevisiae* on *in vitro* fecal gases production

Alejandro Esquivel Velázquez, Ahmed E. Kholif, Mona M.Y. Elghandour, Abdelfattah Z.M. Salem, Roberto Montes de Oca Jiménez, Alberto Barbabosa Pliego, Nicholas Odongo, José Luis Borquez, Moisés Cipriano, Jaime Olivares.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, México

² Dairy Science Department, National Research Centre, 33 Bohouth St. Dokki, Giza, Egypt

³*Department of Animal Sciences, School of Agriculture and Environmental Sciences, Pwani University, P. O. Box 195-80108, Kilifi, Kenya*

* Corresponding author at: A. Z. M. Salem, Universidad Autónoma del Estado de México, 50000 Toluca, Mexico.

E-mail address: asalem70@yahoo.com (A.Z.M. Salem).

Running head: *yeast and in vitro fecal fermentation*

Abstract

The aim of the study was to evaluate the fecal fermentation of partial replacing steam rolled corn with soybean hulls (SH) or prickly pear cactus (PC) as energy source in horse diets, in the presence of *Saccharomyces cerevisiae*. Steam rolled corn was replaced with SH at 0 (control), 7.5 (SH75) and 15% (SH150) - first trial, while it was replaced with PC at 0 (control; the same of the first trial), 7.5 (PC75) and 15% (PC150) in the second trial. Yeast of *Saccharomyces cerevisiae* was added at 0, 2 and 4 mg/g DM of incubated substrates. Fecal *inoculum* was obtained from 4 adult horses fed on an amount of commercial concentrate and oat hay *ad libitum*. Interactions occurred between PC rations and yeast dose for the asymptotic gas production (GP), the rate of GP and CO₂ production during some incubation hours. Moreover, with no effect due to SH rations, increased (P<0.05) rate of GP was observed with the ration PC75 compared to other rations. Besides, PC75 and PC150 rations with 0 mg yeast/g DM linearly decreased (P<0.05) CO₂ production at some incubation hours. However, SH75 and SH150 ration had increased (P=0.005) dry matter degradability (DMD). Yeast addition at 2 mg/g DM increased the asymptotic GP (P=0.048) with the SH75 and PC150 rations. The level of 4 mg yeast/g DM increased the asymptotic GP (P=0.048) from the SH150 ration. Yeast addition at 2 and 4 mg/g DM increased the asymptotic GP from PC75 and PC150 rations, respectively with increasing DMD with the both doses. Yeast addition increased (P<0.05) CO₂ production from SH75, SH150, PC75 and PC150 rations. It could be concluded that SH and PC can replace corn at levels of 7.5 to 15% without negative effect of fermentation kinetics and with better fermentation performance in the presence of yeast 2 mg/g DM of substrates.

Keywords: cactus, energy feeds, fecal inoculum, gas production, soybean hulls, yeast.

1. Introduction

Grains represent important sources of energy to horses. Feeding diets with high-grain contents is associated with some feeding disorders and less feed utilization [1] due to microbial profile disturbance [2] and impaired fibrolytic activity in the hindgut [3]. Therefore, partial replacement of grains (energy sources) with other feeds, rich in fibers, would appear to be a good alternative solution to prevent such problems and increase feed utilization and reduce feeding costs.

Soybean hulls (SH) can provide animals with adequate energy without causing some of the common feeding disorders associated with high-grain diets feeding [4]. The SH have been used successfully to feed ruminant with economic advantages, as it contains high digestible fiber with very low starch content [4]. Moreover, SH is characterized by its rapidly degradation in the horse's digestive system by cecal microflora [5] due to its high cellulose and hemicellulose contents with low lignin content. These characteristics give the SH an extensive ability for bacterial fermentation [6], mainly in the cecum [7].

Due to special characteristics of prickly pear cactus (PC) including drought and salinity resistance, high biomass yield, and high palatability; it can be used as a livestock feed in arid and semiarid zones. However, little information is available about its nutritive value in animal feeding because not much effort has been employed to improve its utilization as livestock feed [8]. It contains high levels of water-soluble and non-fiber carbohydrates with low concentrations of structural fibers, making it a rapid ruminal degradable feed [9].

Yeast feeding, to horses, positively influences feed utilization (i.e., feed intake and digestion) and hindgut microbial population dynamics [10]. Yeast feeding to horses improved digestion and fermentation kinetics of feeds in both *in vitro* [11,12] and *in vivo* [10] studies. Yeast supplementation has been shown to increase the total number of hindgut microorganisms [13], increase hindgut cellulolytic bacteria

numbers, and raise fermentation pH. However, some *in vitro* [13] and *in vivo* [14] studies reported no effect with feeding yeast to horses. This inconsistency may be due to the natural and type yeast culture product as well as types of diets [10].

In the current experiment, it was hypothesized that partial replacement of steam rolled corn grains with SH or PC as feed ingredients in the diet of horses in the presence of yeast would significantly improve feed digestibility. Therefore, the current study aimed to assess the effect of partial replacement of steam rolled corn at different levels with SH (trial 1) or PC (trial 2) in the presence of live *Saccharomyces cerevisiae* at different levels on *in vitro* total gas (GP) and carbon dioxide (CO₂) productions.

2. Materials and methods

2.1. Substrate and Yeast Cultures

In the first trial, three total mixed rations (TMR) were formulated and used as incubation substrates (Table 1). Steam rolled corn was replaced by soybean hulls at 0% (control), 7.5% (SH75) and 15% (SH150). In the second trial, three TMR were formulated as above and used as incubation substrates with replacing the steam rolled corn by prickly pear cactus at 0% (control), 7.5% (PC75) and 15% (PC150). Yeast of *S. cerevisiae* of Procreatin 7 (Safmex/Fermex S.A. de C.V., Toluca, Mexico) in powdered form containing 1×10^{10} cells/g) was added to each ration at 0, 2 and 4 mg/g DM.

2.2. In Vitro Incubations

Before starting incubation, fecal contents (the inoculum source) was collected from the rectum of 4 adult horses at the hospital of Facultad de Medicina Veterinaria y

Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, México (7 to 9 years of age and weighing 490 ± 20.1 kg) before the morning feeding. Horses were fed some commercial concentrate and oat hay *ad libitum*. Fecal contents from individual horses were mixed and homogenized to obtain a homogenized sample of feces of each treatment which were mixed with the Goering and Van Soest [15] buffer solution without trypticase in the ratio of 1:4 v/v. The incubation media was then mixed and strained through four layers of cheesecloth into a flask with an O₂-free headspace, and used to inoculate three identical runs of incubation in 120-ml serum bottles containing 1 g DM of substrate.

A total number of 135 bottles (3 yeast doses \times 3 replicates \times 3 runs \times 5 substrates) plus three bottles without substrate and yeast as blanks were used. After filling all bottles, they were flushed with CO₂ and immediately closed with rubber stoppers, shaken and placed in an incubator set at 39 °C. Gas and CO₂ productions were recorded at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48 and 72 h using the Pressure Transducer Technique (Extech instruments, Waltham, USA) of Theodorou et al [16]. CO₂ production was recorded using Gas-Pro detector (Gas Analyzer CROWCON Model Tetra3, Abingdon, UK).

At the end of incubation after 72 h, bottles were uncapped and the pH was measured using a digital pH meter (Conductronic pH15, Puebla, Mexico), and the residual of each bottle was filtered under vacuum through glass crucibles with a sintered filter, then fermentation residues dried at 65 °C for 72 h to estimate DM disappearance (DMD).

2.3. Chemical analyses and calculations

Samples of the TMR were analyzed for DM (#934.01), ash (#942.05), N (#954.01) and EE (#920.39) according to AOAC [17].

Digestible energy (DE; Mcal/kg) was calculated as: $DE = (3.6 + 0.211CP + 0.421EE + 0.015CF) / 4.184$ [18].

Digestible crude protein (DCP; g/kg DM) was calculated as: $DCP = 4.49 + 0.8533 CP$ [18].

To estimate the kinetic parameters of GP, results of GP (mL/g DM) were fitted using the NLIN option of SAS [19] according to the equation of France et al [20] as:

$$A = b \times (1 - e^{-c(t-L)})$$

where: A is the volume of GP at time t ; b is the asymptotic GP (mL/g DM); c is the rate of GP (/h), and L (h) is the discrete lag time prior to GP.

2.4. Statistical Analyses

Data of each of the three runs within the same sample of each of the three individual samples of TMRs were averaged before statistical analysis. Mean values of each individual sample were used as the experimental unit. Results of *in vitro* GP and rumen fermentation parameters were analyzed as a factorial experiment using the PROC GLM option of SAS [19] as:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j + (R \times A)_{ij} + E_{ijk}$$

Where: Y_{ijk} is every observation of the i th TMR (R_i) with j th yeast dose (A_j); μ is the general mean; $(R \times A)_{ij}$ is the interaction between ration type and yeast dose; E_{ijk} is the experimental error. Linear and quadratic polynomial contrasts were used to examine responses to increasing addition levels of test (steam rolled corn replacement and yeast doses). Statistical significance was declared at $P < 0.05$.

3. Results

The chemical composition of ingredients and incubation substrates is shown in Table (1). The CF content of the diets increased with increasing levels of SH or PC in diets. The CP and digestible CP contents were similar with different levels of SH but decreased in value with increasing levels of PC in the diet.

3.1. Trial 1

3.1.1. Interaction Effects

There were no interaction between TMR type and yeast dose for GP parameters, and DMD (Table 2). Interaction effects were observed ($P < 0.05$) between ration type and yeast dose for CO₂ production at different times of incubation (Table 3).

3.1.2. Diet Effects

Replacing steam rolled corn with SH had no effect ($P > 0.05$) on GP parameters and GP during different incubation hours. Moreover, fermentation pH did not differ between different TMR. However, replacing steam rolled corn with SH linearly ($P = 0.005$) increased DMD (Table 2).

The main effects of TMR type without yeast addition showed decreased ($P < 0.05$) CO₂ production at most incubation hours when steam rolled corn was replaced with SH (Table 3).

3.1.3. Yeast Effects

Yeast addition affected the asymptotic GP (quadratic effect, $P=0.048$) and lag time (linear effect, $P=0.018$). The effect of yeast differed across the three rations. For the control and SH150 ration, yeast addition quadratically decreased the asymptotic GP ($P=0.048$), while for the SH75 ration, yeast addition quadratically increased the asymptotic GP. For the control and SH150 rations, yeast addition linearly decreased fermentation pH, while for the SH75 ration, yeast addition linearly increased it ($P=0.020$) (Table 2).

For all rations, yeast addition, quadratically increased ($P<0.05$) CO₂ production at 2 h of incubation and from 14 h to 72 h of incubation. The most effective dose differed across rations but the highest CO₂ was produced with 2 mg/g DM yeast for the SH150 ration (Table 3).

3.2. Trial 2

3.2.1. Interaction Effects

Interactions between ration type and yeast dose were observed for the asymptotic GP ($P=0.015$), the rate of GP ($P=0.018$) and at 2 h of incubation ($P=0.034$; Table 4). In addition, interactions were observed between ration type and yeast dose for DMD ($P=0.046$; Table 4) and CO₂ production during incubation hours of 4 h to 36 h (Table 5).

3.2.2. Diet Effects

Increasing levels of PC in the ration linearly increased asymptotic GP ($P=0.008$) and the rate of GP ($P=0.005$; Table 4). Lag time, gas production at incubation

hours of 2 h to 72 h, fermentation pH and DMD were not affected ($P>0.05$; Table 4).

Increasing levels of PC in the ration linearly decreased ($P<0.05$) CO_2 production at different incubation hours (Table 5).

3.2.3. Yeast Effects

Increasing the dose of yeast linearly ($P=0.037$) decreased asymptotic GP but had no effect ($P>0.05$) on lag time (Table 4). Increasing yeast levels quadratically increased ($P=0.044$) the rate of gas production and quadratically ($P=0.025$) increased DMD. Fermentation pH was not affected across rations (Table 4).

Yeast addition decreased CO_2 from the control ration but increased CO_2 production from PC75 and PC150 rations at various incubation hours (Table 5).

4. Discussion

Using *in vitro* fermentation technique to evaluate feed nutritive value and utilization is common method in ruminant and equine nutrition. Using feces as a source of inoculum is a popular method in equine feeds *in vitro* evaluation [11,21]. Using rumen fluid or feces as a source of inoculum showed the same amounts of gases from feeds [22]. Moreover, the technique of Theodorou et al [16] has been used successfully for studying the *in vitro* fecal fermentation with some modifications including the use of feces as inoculum source [11,23] with longer lag phase, with feces compared with rumen liquor inoculum, which may be due to the different number of microorganisms per gram of rumen liquor or feces.

Because no interaction was observed between SH rations and yeast doses for GP parameters, the main effect of SH rations and yeast doses will be discussed. In the

contrary, interactions occurrence between PC rations and yeast doses for the asymptotic GP, the rate of GP and CO₂ production reveal that the effective dose will be ration dependent. Ration containing either steam rolled corn or SH produced insignificantly different amount of gases, revealing that soybean hulls has almost the same nutritive value of steam rolled corn. Soybean hulls contain large concentration of nonamylaceous polysaccharides, which are considers as rich energy sources in the diets of horses [24]. Rich content of nonamylaceous polysaccharides with poor starch content make SH an ideal feed component in the diet of horses with less potential to cause digestive disturbances, thus less bypass of starch to the large intestine. Almost no study substituted the main energy source of equine's diets with SH or PC; however, no almost no study used PC in horses, where many used SH as a substitute for the forage portion of diet [4,24] with promising results.

There is limited data both *in vitro* and *in vivo* on the use of PC in the diet of horses. Some parallels with experimentation with ruminants will therefore be highlighted. Ration of PC75 increased rate of GP without affecting the asymptotic GP, or the lag time. This may be due to the high contents of readily available carbohydrates and non-fiber carbohydrates in the PC, which are rapidly degraded in the rumen [9] resulting in stimulated microbial growth, as it serves as a source of energy for ruminal microflora. However, increasing PC level (i.e., at PC150) may result in increased soluble carbohydrates content in the rumen thus depressing ruminal cellulolytic activity and decreasing rate of GP [25]. In addition, in their review, Ben Salem et al [25] reported that increasing PC level in diets might impair the microbial growth in the rumen due to high levels of minerals. In agreement with the current results, Tegegne et al [26] observed that *in vitro* rate of ration degradation increased with increasing PC level.

The effect of yeast differed between SH rations and was dose dependent. The asymptotic GP was increased with yeast addition to SH containing rations (i.e.

SH75 and SH150). Moreover, yeast addition to PC containing rations increased the asymptotic GP and the rate of GP. Several studies [11,27] have shown that the responses to *S. cerevisiae* addition were substrate and dose dependent. In many reports, yeast showed improve microbial profile and balance the hindgut of horses, in addition to stimulating the cellulolytic bacterial number and activity [28] resulting in increased digestibility and GP [11,12]; however, the DMD of SH containing rations was not affected in the current study with yeast addition, but the positive effect was clear with PC containing rations (i.e., PC75 and PC150). Moreover, yeast addition decreased the lag time with SH rations. In addition, Newbold et al [29] stated that *S. cerevisiae* might scavenge O₂, which is toxic to anaerobic bacteria in the cecum, and activate cellulolytic bacteria attachment to plant cell wall components. Besides, the small peptides and other active nutrients required by cellulolytic bacteria to induce growth is present in *S. cerevisiae* [29] resulting in improved fermentation activity inside the cecum.

The dose of 2 mg yeast/g DM with PC150 ration increased the asymptotic GP and the rate of GP compared to the dose 4 mg yeast/g DM with PC75 ration. In contrary, the doses 2 mg and 4 mg/g DM were the effective doses with rations SH75 and SH150, respectively. The different responses to yeast dose with incubated substrates concur with the assumption of Elghandour et al [11] that responses to yeast are highly variable and substrates composition dependent. *S. cerevisiae* addition did not affect the DMD of SH rations, which is in agreement with the results of Elghandour et al [12] who obtained no change in *in vitro* DMD with *S. cerevisiae* addition to a fiber-based equine diet. However, *S. cerevisiae* increased DMD of PC rations with different effective doses; as the interactions between PC ration and yeast doses was significant for DMD.

Interactions were observed between ration type and yeast dose for CO₂ production. This indicates that the effective dose will vary between rations. This was clear as both doses of yeast had almost the same effect with the ration SH75,

while the dose 2 mg yeast was more effective than the dose 4 mg yeast when incubated with SH150 ration. Soybean hulls rations and PC rations decreased CO₂ production compared with the control ration. The volume of gas and gas types (i.e., hydrogen, CO₂ and CH₄) reflect the fermentation potential of the diet [11,12] as it depends on nutrient availability for inocula microorganisms during fermentation [30]. Soybean hulls contain higher fiber content than steam rolled corn, with higher protein contents. In the contrary, PC contains high concentration from readily available carbohydrates, and non-fiber carbohydrates [26]. Fermentation of dietary carbohydrates produces mainly acetate, propionate and butyrate, in addition to gases. Increasing fiber portions may direct the fermentation towards the production of acetate instead of gases, which resulted in unaffected GP between different results. Unaffected GP, with increasing CO₂ production with SH and PC indicates increasing acetate production; however, it was not determined in the current study. In addition, the decreased CO₂ production of SH rations may be related to the higher CP contents of SH than in steam rolled corn (12.0 vs. 8.1%, respectively). Protein degradation in the rumen leads to the accumulation of NH₃-N in the incubation medium, and preventing the release of CO₂, in the incubation bottles [31].

Yeast addition increased CO₂ production with higher production with yeast addition at 2 mg/g DM of SH and PC ration. Besides, yeast increased CO₂ production from PC75 and PC150 rations at both yeast levels. Little information is available on the effect of yeast on CO₂ production in ruminant and equines. However, increased CO₂ production can be considered as an indicator of improved fibers digestion by yeast addition [10]. The hydrolysis of feed fibers (i.e., cellulose and hemicelluloses) in the digestive tract of horses produces large amounts of H₂ and CO₂ [32]. In an in vitro experiment [12] and in an in vivo experiment [10] observed unaffected CO₂ production with yeast addition to equine fiber-based diets.

5. Conclusions

Soybean hulls and prickly pear cactus can replace steam rolled corn in diets of horses at levels of 7.5 to 15% with no negative effect on in vitro fermentation. Yeast addition had positive impact on fermentation of diets containing SH and PC than that containing steam rolled corn. The dose of 2 mg/g DM of diet was more effective than the dose of 4 mg/g DM. More studies, including in vivo experiments, are recommended to investigate replacing corn and other grains with SH and PC at different levels.

Acknowledgements

Authors would like to thank the financial support from Universidad Autónoma del Estado de México of the project #3706/2014 CID.

References

- [1] Rowe JB, Lees MJ, Pethick DW. Prevention of acidosis and laminitis associated with grain feeding in horses. *J Nutr* 1994;124: 2742S–4S.
- [2] Potter GD, Arnold FF, Householder DD, Hansen DH, Brown KM. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. *Proceeding of the Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes*. Hannover, Germany; 1992.p. 107–111.
- [3] Mungall BA, Kyaw-Tanner M, Pollitt CC. *In vitro* evidence for a bacterial pathogenesis of equine laminitis. *Vet Microbiol* 2001;79: 209-223.

- [4] Coverdale JA, Moore JA, Tyler HD, Miller-Auwerda PA. Soybean hulls as an alternative feed for horses. *J. Anim. Sci.* 2004; 82:1663–1668.
- [5] Moore-Colyer MJS, Hyslop JJ, Longland AC, Cuddeford D. The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies. *Br. J. Nutr* 2002; 88:729–740.
- [6] Miron J, Yosef E, Ben-Ghedalia D. Composition and *in vitro* digestibility of monosaccharide constituents of selected byproduct feeds. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49:2322–2326.
- [7] Hintz HF, Hogue DE, Walker Jr, Lowe JE, Schryver HF. Apparent digestion in various segments of the digestive tract of ponies fed diets with varying roughage-grain rations. *J. Anim. Sci.* 1971; 32:245–248.
- [8] Gebremariam T, Melaku S, Yami A. Effect of different levels of cactus (*Opuntia ficus-indica*) inclusion on feed intake, digestibility and body weight gain in tef (*Eragrostis tef*) straw-based feeding of sheep. *Anim Feed Sci Technol.* 2006; 131(1), 43-52.
- [9] Batista AMV, Mustafa AF, McAllister T, Wang Y, Soita H, McKinnon J. Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. *J Sci Food Agric* 2003; 83, 440–445.
- [10] Salem AZM, Elghandour MMY, Kholif AE, Barbabosa A, Camacho LM, Odongo NE. The Effect of feeding horses a high fiber diet with or without live yeast cultures supplementation on feed intake, nutrient digestion, blood chemistry, fecal coliform count and *in vitro* fecal fermentation. *J Equine Vet Sci* 2016; 39:12–19.
- [11] Elghandour MMY, Vázquez Chagoyán JC, Salem AZM, Kholif AE, Martínez Castañeda JS, Camacho LM, Buendía G. *In Vitro* Fermentative capacity of equine

fecal Inocula of 9 fibrous forages in the presence of different doses of *Saccharomyces cerevisiae*. J Equine Vet Sci 2014; 34: 619–625

[12] Elghandour MM, Kholif AE, Lopez S, Mendoza GD, Odongo NE, Salem AZM. In vitro gas, methane and carbon dioxide productions of high fibrous diet incubated with fecal inocula from horses fed live yeasts in response to the supplementation with different yeast additives. J Equine Vet Sci 2016; 38: 64–71.

[13] Lattimer JM, Cooper SR, Freeman DW, Lalman DA. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on *in vitro* fermentation of a high concentrate or high fiber diet in horses. Proceedings of the 19th Symposium of the Equine Science Society, Tucson, AZ; 2005. p. 168– 173.

[14] Glade MJ, Biesik LM. Enhanced nitrogen retention in yearling horses supplemented with yeast culture. J Anim Sci 1986;62: 1635.

[15] Goering MK, Van Soest PJ. Forage fibre analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Research Service, USDA, Washington, DC, USA; 1970.

[16] Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Technol 1994;48: 185–97.

[17] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis. 16th ed. Arlington, VA, USA: AOAC; 1997.

[18] NRC. Nutrient requirements of horses. 6th ed. Washington, DC: National Academy Press; 2007.

[19] SAS. User's guide: statistics, version 9.0. Cary, NC: SAS Institute; 2002.

[20] France J, Dijkstra J, Dhanoa MS, López S, Bannink A. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles

observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. Br J Nutr 2000; 83: 143–50.

[21] Kholif AE, Baza-García LA, Elghandour MM, Salem AZM, Barbabosa A, Dominguez-Vara IA, Sanchez-Torres JE. In Vitro Assessment of Fecal Inocula From Horses Fed on High-Fiber Diets With Fibrolytic Enzymes Addition on Gas, Methane and Carbon Dioxide Productions As Indicators of Hindgut Activity. J Equine Vet Sci. 2016; 39: 44–50.

[22] Lowman RS, Theodorou MK, Hyslop JJ, Dhanoa MS, Cuddeford D. Evaluation of an *in vitro* batch culture technique for estimating the *in vivo* digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum. Anim Feed Sci Technol 1999;80: 11–27.

[23] Murray JMD, Longland A, Dunnett C. Effect of yeast supplementation on the *in vitro* fermentation of high-temperature dried lucerne incubated with equine faecal inoculum. Anim Feed Sci Tech 2008;146: 149-159.

[24] Kabe AMG, de Souza AD, de Moro Sousa RL, da Silva Bueno IC, Mota TP, Crandell K, Vervuert I, Correa GF, Brandi RA. Soybean hulls in equine feed concentrates: apparent nutrient digestibility, physicochemical and microbial characteristics of equine feces. J Equine Vet Sci. 2016; 36, 77-82.

[25] Ben Salem H, Nefzaoui A, Abdouli H, Ørskov ER. The effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica var-intermis*) on intake and digestion by sheep given straw based diet. Record 203 of 217-CAB Abstracts 1/96-10/96; 1996.

[26] Tegegne F, Kijora C, Peters KJ. Study on the optimal level of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) supplementation to sheep and its contribution as source of water. Small Ruminant Res. 2007; 72(2): 157-164.

- [27] Patra AK. The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian J Anim Vet Adv* 2012;7: 366–75.
- [28] Medina M, Girard ID, Jacotot E, Julliand V. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *J Anim Sci* 2002;80: 2600–9.
- [29] Newbold CJ, Wallace RJ, McIntosh FM. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Br J Nutr* 1996; 76: 249–61.
- [30] Ahmed GM, Abdel NM. Chemical composition and in vitro gas production characteristics of six fodder trees, leaves and seeds. *Res J Agric Biol Sci* 2007;3: 983–6.
- [31] Cone JW, Jongbloed AW, Van Gelder AH, De Lange L. Estimation of protein fermentation in the large intestine of pigs with a gas production technique. *Anim Feed Sci Technol.* 2005; 123-124: 463–472.
- [32] Kolař L, Maršalek M, Frelich J, Kužel S, Smetana P, Zednikova J, Švecova M. Changes in methane release from organic matter passing through the digestive tract of horses. *Czech J Anim Sci*, 2009; 54:(3): 112–120.

Table 1: Ingredients and chemical composition of incubated substrates^{1,2}

	Ingredients			Trial 1			Trial 2	
	Steam rolled corn	Soybean hulls	Prickly pear cactus	Control	SH75	SH150	PC75	PC150
Ingredients (%)								
Oats				24.9	24.8	24.8	24.8	24.8
Steam rolled corn				25.0	17.5	10.0	17.5	10.0
Steam rolled barley				25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
Wheat bran				12.0	11.0	12.0	11.0	12.0
Corn Gluten Feed				3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Soybean meal				3.0	3.0	2.0	3.0	2.0
Soybean hulls				0.0	7.5	15.0	7.5	15.0
Molasses				7.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Vit/Min				0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
Chemical composition (%)								
Dry matter	86.7	89.4	89.0	86.4	86.4	86.7	86.4	86.4
Crude fiber	2.2	34.2	37.0	7.1	9.6	12.3	9.9	12.8
Crude protein	8.1	12.0	8.0	12.1	12.4	12.4	12.0	11.7
Nitrogen free extract	84.8	46.9	41.3	57	56.7	56.7	53.7	54.3
Digestible energy (Mcal/kg)	3.8	2.2	1.7	3.5	3.4	3.3	3.3	3.2
Digestible crude protein (g/kg DM)	65.0	98.0	63.8	89.0	90.0	90.0	88.0	85.0
Ca	0.4	4.9	2.83	1.4	2.2	2.1	1.8	1.4
P	2.6	1.4	4.06	4.1	3.9	3.82	3.8	3.6
Mg	1.0	2.2	1.02	1.5	1.69	1.7	1.5	1.4
Na	0.1	0.1	0.5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
K	3.2	12.0	7.22	8.2	9.1	9.7	8.2	7.9
Cl	0.5	0.2		0.9	0.9	0.9	0.9	0.8
Zn	19.0	40.0	30.0	20.5	22.3	23.7	19.3	17.7
Cu	2.0	8.0		5.7	6.5	6.9	5.9	5.7
Fe	32.0	580.0	120	93.6	136.6	177.6	93.1	90.6

¹ In trial 1: Steam rolled corn was replaced with soybean hulls as energy source at 0% (control), 7.5% (SH75) and 15% (SH150)

² In trial 2: Steam rolled corn was replaced with prickly pear cactus as an energy source at 0% (control), 7.5% (PC75) and 15% (PC150)

Table 2. In vitro fecal gas kinetics and fermentation profile of replacing steam rolled corn with three levels of soybean hulls¹ (SH) at three levels of *Saccharomyces cerevisiae* in horse

Ration (% SH of the diet)	Yeasts dose (mg/g DM)	Gas parameters ² production			In vitro gas production (mL/g DM) at:														Fermentation kinetics	
		<i>B</i>	<i>c</i>	<i>L</i>	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	pH	DMD	
Control	0	225.6	0.033	1.45	14.4	27.9	40.5	52.2	63.3	73.6	83.3	92.3	123.1	146.7	178.7	193.9	204.1	6.92	253.9	
	2	165.8	0.050	1.19	14.1	27.0	38.6	49.2	58.9	67.7	75.7	83.1	106.6	123.1	143.2	151.6	156.8	6.86	248.4	
	4	191.7	0.030	0.58	11.1	21.5	31.3	40.5	49.3	57.5	65.2	72.5	97.7	117.6	145.6	159.4	169.1	6.76	240.1	
SH75	0	179.5	0.036	1.61	12.7	24.4	35.4	45.5	54.9	63.7	71.8	79.4	104.6	123.4	147.9	158.9	166.0	6.84	307.8	
	2	202.0	0.029	0.77	11.2	21.7	31.6	41.0	49.9	58.3	66.2	73.7	99.7	120.5	150.1	165.0	175.6	6.96	293.9	
	4	192.1	0.035	1.12	12.4	23.9	34.0	44.8	54.2	63.0	71.2	78.9	105.0	125.0	152.1	164.9	173.6	6.93	306.2	
SH150	0	194.7	0.035	0.94	12.9	25.0	36.2	46.6	56.2	65.2	73.6	81.4	107.6	127.4	153.9	166.3	174.8	6.94	296.7	
	2	174.1	0.043	1.04	14.4	27.7	39.8	50.9	61.0	70.4	78.9	86.7	112.1	130.0	151.7	160.6	165.9	6.88	308.4	
	4	206.9	0.037	1.22	13.7	26.4	38.2	49.2	59.4	68.9	77.7	86.0	113.7	134.7	163.0	176.4	185.5	6.62	268.5	
Pooled LSD ³		35.63	0.0051	0.032	2.21	4.24	6.13	7.88	9.51	11.03	12.45	13.78	18.31	21.85	26.88	29.40	31.20	0.062	20.81	
Ration																				
Linear		0.915	0.336	0.731	0.538	0.554	0.570	0.586	0.601	0.616	0.630	0.644	0.693	0.734	0.795	0.827	0.850	0.206	0.005	
Quadratic		0.9728	0.447	0.827	0.505	0.524	0.542	0.560	0.578	0.597	0.615	0.633	0.703	0.766	0.865	0.918	0.957	0.135	0.289	
Yeast																				
Linear		0.917	0.802	0.018	0.597	0.603	0.610	0.617	0.624	0.631	0.639	0.647	0.679	0.710	0.766	0.801	0.830	0.020	0.403	
Quadratic		0.048	0.106	0.503	0.805	0.844	0.041	0.917	0.952	0.985	0.984	0.954	0.850	0.769	0.658	0.606	0.571	0.150	0.443	
Ration × Yeast		0.816	0.119	0.304	0.814	0.833	0.850	0.865	0.878	0.888	0.897	0.905	0.923	0.929	0.952	0.905	0.889	0.055	0.807	

¹ Steam rolled corn was replaced with soybean hulls as an energy source at 0% (control), 7.5% (SH75) and 15% (SH150)

²*b* is the asymptotic gas production (mL/g DM); *c* is the rate of gas production (/h); DMD is the DM degraded substrate (mg/g DM); *L* is the initial delay before gas production begins (h).

³LSD, least significant difference

Table 3. In vitro fecal carbon dioxide production of replacing steam rolled corn with three levels of soybean hulls¹ (SH) at three levels of *Saccharomyces cerevisiae* in horse

Ration (% SH of the diet)	Yeast dose (mg/g DM)	In vitro carbon dioxide production (mL/g DM) at												
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h
Control	0	1.8	13.4	13.4	17.1	21.7	21.7	24.8	37.3	56.3	70.6	70.6	70.6	70.6
	2	3.0	3.9	3.9	3.9	7.8	10.8	10.8	16.2	44.1	69.7	69.7	73.3	73.3
	4	1.6	11.2	11.2	12.8	17.8	17.8	17.8	25.9	54.1	82.5	82.5	90.7	90.7
SH75	0	2.2	7.1	7.1	13.1	19.9	19.9	19.3	24.7	26.7	30.3	43.2	47.0	47.0
	2	1.7	6.1	6.1	13.0	17.4	18.7	18.7	30.4	44.1	56.1	59.1	76.8	76.8
	4	4.1	13.2	13.2	19.9	19.9	21.6	27.5	27.5	56.1	78.7	78.7	78.7	78.7
SH150	0	4.1	10.5	10.5	13.0	13.0	13.9	21.0	27.5	36.2	54.2	54.2	55.6	55.6
	2	9.0	15.5	15.5	15.5	28.0	28.0	42.0	50.3	76.5	115.4	117.1	134.4	134.4
	4	6.2	14.0	14.0	19.8	19.8	27.3	19.9	37.2	59.6	85.1	85.1	86.5	86.5
Pooled LSD ²		1.33	2.92	2.92	3.95	4.14	4.49	5.06	6.81	4.14	5.00	4.97	6.12	6.12
Ration														
Linear		0.639	0.762	0.762	0.228	0.343	0.378	0.319	0.848	0.014	0.002	0.003	0.046	0.046
Quadratic		0.004	0.059	0.059	0.336	0.349	0.161	0.006	0.030	0.002	<0.001	<0.001	0.003	0.001
Yeast														
Linear		0.247	0.306	0.306	0.348	0.771	0.320	0.437	0.950	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Quadratic		0.206	0.157	0.157	0.082	0.754	0.708	0.933	0.633	0.035	0.001	0.002	<0.001	<0.001
Ration × Yeast		0.213	0.158	0.158	0.326	0.040	0.128	0.031	0.068	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

¹ Steam rolled corn was replaced with soybean hulls as an energy source at 0% (control), 7.5% (SH75) and 15% (SH150)

²LSD, least significant difference

Table 4. In vitro fecal gas kinetics and fermentation profile of replacing steam rolled corn with three levels of prickly pear cactus¹ (PC) at three levels of *Saccharomyces cerevisiae* in horse

Ration (% PC of the diet)	Yeast dose (mg/g DM)	Gas production parameters ²			In vitro gas production (mL/g DM) at:														Fermentation kinetics	
		<i>b</i>	<i>c</i>	<i>L</i>	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	pH	DMD	
Control	0	225.6	0.033	1.45	14.4	27.9	40.5	52.2	63.3	73.6	83.3	92.3	123.1	146.7	178.7	193.9	204.1	6.92	253.9	
	2	165.8	0.050	1.19	14.1	27.0	38.6	49.2	58.9	67.7	75.7	83.1	106.6	123.1	143.2	151.6	156.8	6.86	248.4	
	4	191.7	0.030	0.58	11.1	21.5	31.3	40.5	49.3	57.5	65.2	72.5	97.7	117.6	145.6	159.4	169.1	6.76	240.1	
PC75	0	147.2	0.071	1.58	13.8	25.8	36.3	45.6	53.9	61.3	67.9	73.9	92.9	106.3	123.4	131.0	136.1	6.96	239.2	
	2	204.1	0.035	1.24	13.8	26.7	38.7	49.8	60.2	69.9	78.9	87.3	115.5	136.8	165.1	178.1	186.7	6.64	244.4	
	4	86.1	0.094	1.56	14.3	26.2	36.1	44.3	51.2	56.9	61.7	65.6	76.0	81.1	84.8	85.6	85.9	6.71	273.4	
PC150	0	170.2	0.034	1.28	10.5	20.3	29.5	38.1	46.2	53.7	60.8	67.4	90.0	107.4	131.4	143.0	151.0	6.66	233.8	
	2	149.7	0.042	1.14	12.1	23.3	33.5	42.9	51.5	59.4	66.6	73.3	95.0	110.5	129.4	137.3	142.1	6.83	256.0	
	4	185.8	0.028	1.08	10.1	19.7	28.8	37.3	45.4	53.0	60.2	67.1	90.8	109.8	137.0	150.8	160.7	6.77	247.7	
Pooled LSD ³		12.91	0.0113	0.400	1.67	3.25	4.74	6.18	7.55	8.87	10.14	11.35	15.65	19.14	24.18	26.72	28.52	0.093	8.81	
Ration																				
Linear		0.008	0.005	0.253	0.577	0.768	0.952	0.883	0.7438	0.629	0.535	0.459	0.278	0.195	0.129	0.110	0.100	0.317	0.511	
Quadratic		0.949	0.045	0.724	0.038	0.054	0.076	0.102	0.1314	0.164	0.199	0.235	0.376	0.497	0.665	0.745	0.799	0.426	0.518	
Yeast																				
Linear		0.037	0.631	0.280	0.452	0.419	0.394	0.373	0.356	0.341	0.329	0.320	0.294	0.282	0.280	0.286	0.294	0.203	0.012	
Quadratic		0.818	0.044	0.808	0.048	0.036	0.034	0.039	0.331	0.326	0.032	0.037	0.349	0.038	0.048	0.054	0.063	0.764	0.025	
Ration × Yeast		0.015	0.018	0.770	0.034	0.826	0.8779	0.899	0.899	0.884	0.857	0.821	0.645	0.490	0.312	0.248	0.212	0.144	0.046	

¹ Steam rolled corn was replaced with prickly pear cactus as an energy source at 0% (control), 7.5% (PC75) and 15% (PC150)

²*b* is the asymptotic gas production (mL/g DM); *c* is the rate of gas production (/h); DMD is the DM degraded substrate (mg/g DM); *L* is the initial delay before gas production begins (h).³LSD, least significant difference

Table 5. In vitro fecal carbon dioxide production of replacing steam rolled corn with three levels of prickly pear cactus¹ (PC) at three levels of *Saccharomyces cerevisiae* in horse

Ration (% PC of the diet)	Yeast dose (mg/g DM)	In vitro carbon dioxide production (mL/g DM) at													
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	
Control	0	1.8	13.4	13.4	17.1	21.7	21.7	24.8	37.3	56.3	70.6	70.6	70.6	70.6	
	2	3.0	3.9	3.9	3.9	7.8	10.8	10.8	16.2	44.1	69.7	69.7	73.3	73.3	
	4	1.6	11.2	11.2	12.8	17.8	17.8	17.8	25.9	54.1	82.5	82.5	90.7	90.7	
PC75	0	4.5	4.5	4.5	12.4	12.4	12.4	12.4	20.0	32.3	49.2	52.3	52.3	52.3	
	2	1.9	8.3	8.3	15.5	21.4	26.8	39.8	47.6	58.8	68.9	77.1	77.1	77.1	
	4	7.6	15.7	15.7	27.7	27.7	34.5	37.1	37.1	44.1	61.0	81.6	81.6	82.9	
PC150	0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	2.4	8.3	19.3	36.2	67.1	67.1	68.1	68.1	
	2	5.5	8.2	8.2	8.8	8.2	18.0	32.4	39.3	61.7	87.5	87.5	87.5	87.5	
	4	5.4	15.6	15.6	25.1	25.1	30.0	35.	38.8	45.0	56.9	94.8	100.9	100.9	
Pooled LSD ²		1.67	2.72	2.72	2.75	2.90	4.34	4.12	4.98	4.17	5.22	8.99	8.27	8.43	
Ration															
Linear		0.082	0.999	0.999	0.005	0.061	0.040	0.002	0.053	0.075	0.003	0.596	0.257	0.293	
Quadratic		0.831	0.418	0.418	0.064	0.006	0.224	0.569	0.615	0.837	0.358	0.106	0.071	0.081	
Yeast															
Linear		0.058	0.002	0.002	<0.001	0.001	0.004	0.003	0.053	0.090	0.309	0.006	0.007	0.001	
Quadratic		0.989	0.109	0.109	0.003	0.019	0.679	0.108	0.203	0.003	0.009	0.613	0.751	0.783	
Ration × Yeast		0.095	0.020	0.020	0.007	0.001	0.010	0.004	0.001	0.001	0.009	0.656	0.711	0.734	

¹ Steam rolled corn was replaced with prickly pear cactus as an energy source at 0% (control), 7.5% (PC75) and 15% (PC150)

²LSD, least significant difference

7.2. Evaluación *in vivo* de las dietas (concentración de glucosa sanguínea).

Una vez concluido el experimento *in vitro* y habiendo definido los mejores niveles de inclusión tanto de cáscara de soya como de levadura para poder utilizarlos en un experimento *in vivo*, éste se llevó a cabo con la certeza de no generar ningún problema digestivo en los caballos. En los gráficos 7 y 8 se observa el comportamiento de la glucosa en el periodo 2 (una vez adaptados los caballos), en una dieta convencional que para el presente estudio se utilizó como dieta control, sin o con la adición de *Saccharomyces cerevisiae* respectivamente y se observa una variación en los picos de glucosa a diferencia de las dietas con 7.5% de inclusión de cáscara de soya (Gráficos 9 y 10) que muestran una forma en la curva de glucosa más uniforme. Por otro lado las curvas que arrojaron los tratamientos con 15% de inclusión de cáscara de soya (Gráficos 11 y 12) muestran un alza en los niveles de glucosa aunque con menor variación en comparación a las dietas control.

GRAFICO 1. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta Control sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

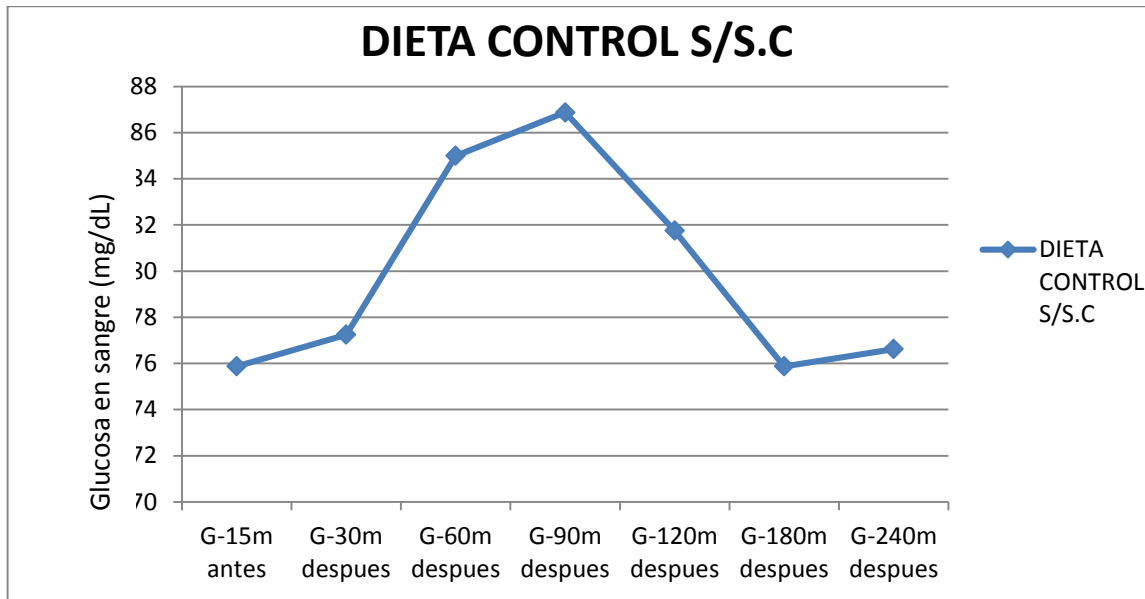


GRAFICO 2. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta Control con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

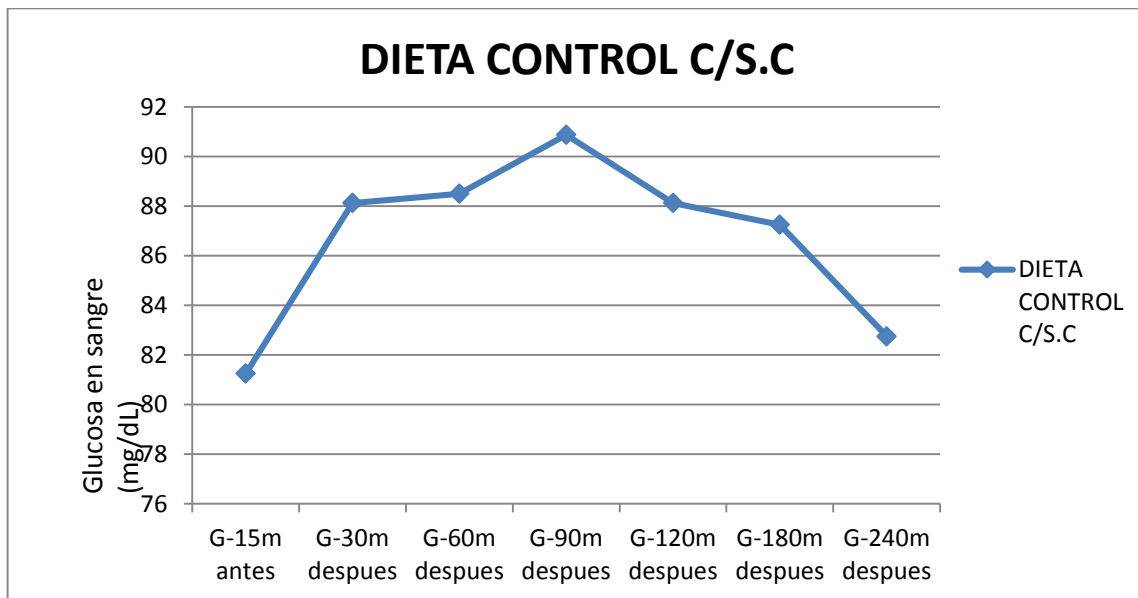


GRAFICO 3. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

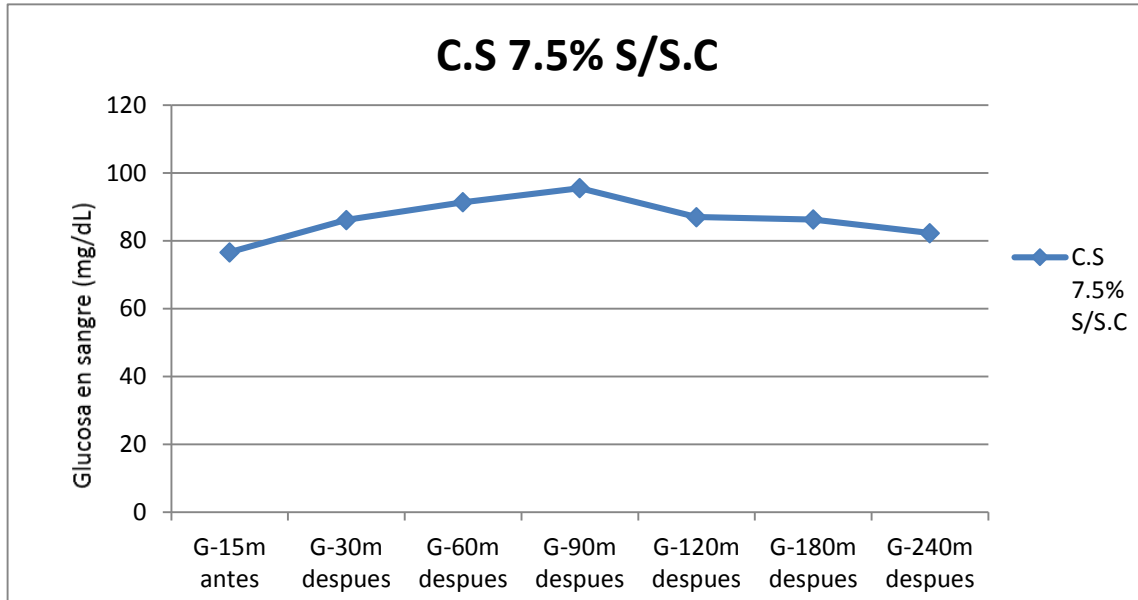


GRAFICO 4. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

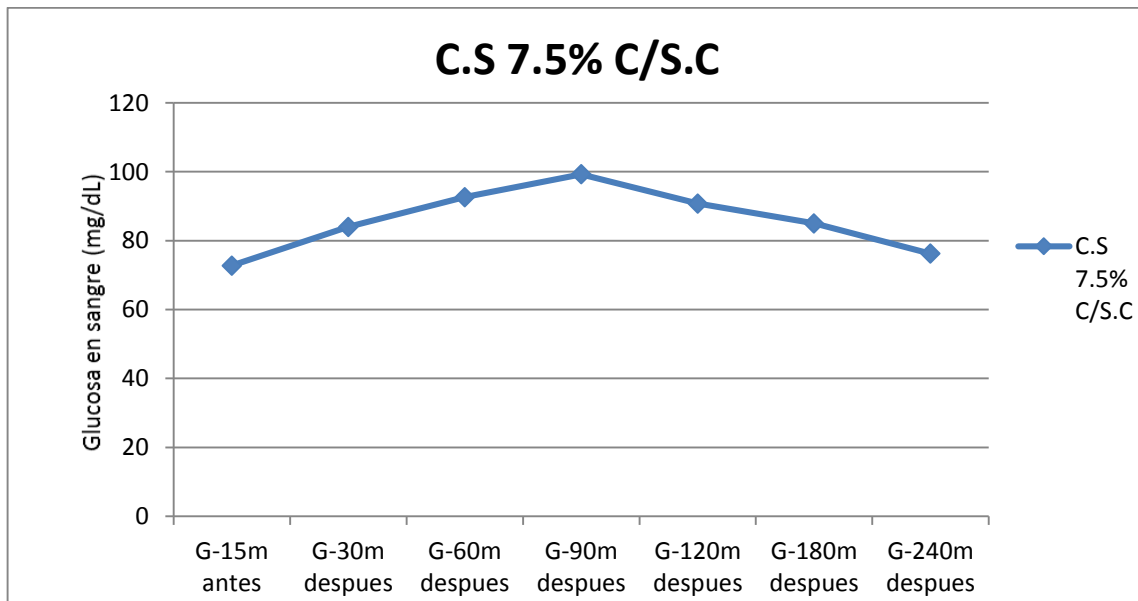


GRAFICO 5. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

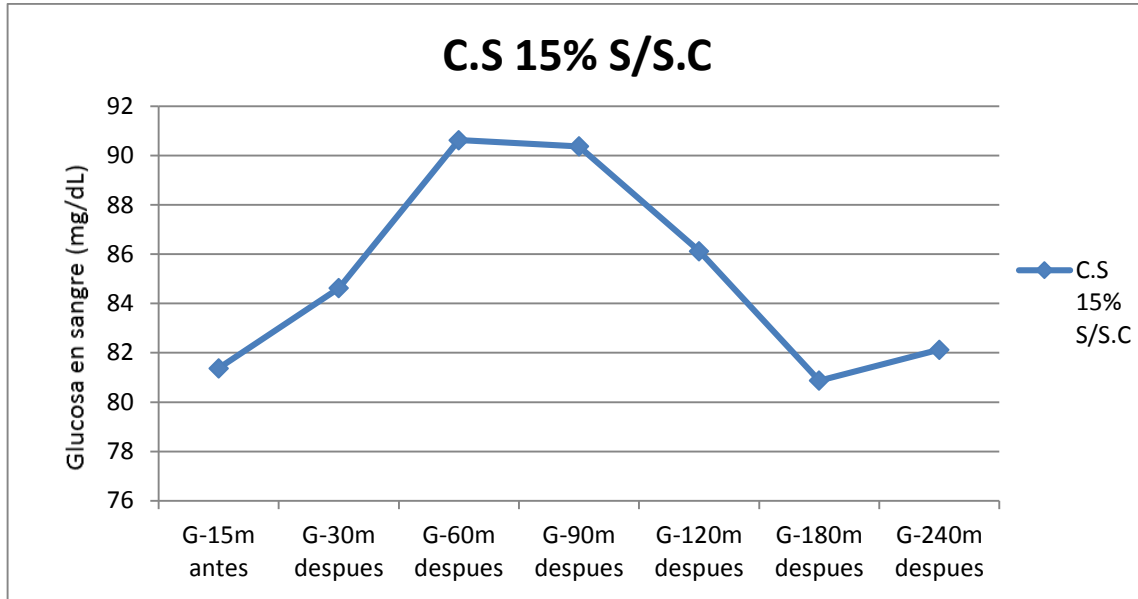


GRAFICO 6. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 1).

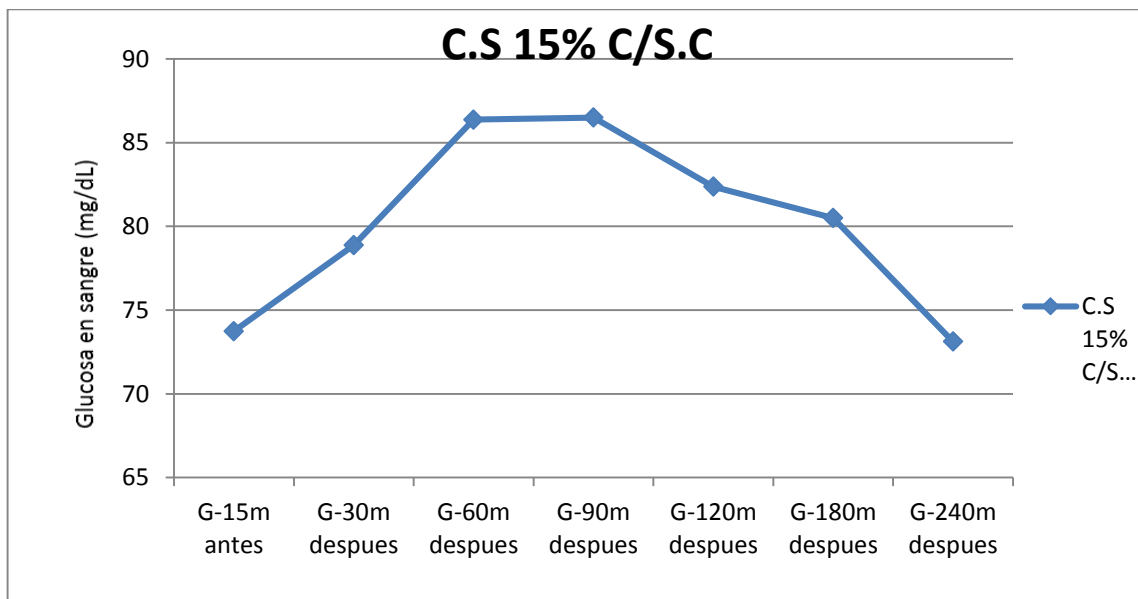


GRAFICO 7. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta control sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2).

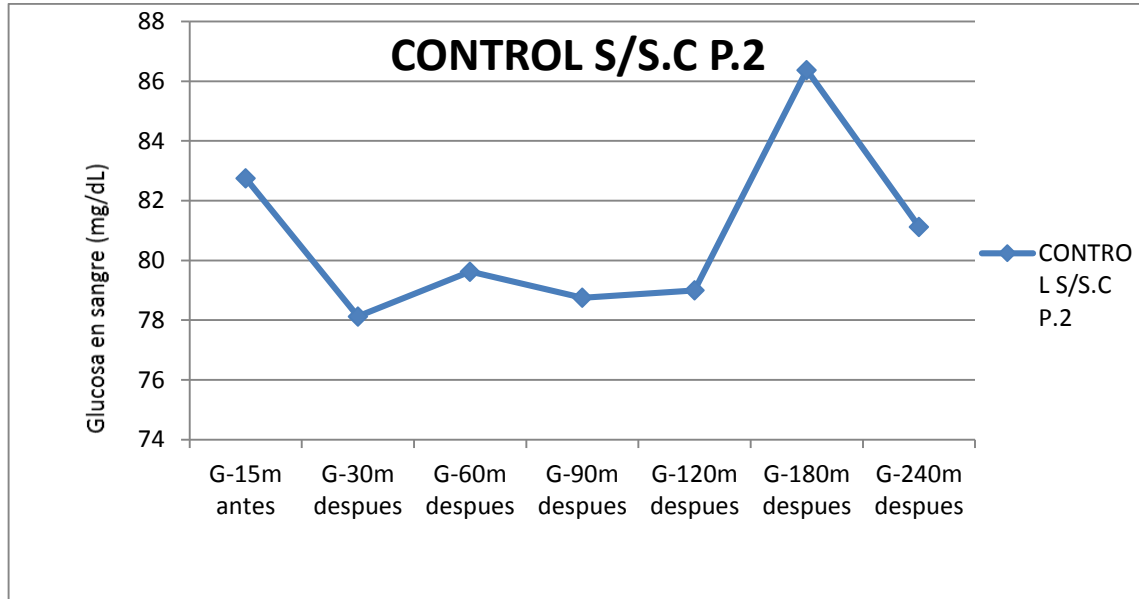


GRAFICO 8. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta control con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2).

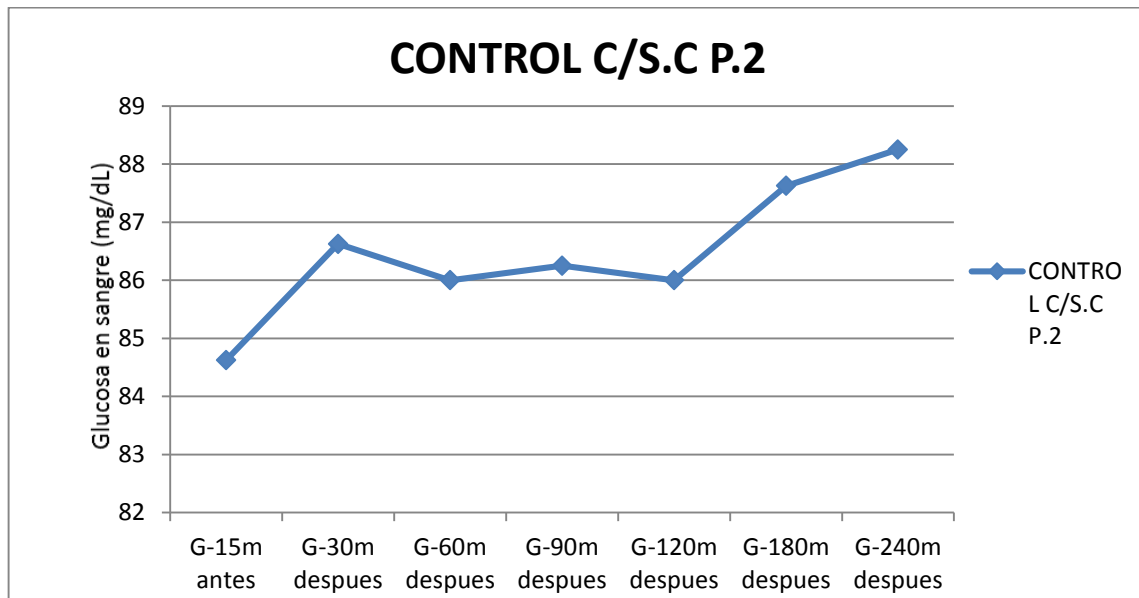


GRAFICO 9. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (P.2).

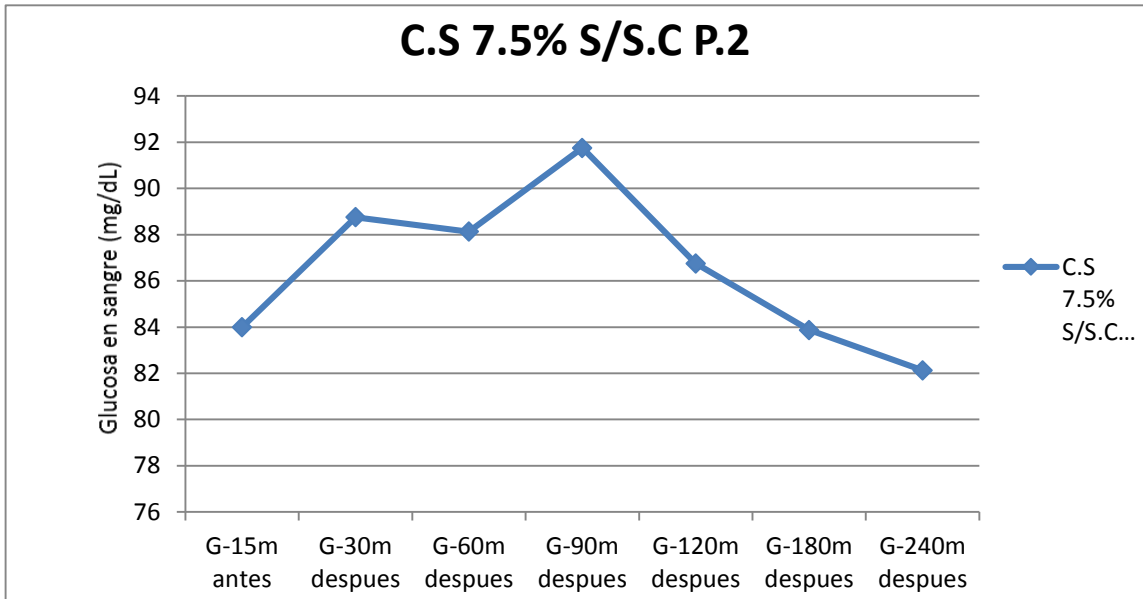


GRAFICO 10. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 7.5% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (P.2).

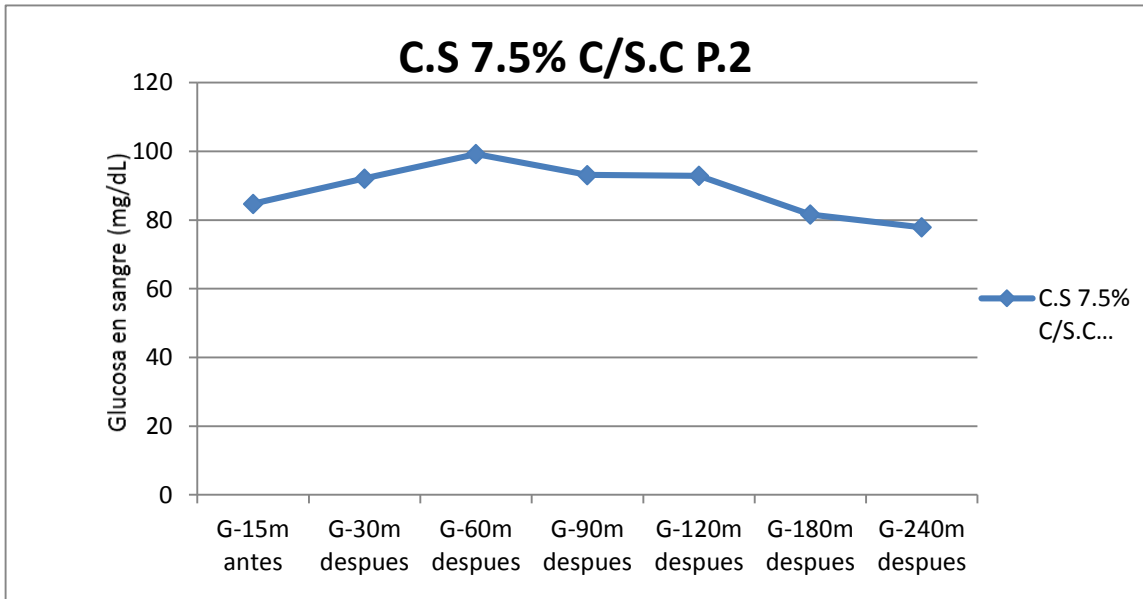


GRAFICO 11. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% sin *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (Periodo 2).

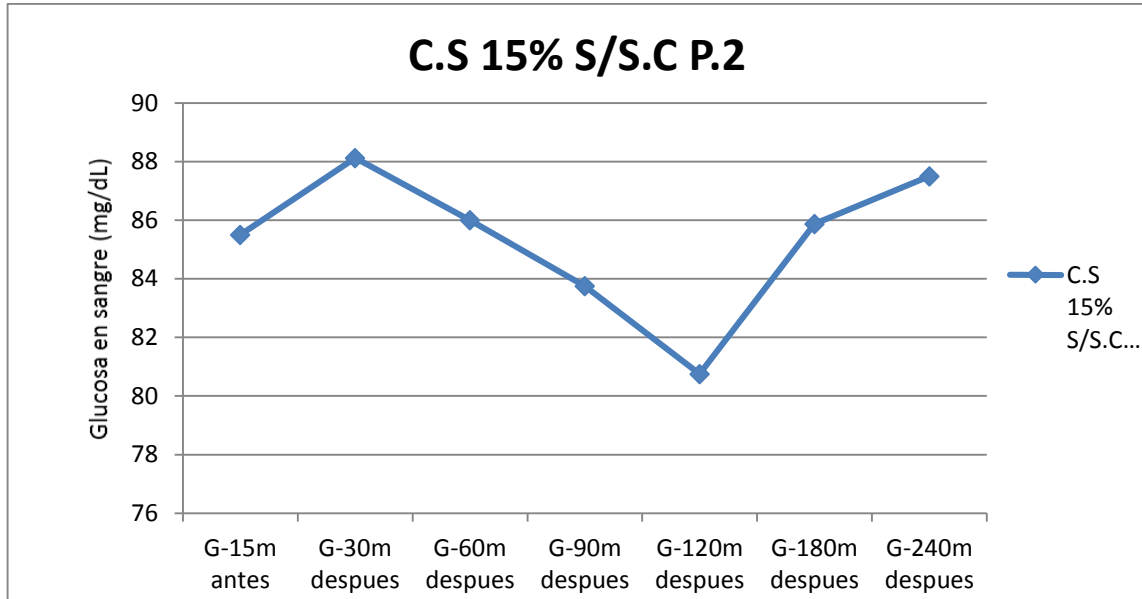
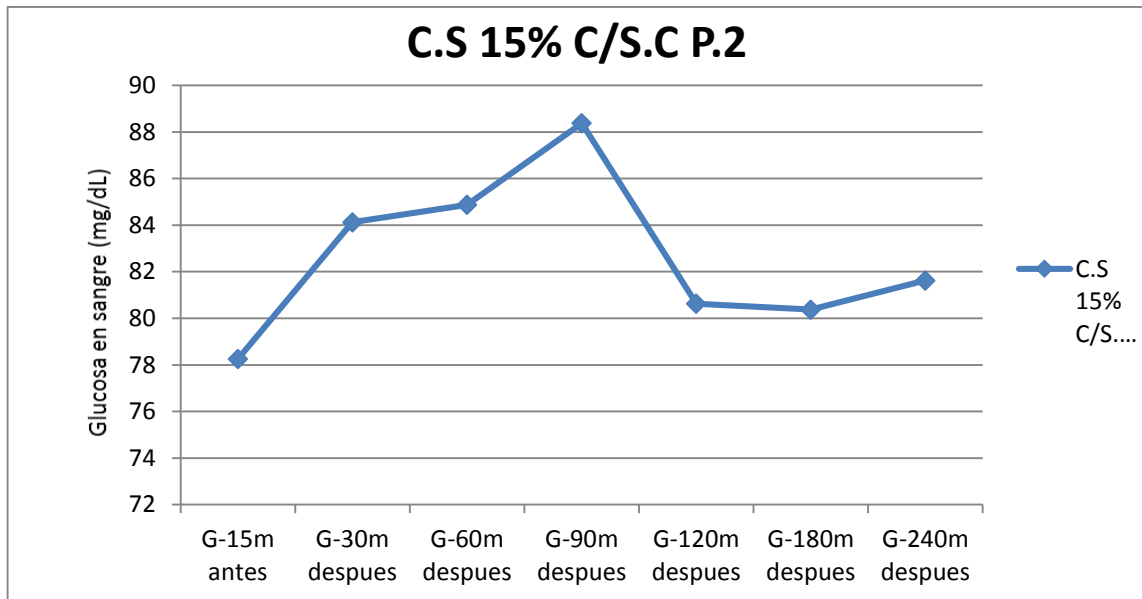


GRAFICO 12. Nivel de Glucosa en sangre mg/dL para la dieta cáscara de soya 15% con *Saccharomyces cerevisiae* en las distintas horas de medición (P.2).



8. DISCUSIÓN.

Utilizar la técnica de fermentación *in vitro* para evaluar el valor nutritivo de los alimentos y su utilización es un método común en la nutrición de rumiantes y equinos. Utilizar heces como fuente de inóculo también es un método popular para las evaluaciones *in vitro* en alimentos de caballos. (Lattimer *et al.*, 2005; Ben Salem *et al.*, 1996). Sin embargo se han encontrado las mismas cantidades de producción de gas en alimentos, utilizando contenido ruminal o heces como fuentes de inóculo (Tegegne *et al.*, 2007). Además la técnica de Theodorou *et al.* (1994) ha sido utilizada satisfactoriamente para estudiar la fermentación fecal *in vitro* con algunas modificaciones, tal como el uso de heces como fuente de inóculo (Lattimer *et al.*, 2005; Ben Salem *et al.*, 1996; Patra, 2012), con mayores fases lag en heces en comparación del contenido ruminal, lo cual, puede ser atribuido a la diferencia en el número de microorganismos por gramo de contenido ruminal o heces.

Debido a que no se observaron interacciones entre las dietas con CS y la dosis de levadura en cuanto a los parámetros de producción de gas, el principal efecto para las dietas con CS y las dosis de levadura será discutido. Por lo contrario ocurrieron interacciones entre las dietas con HN y la dosis de levadura para la PG asintótica, el rango de la PG y la producción de CO₂ revelando que la dosis efectiva dependerá de la dieta. Las dietas que contenían maíz rolado al vapor o CS produjeron diferentes cantidades de gas insignificantes, revelando que la CS tiene casi el mismo valor nutritivo que el maíz rolado al vapor. La cáscara de soya contiene una alta concentración de polisacáridos no amiláceos, los cuales son considerados como una fuente rica en energía en dietas para caballos (Medina *et al.*, 2002). Un rico contenido de polisacáridos no amiláceos con un bajo contenido de almidón, hacen que la cáscara de soya sea un insumo ideal en las dietas de caballos con un menor potencial para generar problemas digestivos, al igual que

una disminución en el sobre-paso de almidón a las cámaras de fermentación. Casi ningún estudio sustituye la principal fuente de energía en las dietas de caballos por CS o HN; sin embargo, tampoco hay estudios que utilicen HN en caballos. Por otro lado, varios estudios han utilizado la CS como sustituto de la porción de forraje en la dieta (Coverdale *et al.*, 2004) encontrando resultados prometedores.

Existe muy poca información tanto para estudios *in vitro* como para estudios *in vivo* en relación al uso de HN en dietas para caballos. La dieta HN75 incrementó el rango de PG sin afectar la asintótica de PG o el tiempo de retardo. Esto pudo ser por el alto contenido de carbohidratos disponibles y carbohidratos no fibrosos que contienen la HN, los cuales son rápidamente degradados en el rumen (Salem *et al.*, 2016) resultando en la estimulación del crecimiento microbiano, así como una correcta fuente de energía para la microflora ruminal. Sin embargo, el aumento del nivel de HN (es decir, en HN150) puede dar lugar a un aumento del contenido de carbohidratos solubles en el rumen, de este modo, deprimiendo la actividad celulolítica ruminal y disminuyendo la tasa de PG (Ben Salem *et al.*, 1996) Además, en su revisión, Ben Salem *et al.*, (1996) reportó que el aumento del nivel de HN en las dietas podría perjudicar el crecimiento microbiano en el rumen debido a los altos niveles de minerales. De acuerdo con los resultados actuales, Tegegne *et al* (2007) observaron que la tasa de degradación de la dieta aumentó al incrementar el nivel de HN.

El efecto de la levadura difería entre las dietas de CS y fue dependiente de la dosis. La PG asintótica se incrementó con la adición de levadura en las dietas que contenían CS (es decir, CS75 y CS150). Además, la adición de levadura a las dietas que contenían HN, incrementó la PG asintótica y la tasa de PG. Varios estudios han demostrado que las respuestas a la adición de *S. cerevisiae* fueron dependientes del tipo de sustrato y de la dosis. En muchos reportes, la levadura demostró mejorar el perfil microbiano y equilibrar el tracto digestivo posterior de los caballos, además de estimular el número de bacterias celulolíticas y su

actividad (Medina *et al.*, 2002), resultando en un aumento de la digestibilidad y PG (Elghandour *et al.*, 2014) ; Sin embargo, la DMS de las dietas que contenían CS no se vio afectada en el estudio actual con adición de levadura, pero el efecto positivo fue más claro con las dietas que contenían HN (es decir, HN75 y HN150). Además, la adición de levadura disminuyó el tiempo de retardo con las dietas que contenían CS. Además, Newbold *et al* (1996) declararon que *S. cerevisiae* podría eliminar el O₂, que es tóxico para las bacterias anaerobias en el ciego, y activar la adhesión de las células celulolíticas a los componentes de la pared celular de la planta. Además, los péptidos pequeños y otros nutrientes activos requeridos por las bacterias celulolíticas para inducir el crecimiento están presentes en *S. cerevisiae* (Newbold *et al.*, 1996), lo que resulta en una mejor actividad en el proceso de fermentación dentro del ciego.

La dosis de 2 mg de levadura / g de MS con HN150 aumentó la PG asintótica y la tasa de PG en comparación con la dosis de 4 mg de levadura / g de MS en la dieta de HN75. Por el contrario, las dosis de 2 mg y 4 mg / g de MS fueron las dosis efectivas en las dietas CS75 y CS150, respectivamente. Las diferentes respuestas a la dosis de levadura con los sustratos incubados coinciden con la suposición de Elghandour *et al* (2014) de que las respuestas a la levadura son altamente variables y dependen de la composición de los sustratos. La adición de *S. cerevisiae* no afectó la DMS en las dietas con CS, lo que está de acuerdo con los resultados de Elghandour *et al* (2016) que no obtuvieron ningún cambio en la DMS *in vitro* utilizando *S. cerevisiae* en una dieta para equinos basada en fibra. Sin embargo, *S. cerevisiae* incrementó la DMS de las dietas de HN con diferentes dosis efectivas; Ya que las interacciones entre la dieta con HN y las dosis de levadura fueron significativas para DMS.

Se observaron interacciones entre el tipo de dieta y la dosis de levadura para la producción de CO₂. Esto indica que la dosis efectiva variará entre las dietas. Esto estaba claro ya que ambas dosis de levadura tenían casi el mismo efecto con la

dieta CS75, mientras que la dosis de 2 mg de levadura era más eficaz que la dosis de 4 mg de levadura cuando se incubaba con la dieta CS150. Las dietas con CS y las dietas con HN redujeron la producción de CO₂ en comparación con la dieta control. El volumen de gas y los tipos de gas (es decir, hidrógeno, CO₂ y CH₄) refleja el potencial de fermentación de la dieta (Elghandour *et al.*, 2014; Elghandour *et al.*, 2016), ya que depende de la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos del inóculo durante la fermentación. La cáscara de soya tiene mayor contenido de fibra que el maíz rolado al vapor, con un mayor contenido de proteína. Por el contrario, la HN contiene una alta concentración de carbohidratos fácilmente disponibles y carbohidratos no-fibrosos (Tegegne *et al.*, 2007). La fermentación de los carbohidratos de la dieta produce principalmente acetato, propionato y butirato, además de los gases. Aumentar las porciones de fibra puede dirigir la fermentación hacia la producción de acetato en lugar de gases, lo que resulta en que la PG no se vea afectada entre diferentes resultados. Al no verse afectada la PG, con el aumento de la producción de CO₂ con CS y HN indica un aumento en la producción de acetato; sin embargo, no se determinó en el estudio actual. Además, la disminución de la producción de CO₂ de las dietas con CS puede estar relacionada con los mayores contenidos de PC en la CS que con el maíz rolado al vapor (12.0 frente a 8.1%, respectivamente). La degradación de proteínas en el rumen conduce a la acumulación de NH₃-N en el medio de incubación y la prevención de la liberación de CO₂, en las botellas de incubación (Cone *et al.*, 2005).

La adición de levadura incrementó la producción de CO₂ encontrando una mayor producción con adición de levadura a 2 mg / g de MS de CS y HN. Además, la levadura incrementó la producción de CO₂ en las dietas HN75 y HN150 en ambos niveles de levadura. Existe poca información sobre el efecto de la levadura en la producción de CO₂ en rumiantes y equinos. Sin embargo, el aumento de la producción de CO₂ puede considerarse como un indicador de mejora de la digestión de las fibras por la adición de levadura (Salem *et al.*, 2016). La hidrólisis

de alimentos fibrosos (es decir, celulosa y hemicelulosas) en el tracto digestivo del caballo produce grandes cantidades de H₂ y CO₂ (Kolař *et al.*, 2009). En un experimento *in vitro* (Elghandour *et al.*, 2016) y en un experimento *in vivo* (Salem *et al.*, 2016) se observó que la producción de CO₂ no se vio afectada con la adición de levadura en dietas para equinos a base de fibra.

Sin embargo se puede notar una menor variación en la curvas de las dietas que contenían *Saccharomyces cerevisiae* (Gráficos 8,10 y 12) lo cual puede ser efecto de una mejor digestión de las fibras por la adición de levaduras (Salem *et al* 2016). Por otro lado la respuesta a la glucosa puede estar determinada según el tipo de insumo utilizado y el procesamiento que haya tenido. Harbour *et al* (2003) reportaron que los alimentos peletizados producen una mayor respuesta en la glucosa a diferencia de los alimentos no peletizados con los mismos contenidos de almidón. Hoekstra *et al* (1999) reportaron que el grano de maíz rolado al vapor produce mayores respuestas glicémicas y mayores concentraciones de glucosa en comparación al grano de maíz quebrado o entero. Los autores mencionan que el grano de maíz rolado al vapor altera la digestibilidad del almidón del grano de maíz incrementando la respuesta en los niveles de glucosa. Esta puede ser una razón por la cual al sustituir grano de maíz rolado al vapor por cascara de soya genere que los picos en glucosa sean menos marcados para las dietas que contenían cáscara de soya y que a la vez se vean beneficiadas dichas dietas a la adición de levadura por el alto contenido de fibra altamente digestible, generando un mejor medio para que las bacterias funcionen correctamente.

9. CONCLUSIÓN.

La cáscara de soya y la harina de nopal pueden reemplazar al grano de maíz rolado al vapor en dietas de caballos a niveles de 7.5 a 15% sin efecto negativo en la fermentación *in vitro*. Además la adición de levadura tuvo un impacto positivo en la fermentación de las dietas que contenían CS y HN a diferencia de la que contenía grano de maíz rolado al vapor. La dosis de levadura de 2 mg / g de MS en la dieta fue más eficaz que la dosis de 4 mg / g de MS. Más estudios, incluyendo experimentos *in vivo*, se recomiendan para investigar la sustitución de maíz y otros granos con CS y HN en diferentes niveles. En cuanto al experimento *in vivo* realizado únicamente para determinar el comportamiento de la respuesta en las curvas de glucosa a los tratamientos antes mencionados y sin haber analizado los resultados estadísticamente, mismos que serán analizados y estudiados en un proyecto doctoral, se puede asumir que los niveles de glucosa se comportan de manera más uniforme con 7.5% de inclusión de cáscara de soya. Formular dietas que produzcan respuestas glicémicas atenuadas puede tener beneficios en la salud de los caballos.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Aman P., Hesselman K., Tilly A.C., 1985. The variation in chemical composition of Swedish barleys. *Journal of cereal science* 3, 73-77.
- AOAC. Official methods of analysis. 17th ed. Arlington, VA:Association of Official Analytical Chemists; 2000.
- Axelsson J., 1943. Hastanas utfodring ococh/skotsel. Nordisk Rotogravyr, Stockholm.
- Bailey SR., Marr CM., Elliot J., 2004. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. *Veterinary Journal* 167, 129-142.
- Ben Salem H, Nefzaoui A, Abdouli H, Ørskov ER. The effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica var-intermis*) on intake and digestion by sheep given straw based diet. Record 203 of 217-CAB Abstracts 1/96-10/96; 1996.
- Beyer M., 1998. Colic. In Pagan JD (Ed), *Advances in Equine Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham UK, Pp. 483-488.
- Biddle, A.S., Black, S.J., Blanchard, J.L., 2013 An in vitro model of the horse gut microbiome enables identification of lactate-utilizing bacteria that differentially respond to starch induction. *PLoS ONE* 8 (10), e77599, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.phone.0077599>.
- Bullimore SR., Pagan JD., Harris PA., et al, 2000. Carbohydrate supplementantation of horses during endurance exercise: comparison of fructose and glucose. *Journal of Nutrition*. 130, 1760-1765.
- Colville, T., Bassert, J.M., 2008. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*, 2nd ed., Mosby Elsevier, St. Luois, Missoui.
- Cone JW, Jongbloed AW, Van Gelder AH, De Lange L. Estimation of protein fermentation in the large intestine of pigs with a gas production technique. *Anim Feed Sci Technol*. 2005; 123-124: 463–472.

- Coverdale JA, Moore JA, Tyler HD, Miller-Auwerda PA. Soybean hulls as an alternative feed for horses. *J. Anim. Sci.* 2004; 82:1663–1668.
- Cunha, T.J., 1991. *Horse feeding and nutrition*, 2nd ed., Academic Press, Inc., San diego, California.
- Degussa, 1996. *The aminoacid composition of feedstuffs*. Degussa AG., Frank-furt am Main, Germany.
- Duren, S. Feeding the endurance horse. *Kentucky Equine Research*. 2:351-363, 2000.
- Duren, SE., 1990. *Blood Fow distribution in Fasted and fed ponies at rest and durin endurance exercise*. Ph. D. dissertation, University of Kentucky.
- Elghandour MM, Kholif AE, Lopez S, Mendoza GD, Odongo NE, Salem AZM. In vitro gas, methane and carbon dioxide productions of high fibrous diet incubated with fecal inocula from horses fed live yeasts in response to the supplementation with different yeast additives. *J Equine Vet Sci* 2016; 38: 64–71.
- Elghandour MMY, Vázquez Chagoyán JC, Salem AZM, Kholif AE, Martínez Castañeda JS, Camacho LM, Buendía G. *In Vitro* Fermentative capacity of equine fecal Inocula of 9 fibrous forages in the presence of different doses of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Equine Vet Sci* 2014; 34: 619–625
- Foncesback, P.V., 1968. Digestion of soluble and Fibrous carbohydrates of forages by Horses. *Journal of Nimal Science* 27, 1336-1344.
- Foncesback, P.V., 1969. Partitionig the nutrients of forage for horses. *Journal of Animal Science* 28, 624-638.
- Frape, D., 2010. *Equine Nutrition and Feedin*, 4th ed., Willey Blackwell, Cichester, West Sussex, UK.
- Gallagher, K., Leech, J., Stowe H., 1992. Protein, energy and dry matter consumption by racing Standarbred-a field survey. *Journal of Equine Veterinary Science* 12, 382-388.

- Garcia A.E., 2007. Importancia de los concentrados de levadura viva (*Sacharomyces cerevisiae*) en el desempeño productivo y la calidad de la canal de bovinos de engorda.
- Garcia R.S., 2001. Las levaduras para la alimentación de los cerdos (*Sacharomyces cerevisiae*). Publicado en www.engormix.com
- Geor, R., J., 2010. Digestive strategy and flexibility in horses with reference to dietary carbohydrates. In: Ellis, A.D., Longland, A.C., Coenen, M., Miraglia, N. (Eds.), The impact of nutrition on the health and welfare of horses, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Harbour LE, Lawrence LM, Hayes SH, Stine CJ, Powell DM. Concentrate composition, form and glycemic response in horses. In: Proceedings 18th Equine Nutrition Physiology Society Symposium; 2003:329-330.
- Hoekstra KE, Newman K, Kennedy MAP, Pagan JD. Effect of corn processing on glycemic response in horses. In: Proceedings 16th Equine Nutrition Physiology Society Symposium; 1999:206-213.
- Jouany J.P., Gober J., Medina B., Bertin G., Julliand V., Effect of live yeast culture supplementation on apparent digestibility and rate of passage in horses fed a high fiber or high starch diet. J Anim Sci 2008; 86: 339-47.
- Julliand V., De Fombelle A., Varloud M., 2006. Starch digestion in horses: The impact of feed processing. Livestock Science 100, 44-52.
- Karr-Lilienthal LK., Kadzere CT., Grieshop CM., et al., 2005. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: a review. Livestock Production Science 97, 1-12.
- Kellems, R.O., Church, D.C., 2010. Livestock feeds and feeding sixth ed. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Kolař L, Maršálek M, Frelich J, Kužel S, Smetana P, Zedníková J, Švecová M. Changes in methane release from organic matter passing through the digestive tract of horses. Czech J Anim Sci, 2009; 54:(3): 112–120.

- Kronfeld, D.S., and Harris P., 1997. Feeding yhe Athletic Horse. Pages 61-77 in the Veterinarians Practical Reference to Equine Nutrition. K.N. Thompon, ed. Purina Mills Inc. AAEO, St. Louis MO.
- Lattimer J.M., Cooper S.R., Freeman D.W., Lalhman D.A., Effect of *Sacharomyces cerevisiae* on in vitro fermentation of a high concentrate or high fiber diet in horses using equine fecal inoculums in a Daisy II incubator. J Anim Sci 2007; 85: 2484- 91.
- Lindberg JE., Essén-Gustavsson B., Dahlbornk., et al. 2006. Exercise response metabolisim at rest and digestibility in athletic horses fed high fat oats. Equine Veterinary Journal, Supplement 36, 626-630.
- Linder A., Gansen S., 1995. Feeding of trotting racehorses in Germany: a survey among applicants for a trainer´s license. Veterinary Clinical Nutrition 2, 29-35.
- Medina M., Girald D.I., Jacotot E. and Julliand V. 2002. Effect of a preparation of *Sacharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. J Anim Sci 80:2600-2609.
- Morgan LM, Covardale JA, Froetschel MA, Yoon I., Effect of yeast culture supplementation on digestibility of varing forage quality in mature horses. J. Equine Vet. Sci. 2007; 27:260-5
- Nehra R., Purohit G.R., Sharma T., et al., 2005. Common Feeding stuffs of hoses in arid zone – a survey. Veterinary Practitioner 6, 157-158.
- Newbold CJ, Wallace RJ, McIntosh FM. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. Br J Nutr 1996; 76: 249–61.
- NRC, 2007. In: The nutriment requirements of horses, 6th revised edition National Academy press, Washington DC.
- Pagan, J.D., 1998. Advances in Equine Nutrition, 1est ed., Notthingham University Press, Thrumpton, Notthingham, UK.

- Patra AK. The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian J Anim Vet Adv* 2012;7: 366–75.
- Petterson D., Aman P., 1987. The variation in chemical composition of triticales grown in Sweden. *Acta Agriculturae Scandinavica* 37: 20-26.
- Pilliner, S., 1993. *Horse Nutrition and feeding*, 1st ed., Blackwell Scientific publications, Osney Mead, Oxford.
- Potter G.D., Arnold F.F., Householder D.D., Hansen D.H. and Brown K.M. 1992. Digestion of starch in the small and large intestine of the equine. Pp 107-111. Hanover-Germany.
- Ragnnarsson, S., Lindberg, J.E., 2008. Nutritional value of Timothy grass haylage in Icelandic horses. *Livestock Science* 113, 202-208.
- Ramírez D.M., 2008. Comunicación personal. Gerente de producción. Biotecap SA de CV.
- Richards, N., Hinch, G.N., Rowe, J.B., 2006. The effect of current grain feeding practices on hindgut starch fermentation and acidosis in Australian racing Thoroughbred. *Australian Veterinary Journal* 84, 402-407.
- Rossister, M., 2008. The effect of fat supplementation on digestion parameters in the horse (M. Sc. Thesis). Oklahoma State University, Oklahoma, USA.
- Salem AZM, Elghandour MMY, Kholif AE, Barbabosa A, Camacho LM, Odongo NE. The Effect of feeding horses a high fiber diet with or without live yeast cultures supplementation on feed intake, nutrient digestion, blood chemistry, fecal coliform count and in vitro fecal fermentation. *J Equine Vet Sci* 2016; 39:12–19.
- Suavant D., Perez J.M., Tran G., 2004. Tables of composition and nutritional value of feed materials. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

- Tegegne F, Kijora C, Peters KJ. Study on the optimal level of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) supplementation to sheep and its contribution as source of water. *Small Ruminant Res.* 2007; 72(2): 157-164.
- Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol* 1994;48: 185–97.
- Van Keulen J., Young BA. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J Anim Sci* 1977;44:282-7.
- Van Soest PJ, Roberson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991; 74:3583-97.
- Varloud, M. Fonty, G., Roussel, A., Guyonarch, A., Julliand, V., 2007. Postprandial Kinetics of some biotic and abiotic characteristics of the gastric ecosystem of horses fed a pelleted concentrate meal. *J. Anim. Sci.* 85, 2508-2516.
- Wolever TMS, Jenkins DJA, Jenkins AL, Josse RG. The Glycemic index: methodology and clinical implications. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 846-854.