



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA,  
INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

ENZIMAS FIBROLÍTICAS EN DIETAS PARA VACAS EN PERIODO SECO  
PREPARTO E INICIO DE LA LACTANCIA

TESIS

Que como requisito parcial  
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA



Presenta:

HERNÁNDEZ MARTÍNEZ PEDRO JOSEPH

DIRECCION GENERAL ACADÉMICA  
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES  
GRUPO DE TRABAJADORES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de: CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL, MC.



JUNIO 2018  
Chapingo, Estado de México

**ENZIMAS FIBROLÍTICAS EN DIETAS PARA VACAS EN PERIODO SECO  
PREPARTO E INICIO DE LA LACTANCIA**

Tesis realizada por HERNÁNDEZ MARTÍNEZ PEDRO JOSEPH bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA**

DIRECTOR: \_\_\_\_\_

  
M.C. Carlos Sánchez del Real

ASESOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Luis Alberto Miranda Romero

ASESOR: \_\_\_\_\_

  
M.C. Constantino Romero Márquez

## CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
DEDICATORIAS .....	viii
AGRADECIMIENTOS .....	ix
DATOS BIOGRÁFICOS .....	x
1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....	11
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	12
2.1 Producción de leche en México .....	12
2.2 Características del periodo de transición .....	12
2.2.1 Periodo seco fresco.....	14
2.2.2 Periodo seco preparto .....	14
2.2.3 Posparto temprano.....	14
2.3 El consumo de materia seca durante el periodo de transición.....	15
2.4 Fibra en nutrición de rumiantes .....	18
2.5 Carbohidratos del forraje .....	19
2.5.1 Carbohidratos no fibrosos .....	19
2.5.2 Carbohidratos fibrosos .....	20
2.6 Enzimas .....	22
2.6.1 Propiedades físicas y químicas de las enzimas .....	23
2.6.2 Sitio activo de la enzima.....	25
2.6.3 La naturaleza de las reacciones enzimáticas.....	25
2.6.4 Condiciones que afectan la actividad enzimática .....	26
2.6.5 Condiciones que afectan la formación de enzimas .....	27
2.6.6 Regulación de la actividad enzimática .....	28
2.6.7 Nomenclatura y clasificación de las enzimas .....	29

2.7	Microbiología ruminal.....	30
2.7.1	Bacterias .....	31
2.7.2	Protozoarios .....	33
2.7.3	Hongos.....	35
2.7.4	Virus .....	36
2.8	Factores que afectan la población de microorganismos del rumen .....	36
2.9	Enzimas exógenas fibrolíticas .....	37
2.9.1	Modo de acción .....	37
2.9.2	Efectos sobre consumo de alimento .....	38
2.9.3	Efectos sobre producción y calidad de la leche .....	39
2.10	Literatura citada .....	41
<p>CONSUMO, PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACAS EN PERIODO SECO PREPARTO E INICIO DE LA LACTANCIA AL AGREGAR ENZIMAS FIBROLÍTICAS A LA DIETA .....</p>		
		47
3.1	Resumen .....	47
3.2	Abstract.....	48
3.3	Introducción .....	49
3.4	Materiales y métodos.....	50
3.4.1	Localización y duración del experimento.....	50
3.4.2	Tratamientos y diseño experimental.....	50
3.4.3	Animales y su manejo .....	50
3.4.4	Rutina de alimentación.....	51
3.4.5	Variables de respuesta.....	54
3.4.6	Análisis estadístico.....	56
3.5	Resultados.....	58
3.6	Discusión .....	66
3.7	Conclusión .....	68
3.8	Literatura Citada .....	69

## LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Dieta experimental de vacas en periodo seco preparto .....	51
Cuadro 2. Composición nutritiva estimada de la dieta experimental de vacas en periodo seco preparto (NRC, 2001). .....	52
Cuadro 3. Dieta experimental de vacas en inicio de la lactancia. ....	53
Cuadro 4. Composición nutritiva estimada de la dieta experimental de vacas en inicio de la lactancia. ....	53
Cuadro 5. Consumo de materia seca, producción y composición de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia, alimentadas con una dieta adicionada con 0 y 25 gramos de enzimas fibrolíticas. ....	59

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Etapas comprendidas en el periodo de transición .....	13
Figura 2. Incremento en el peso del feto a medida que avanza la gestación. Adaptado de Bauman y Currie (1980).....	16
Figura 3 . Cambios en la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y el consumo de materia seca alrededor del parto. Adaptado de Bell (1997). .....	18
Figura 4. Conformación de una enzima (Pelczar et al., 1982).....	23
Figura 5. Efecto de la concentración de la enzima sobre el índice de actividad. .....	27
Figura 6. Efecto de la concentración del sustrato sobre el índice de actividad enzimática. ....	27
Figura 7. Efecto del pH sobre la actividad enzimática. ....	27
Figura 8. Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.....	27
Figura 9. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas. ....	60
Figura 10. Producción de leche de vacas en el inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas. ....	61
Figura 11. Producción de leche corregida al 4% de grasa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas. ....	62

Figura 12. Contenido de sólidos totales en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.....	63
Figura 13. Contenido de grasa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.....	64
Figura 14. Contenido de proteína en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.....	65
Figura 15. Contenido de lactosa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.....	66

## DEDICATORIAS

*A mis papás como un testimonio de amor y gratitud correspondiendo al esfuerzo y apoyo quiero que sepan que mi principal motivación a lo largo de todo este tiempo han sido ustedes que confiaron en mí y me alentaron a seguir adelante y sabiendo que no existirá una forma de agradecer una vida de sacrificio y esfuerzo, quiero que sientan que el objetivo logrado, también es de ustedes y que la fuerza que me ayudó a conseguirlo fue su gran apoyo.*

*A mis hermanos que siempre tienen una palabra oportuna en todo momento, que comparten mi soledad y tristeza con su alegría y sonrisas, que me guían por el camino de la sabiduría, que tienen un corazón abierto para mí y que me quieren a pesar de mis defectos.*

*A mamá toya por sus consejos, por su cariño, por su compañía y por qué es imposible olvidar a la persona que me espera con un su inmenso amor a mi regreso a casa*

*A mis abuelos, tíos, primos quienes siempre han confiado en mí, y quiénes me motivan a ser mejor cada día, porque sin su amor, apoyo y enseñanzas nada de esto hubiera sido posible.*

*A mi novia, esa mujer que recorrió a mi lado este camino, porque solo con su presencia logró que cada momento fuera único y especial, porque me ha motivado a ser mejor persona. Gracias Nancy :)*



## AGRADECIMIENTOS

*A Dios por bendecir a mi familia e iluminarme para llegar hasta esta etapa y sobre todo por darme salud para lograr mis objetivos.*

*A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Producción Animal por darme el honor de formarme como profesionista.*

*Al M.C Carlos Sánchez del Real por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de este trabajo.*

*AL Ph.D. Carlos L. Cántora González, Dr. Luis A. Miranda Romero y al M.C Constantino Romero Márquez por su tiempo, dedicación y acertadas sugerencias para la culminación de la presente investigación.*

*A mis amigos por apoyarme durante el desarrollo de la investigación, ya que sin su ayuda esto hubiera sido muy complicado.*

*Al CONACyT por su apoyo económico durante mi formación académica.*

## DATOS BIOGRÁFICOS



### Datos personales

Nombre: Pedro Joseph Hernández Martínez  
Fecha de nacimiento: 29 de junio de 1992  
Lugar de nacimiento: Satélite, Naucalpan, Estado de México  
CURP: HEMP920629HMCRRD02  
Profesión: Ingeniero Agrónomo especialista en Zootecnia  
Cédula profesional: 10108427

### Desarrollo académico

Licenciatura: Universidad Autónoma Chapingo  
Maestría: Universidad Autónoma Chapingo

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La alimentación es un aspecto importante para la producción animal y, la etapa de transición estado gestante y sin producción de leche a uno de no gestante y con producción de leche, es la más vulnerable en la vida productiva de la vaca. En ésta etapa la vaca presenta cambios nutricionales metabólicos, hormonales, productivos y reproductivos de importancia, por lo que requiere de mayores cantidades de nutrientes digestibles (Colunga y Pérez, 2016).

El forraje es un componente importante en la dieta para rumiantes; sin embargo, la eficiencia de utilización por el rumiante es baja debido a que la digestibilidad aparente de su fibra es inferior al 65% (Van Soest, 1994). Se han desarrollado procesos para aumentar la digestibilidad y valor energético de los forrajes (Owens et al., 1997), con el objetivo de maximizar la producción de leche y reducir la incidencia de problemas metabólicos, sin afectar grasa ni proteína en leche.

El uso de enzimas digestivas exógenas, como aditivos alimenticios para rumiantes, busca mejorar la digestión de alimentos, la absorción ruminal e intestinal de nutrientes, y la disponibilidad de éstos para la producción, composición de la leche y mejorar las condiciones físicas de la vaca (Colunga y Pérez, 2016). La adición de enzimas fibrolíticas exógenas (xilanasas y celulasas) puede inducir incrementos de 20% en la digestibilidad de la fibra (Rode et al., 1999), 11% en el consumo de materia seca y 15% en la producción de leche (Lewis et al., 1995). Sin embargo, no se conoce el efecto de estos aditivos enzimáticos durante la etapa de transición, por lo que el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del uso de enzimas fibrolíticas en el consumo de materia seca en vacas en periodo seco preparto, además, la producción y composición de leche de vacas en inicio de la lactancia.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Producción de leche en México**

En México existen 2 millones 457 mil 683 cabezas de ganado bovino productor de leche para el año 2016, con una producción registrada de 11 mil 607 millones de litros de leche, con lo cual, México se ubicó en el noveno lugar en la producción mundial de leche. Sin embargo, también México se ubicó en el quinto lugar como país importador con 292 mil 803 toneladas (SIAP-SAGARPA, 2016).

En México la producción de leche de bovino se genera en cuatro sistemas de producción: el tecnificado, semitecnificado, doble propósito y lechería familiar. En los dos primeros por tratarse de sistemas intensivos de producción no se presentan altos volúmenes en los meses de lluvia. Esto, porque la alimentación del ganado está basada en granos y forraje de corte y les es posible mantener promedios homogéneos y constantes durante todo el año, mientras que en el sistema de doble propósito la alimentación depende de la disponibilidad de forraje, la cual está ligada a la temporada de lluvias (FIRA, 2011).

### **2.2 Características del periodo de transición**

El periodo de transición que gira alrededor del parto ha sido definido de diversas maneras, pero en general, es considerado como aquel periodo que transcurre desde tres semanas antes del parto hasta tres o cuatro semanas luego del parto (Drakley, 1999), siendo un periodo caracterizado por modificaciones dramáticas en el estado endócrino de las vacas que las preparan para el parto y la lactogénesis (National Research Council, 2001).

Este periodo es de vital importancia, ya que en él se define el futuro productivo, reproductivo, metabólico y sanitario de las vacas, las cuales incrementan rápidamente la producción de leche alcanzando el máximo unas pocas semanas después del parto. Sin embargo, un deficiente manejo nutricional y alimenticio puede comprometer no sólo la aceleración con la que la vaca produce leche

en el posparto temprano si no que, además, puede afectar negativamente su salud y el funcionamiento reproductivo.

Este periodo de transición se ha dividido en varios periodos de tiempo de acuerdo a los fenómenos fisiológicos y metabólicos que predominan en cada uno de ellos (Gamroth & Carroll, 1995; Stalling, 1999). Además, sobre la base de la caracterización de estos periodos, se han planteado las pautas de manejo que se han de establecer para minimizar los riesgos de enfrentar a las vacas a las disfunciones metabólicas, sanitarias y productivas que tienen su origen en el desajuste a los cambios que allí se suceden. Aunque para algunos autores el periodo de transición abarca las tres últimas semanas antes del parto (periodo seco preparto) y las tres a cuatro primeras posparto (posparto temprano) (Drakley, 1999), otros consideran que las primeras semanas del periodo seco (periodo seco fresco) han de ser analizadas también (Hutjens, 1999) (Figura 1).

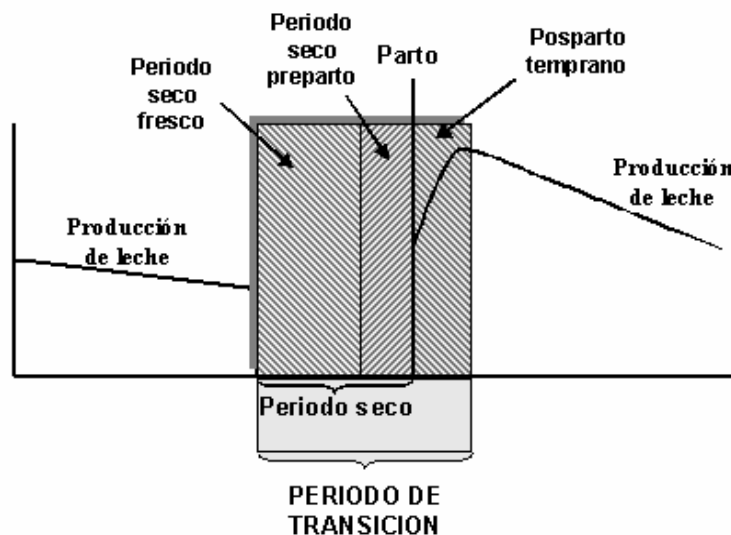


Figura 1. Etapas comprendidas en el periodo de transición

### **2.2.1 Periodo seco fresco**

Este periodo abarca desde el momento en que la vaca es secada hasta tres semanas antes del parto (Hutjens, 1999) y es de interés debido a las implicaciones que tiene en la modificación de las poblaciones microbianas en el rumen, la recuperación tanto de las paredes ruminales (Bungart, 1998) como de la glándula mamaria (Capuco et al., 1997), el desarrollo del feto, así como la incidencia de mastitis (Smith & Guthrie, 1989).

### **2.2.2 Periodo seco preparto**

Es quizá el periodo más crítico (Stalling, 1999) y abarca desde tres semanas antes del parto hasta el momento del parto (Hutjens, 1999). Los cambios en el consumo de materia seca, así como en el estado hormonal y metabólico de los animales, se presentan de manera dramática durante esta fase. La incidencia de desórdenes periparturientos tales como hipocalcemia, retención de placenta, cetosis, mastitis y desplazamiento de abomaso, están muy asociados con el manejo y la alimentación de la vaca durante este periodo.

### **2.2.3 Posparto temprano**

El pasar de estar en un estado de preñez y sin producir leche a estar vacía y produciendo grandes cantidades de leche, se le exige al animal una alta capacidad de adaptación a las nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas. Pero dicha capacidad de adaptación no basta. Se hace necesario acompañar al animal en esta transición mediante adecuadas pautas de manejo, de lo contrario, la posibilidad de aparición de disfunciones de toda índole, se incrementa. La mayoría de disfunciones metabólicas (cetosis, hígado graso, edema de ubre), nutricionales (hipocalcemia), alimenticias (acidosis ruminal, laminitis, desplazamiento de abomaso), sanitarias (mastitis, metritis, abscesos hepáticos),

y productivas (baja producción de leche, relación grasa: proteína invertida), ocurren dentro de las primeras dos semanas de lactancia (Goff & Horst, 1997).

El balance energético negativo que está acompañado de un bajo consumo de materia seca y que se presenta durante esta fase, es herencia de las condiciones que caracterizan al periodo seco preparto. El rápido incremento en la producción de leche se ve acompañado por la movilización de tejido adiposo, muscular y óseo y un lento incremento en el consumo de materia seca (Komaragiri & Erdman, 1997). Dependiendo de la condición corporal que presente el animal al momento de ser secada, va a ser la movilización de tejidos de reserva durante el periodo de transición y mayor va a ser el balance energético negativo (BEN) en que entre el animal (Correa, 2001).

### **2.3 El consumo de materia seca durante el periodo de transición**

Al finalizar la gestación existe una reducción del consumo de materia seca (CMS) el cual está relacionado con la aparición de diversas disfunciones metabólicas, sanitarias y reproductivas, y con el nivel de producción de leche (Hinders, 2000).

Dentro de los factores que afectan el consumo voluntario de materia seca en vacas durante el periodo de transición se encuentra el estado fisiológico del animal, específicamente el estado de gestación o momento relativo al parto afecta el CMS. Es común que el CMS se reduzca entre 30 y 35% durante las tres últimas semanas de la gestación. Se ha señalado que el incremento en el tamaño del feto establece una restricción física al reducir el volumen del rumen (Figura 2). Es posible que este efecto se dé en alguna medida, sin embargo, la curva de crecimiento del feto y la del CMS no son consistentes. El tamaño del feto se incrementa más rápidamente que la reducción que se presenta en el CMS. Esto podría ser debido a que, al parecer, como una compensación a la reducción en el espacio disponible para el rumen, se incrementa la tasa de pasaje y, por ende, el CMS. Al momento del parto, queda en la cavidad abdominal

un espacio libre luego de la expulsión de los fluidos amnióticos, el feto y las membranas fetales y que puede equivaler a 70 kg en una vaca Holstein. La liberación de este espacio debería permitir el incremento rápido en el CMS pocos días luego del parto, si efectivamente existiese una limitante física debido al útero grávido (Ingvarsten & Andersen, 2000). Sin embargo, esto no sucede y, al contrario, el incremento en el CMS en el posparto es relativamente lento en comparación con el incremento observado en la producción de leche.

Es factible, por lo tanto, que otros factores diferentes a los factores físicos estén involucrados con el comportamiento ingestivo del periodo de transición. El posible efecto físico del feto en crecimiento y la liberación de un gran espacio en el abdomen luego del parto, coinciden con cambios en factores endócrinos y en las reservas corporales (Ingvarsten & Andersen, 2000).

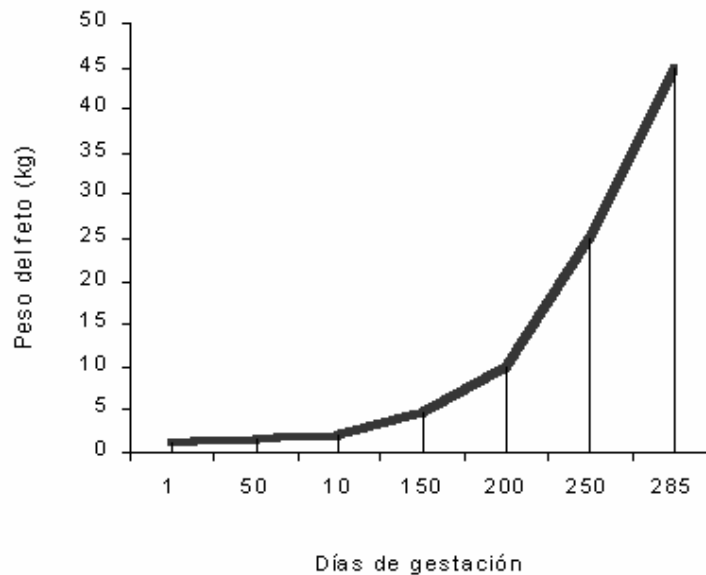


Figura 2. Incremento en el peso del feto a medida que avanza la gestación. Adaptado de Bauman y Currie (1980).



La disminución en el CMS al final de la gestación genera movilización de tejido adiposo con el consecuente incremento en ácidos grasos no esterificados (AGNE) en sangre (Ingvarsten & Andersen, 2000). Igualmente es conocida la relación entre el grado de condición corporal y la movilización de tejidos de reserva durante el periodo de transición. Se ha señalado que la condición corporal óptima al parto debe estar entre 3.0 y 3.5 en una escala de 1 a 5 (Grummer & Hayirli, 2000).

El incremento en la concentración de AGNE circulantes (Figura 3), como consecuencia de la movilización del tejido adiposo, conduce a un incremento en su captación por el hígado y ésto se ha asociado a la reducción en el CMS tanto en rumiantes como en no rumiantes.

Otros factores no directamente relacionados con el metabolismo del animal pueden estar involucrados en la disminución en el consumo de materia seca durante el periodo de transición. Entre estos se incluye el contenido energético de la ración y los requerimientos nutricionales del animal. El manejo alimenticio es un gran componente de los factores ambientales, y es uno de los que con mayor efectividad se puede controlar. El manejo alimenticio está conformado por el sistema de alimentación (pastoreo, semipastoreo, estabulación), frecuencia y orden en la alimentación, y factores psicológicos y sociales. La comprensión del comportamiento ingestivo de la vaca es crítica en el momento de integrar adecuadamente el suplemento alimenticio con una estrategia de alimentación eficiente (Grant & Albright, 1995).

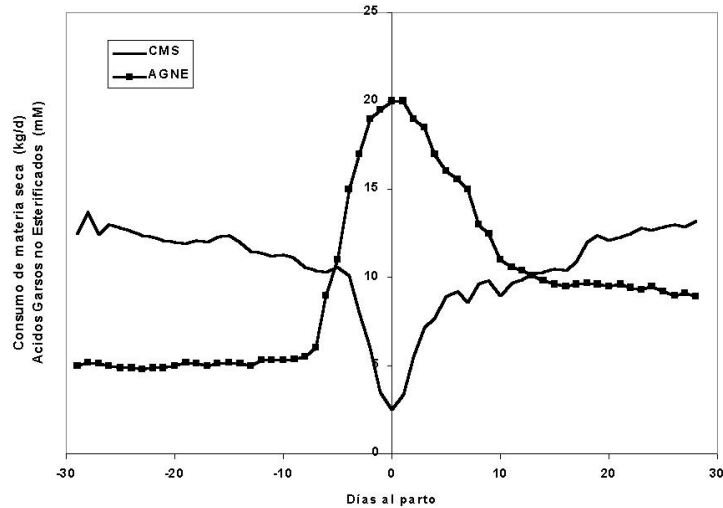


Figura 3 . Cambios en la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y el consumo de materia seca alrededor del parto. Adaptado de Bell (1997).

Poder maximizar el CMS es crucial para evitar o reducir el balance negativo de nutrientes durante el periparto. La depresión en el CMS y el balance energético negativo que este acarrea determina en buena medida el grado de acumulación de triacilglicéridos en el hígado (Doepel et al., 1996).

## 2.4 Fibra en nutrición de rumiantes

Los carbohidratos constituyen el componente más importante en las raciones de vacas lecheras. Desde el punto de vista funcional se dividen en fibrosos y no fibrosos. Parte de esos carbohidratos se encuentran en la fibra de los alimentos, la cual tiene la función de mantener un correcto funcionamiento del rumen que no comprometa la salud del animal. Para ello, las vacas deben consumir una cantidad mínima de fibra que estimule la rumia y la salivación. (Palladino et al., 2006)

La fibra o pared celular está constituida por celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina, nitrógeno lignificado, cutina y una fracción de minerales insolubles formada especialmente por sílice. La celulosa y la hemicelulosa sólo son digeridas por los procesos de fermentación microbiana, donde la población de bacterias, protozoarios y hongos producen enzimas que son capaces de romper los carbohidratos complejos de la pared en moléculas más pequeñas, las cuales son disponibles para el animal, primero como glucosa y luego como ácidos grasos volátiles. Estos ácidos aportan la mayor parte de la energía que requiere un animal rumiante (Cruz & Sánchez, 2013). Aproximadamente el 50% de la grasa láctea proviene de la fermentación de la hemicelulosa y celulosa, las cuales a su vez son los principales precursores del ácido acético (González & Soto, 1998).

Cuando la cantidad de fibra en la dieta es excesiva, la producción se ve afectada debido a que se produce un mayor llenado ruminal, una menor tasa de pasaje y un menor consumo. Por otro lado, cuando el aporte de fibra es bajo, existe riesgo de problemas como acidosis, laminitis o desplazamiento de abomaso. Las consecuencias productivas son un bajo porcentaje de grasa en leche, una inversión en la relación grasa:proteína de la leche y, en casos extremos de acidosis, un menor consumo y producción (Palladino et al., 2006).

## **2.5 Carbohidratos del forraje**

### **2.5.1 Carbohidratos no fibrosos**

Son una fuente de energía muy importante y pueden presentarse en forma de azúcares solubles, con lo cual varía su degradabilidad ruminal y sitio de digestión (Palladino et al., 2006).

## **2.5.2 Carbohidratos fibrosos**

Si bien existen diferencias en su composición, solamente pueden ser digeridos en el rumen. La determinación química de la fibra insoluble en detergente neutro (FDN) se utiliza como estimador del contenido de carbohidratos fibrosos. La FDN está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina. La calidad de la FDN depende de la proporción relativa de sus componentes ya que la lignina es indigestible mientras que la celulosa y la hemicelulosa sí lo son. A su vez, la celulosa es menos digestible que la hemicelulosa (Palladino et al., 2006).

### ***Celulosa***

Está constituida por microfibrillas cristalinas, lineares y de alto peso molecular, formando polímeros de moléculas de D-Glucosa, cuya digestibilidad puede ser muy alta (cerca del 90 %) dependiendo de su grado de lignificación (Van Soest, 1994). Las microfibrillas están separadas entre sí unos 30 nm; ese espacio está ocupado por los polisacáridos matriciales y por lignina o suberina, lo que confiere gran resistencia mecánica a la pared (Rodríguez-Palenzuela et al., 1998).

La disponibilidad de la celulosa para los organismos celulolíticos varía de acuerdo al nivel de lignificación y el ambiente ruminal generado por la dieta, siendo el rumen el principal sitio de digestión con 80-85% de la cantidad degradada en todo el tracto. La celulosa digestible que puede ser fermentada en el ciego y colon varía de un mínimo de un 5 % a un máximo de un 29 %, dependiendo del tipo de forraje, procesamiento, nivel de consumo, y tipo y nivel de suplementación. La fermentación de este compuesto químico lleva a la formación de ácidos grasos volátiles (AGV) (Dehorty, 1973).

### ***Hemicelulosa***

Es otro componente de la pared celular del vegetal, está constituida por cadenas de xilano unidas a moléculas de glucosa, fructosa, galactosa y arabinosa. Este

complejo químico no es soluble en agua y constituye entre el 30 al 40 % del total de los carbohidratos totales. La degradación de la hemicelulosa por los microorganismos del rumen varía con el tipo y estado de madurez del forraje, forma de conservación y nivel de consumo. La digestibilidad en rumen varía entre un 52 y un 84 % y en ciego y colon entre 9 y 45 % (Dehority, 1973).

### ***Pectina***

Representa menos del 10% de los constituyentes de la pared celular, es totalmente digestible, y está formada por cadenas ramificadas de ácido galacturónico. La unión entre los polisacáridos que integran la pectina son del tipo  $\alpha$  (como los del almidón) y por tanto las pectinas son casi totalmente degradadas en el rumen (Bach & Calsamiglia, 2006). Las pectinas se digieren más rápidamente que la celulosa o la hemicelulosa, pero a diferencia de lo que ocurre con la rápida fermentación del almidón, la fermentación de las pectinas no disminuye el pH ruminal, básicamente porque las bacterias que degradan las pectinas son sensibles a pH ácidos.

### ***Lignina***

Es un polímero compuesto de unidades de fenil propano de estructura muy compleja y de alto peso molecular. Es indigestible y altamente resistente a la mayoría de los agentes químicos. Su contenido aumenta con la edad del forraje y puede alcanzar 15 % de la materia seca. Está altamente asociada a los componentes de la pared celular, como la celulosa, hemicelulosa y con ciertas proteínas. De su proporción dependerá la digestibilidad de la pared celular. (Blanco, 1999).

Las leguminosas se caracterizan por tener mayor proporción de lignina que las gramíneas (Fernández, 1998) Los microorganismos que atacan la lignina son

aeróbicos, siendo el ambiente ruminal eminentemente anaerobio. Por lo tanto, la fermentación de la lignina es extremadamente baja, y su presencia constituye una especie de barrera física para la fermentación microbiana de la celulosa y hemicelulosa.

## **2.6 Enzimas**

Las enzimas son catalizadores biológicos, y pertenecen a la clase de las proteínas globulares. Todas las reacciones químicas del metabolismo celular se realizan gracias a la acción de catalizadores o enzimas. Su función es acelerar y facilitar dichas reacciones, es decir, convierten moléculas complejas en sus constituyentes más simples (glucosa, xilosa y celobiosa), tanto en bacterias como en el rumen (Huber, 1985).

Las células pueden realizar reacciones químicas a gran velocidad, a temperatura relativamente baja y pH biológico de cada enzima. Las enzimas que una célula elabora, determinan sus funciones biológicas ya que una célula sólo puede llevar a cabo una reacción química, a un ritmo razonable, si tiene una enzima específica para catalizar esa reacción. Sin enzimas, las reacciones serían tan lentas que difícilmente se llevarían a cabo (Pelczar et al., 1982).

Las enzimas son compuestos orgánicos producidos por organismos vivos. Aunque todas las enzimas inicialmente se producen en las células, algunas son excretadas a través de la pared de éstas y funcionan fuera del medio celular. De esta manera se reconocen dos tipos de enzimas según el sitio donde actúen: enzimas intracelulares o endoenzimas (funcionan en las células), y enzimas extracelulares o exoenzimas (actúan fuera de las células) (Pelczar et al., 1982).

La función principal de las exoenzimas es realizar todos los cambios necesarios en los nutrientes del medio para permitir que entren a la célula como alimento. Las enzimas intracelulares sintetizan material celular y efectúan reacciones

catabólicas de las cuales se desprende energía que aprovecha la célula (Pelczar et al., 1982).

Las características generales de las enzimas son iguales, ya sea que hayan sido producidas por microbios, personas u otras formas de vida. Células del organismo muy diferentes pueden contener algunas enzimas idénticas o que tienen funciones idénticas (Pelczar et al., 1982).

### 2.6.1 Propiedades físicas y químicas de las enzimas

Como las enzimas son proteínas, o proteínas combinadas con otros grupos químicos, poseen las mismas propiedades características de las proteínas: se desnaturalizan con el calor, se precipitan con el etanol, o con concentraciones elevadas de sales inorgánicas como el sulfato de amonio, y no dializan a través de membranas semipermeables (Pelczar et al., 1982).

Muchas enzimas son una proteína combinada a una molécula orgánica de bajo peso molecular conocida como coenzima. La proteína de este caso es denominada apoenzima. Cuando se unen, las dos formas completan una enzima que se denomina holoenzima, como se muestra en las Figura 4.

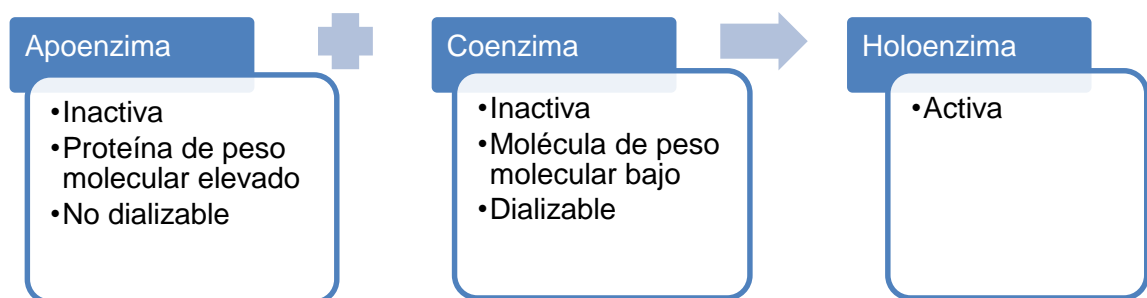


Figura 4. Conformación de una enzima (Pelczar et al., 1982).

La parte principal de algunas coenzimas es una vitamina. Varias vitaminas del complejo B han sido identificadas como componentes primordiales de las coenzimas (Pelczar et al., 1982).

En algunos casos, la porción no proteica de una enzima puede ser un metal. El metal puede estar ligado fuerte o laxamente a la proteína, en este último caso el metal puede disociarse con facilidad, dependiendo de la naturaleza de la enzima. Muchas enzimas necesitan de la adición de iones metálicos ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , etc.) para activar su función enzimática. Se supone que estos iones metálicos actúan en combinación con la proteína de la enzima, y se les conoce como coenzimas inorgánicas o cofactores. Algunas veces, tanto el cofactor como la enzima (orgánica) se necesitan para que la enzima empiece a ser activa (Pelczar et al., 1982).

Las enzimas son muy eficientes para acelerar la transformación de sustratos a productos finales. Una sola molécula de enzima puede afectar el cambio de 10 mil a 1 millón de moléculas de sustrato por minuto. Esta propiedad y el hecho de que la enzima no se consume ni se altera durante la reacción, explica por qué se necesitan muy pequeñas cantidades de la enzima para que se efectúen los procesos celulares (Pelczar et al., 1982).

Las enzimas son inestables en el sentido de que son vulnerables. Su actividad puede disminuir o destruirse de manera significativa por gran variedad de condiciones físicas o químicas, pero existen grandes diferencias a este respecto entre cada una. Algunas se inactivan por pequeñas alteraciones del medio. La susceptibilidad a ser destruidas por agentes físicos o químicos repercute en una pérdida de las funciones celulares en las que intervienen (Pelczar et al., 1982).

Las dos características más sobresalientes de las enzimas son: a) su alto poder catalítico y b) su alto grado de especificidad por los sustratos. Una enzima puede reaccionar con un solo sustrato o, en algunos casos, con un grupo particular de sustratos relacionados químicamente. En concreto esto significa que las células generalmente producen diferentes enzimas para cada compuesto que



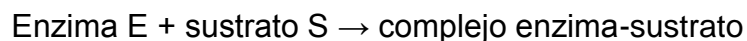
metabolizan. Además, cada enzima interviene en un paso o cambio del sustrato (Pelczar et al., 1982).

### **2.6.2 Sitio activo de la enzima**

El sitio activo de la enzima es donde se fija el sustrato, en el cual intervienen algunos aminoácidos de la enzima, de la siguiente forma: a) algunos pueden ser continuos en la cadena primaria, b) también existen aminoácidos alejados en la cadena primaria, que se acercan al intrincado plegamiento de la estructura terciaria, c) aminoácidos de distintas cadenas de polipéptidos. El sitio activo no sólo tiene forma 3D complementaria del sustrato, sino que también posee una serie complementaria de áreas con carga eléctrica, hidrofóbicas e hidrofílicas y, además, reconoce al sustrato y lo acopla y orienta en una determinada dirección (Pelczar et al., 1982).

### **2.6.3 La naturaleza de las reacciones enzimáticas**

La mayor parte de las reacciones enzimáticas se pueden ejemplificar con la reacción siguiente:



La enzima E y el sustrato S se combinan para formar el complejo enzima-sustrato ES, que después se rompe para producir el producto P. La enzima no entra en la reacción, sino que es puesta en libertad para futuras reacciones con otra molécula similar de sustrato. Este procedimiento se repite muchas veces (Pelczar et al., 1982).

Algunas enzimas permanecen libres en concentraciones bajas de sustrato y no se alcanza la máxima velocidad. Cuando el sustrato se encuentra en exceso toda la enzima se transforma en ES y la reacción se realiza a su máxima velocidad.

Bajo óptimas condiciones físicas, la velocidad de reacción, depende de la concentración de cada una de las tres entidades, S, E y P. Finalmente, la reacción entra en equilibrio cuando no ocurren más cambios. Sin embargo, si el producto P se quita después que se produjo (el cual puede servir como sustrato para otra reacción) impedirá el establecimiento del equilibrio; por lo tanto, el sustrato S se seguirá convirtiendo en producto P, en relación a la concentración del sustrato S, se presenta inhibición gradual o reversión de la reacción, lo que es,  $P \rightarrow S$  (Pelczar et al., 1982).

#### **2.6.4 Condiciones que afectan la actividad enzimática**

Entre las condiciones que afectan la actividad de las enzimas se encuentran las siguientes:

- 1) Concentración de la enzima
- 2) Concentración del sustrato
- 3) pH
- 4) Temperatura

Existe una relación óptima entre la concentración de la enzima y del sustrato para obtener actividad máxima como se representa en las Figuras 5 y 6. También cada enzima funciona de manera óptima a pH y temperatura particulares (Figuras 7 y 8). De estas figuras queda claro que de las desviaciones que haya con respecto a las condiciones óptimas resultan reducciones en la actividad, lo cual es característica para todas las enzimas. Variaciones extremas en el pH pueden inclusive destruir la mayor parte de las enzimas. Temperaturas extremadamente bajas, detienen la actividad enzimática pero no las destruyen. Muchas enzimas se pueden conservar manteniéndose a temperaturas de 0°C o menores (Pelczar et al., 1982).

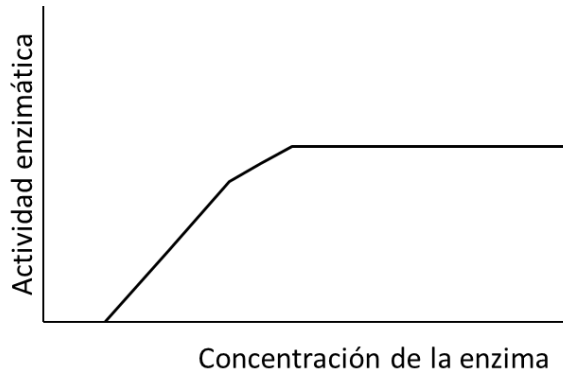


Figura 5. Efecto de la concentración de la enzima sobre el índice de actividad.

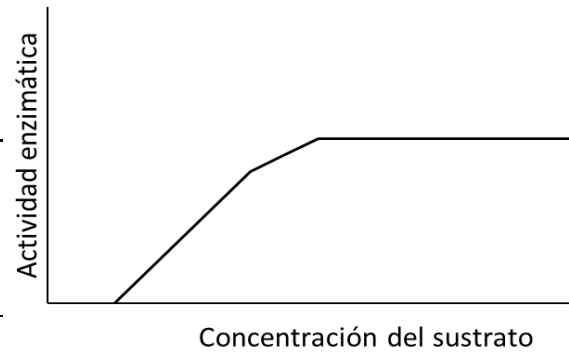


Figura 6. Efecto de la concentración del sustrato sobre el índice de actividad enzimática.

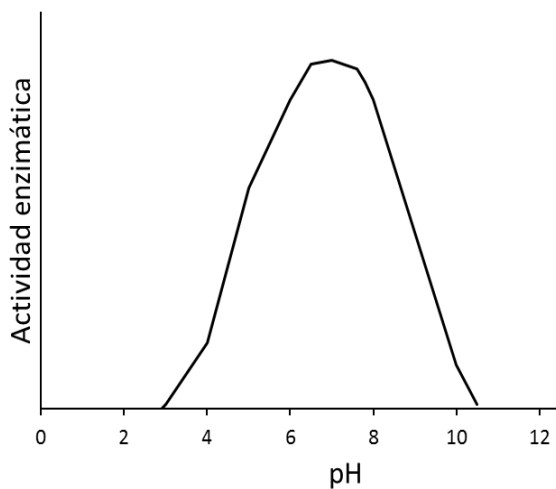


Figura 7. Efecto del pH sobre la actividad enzimática.

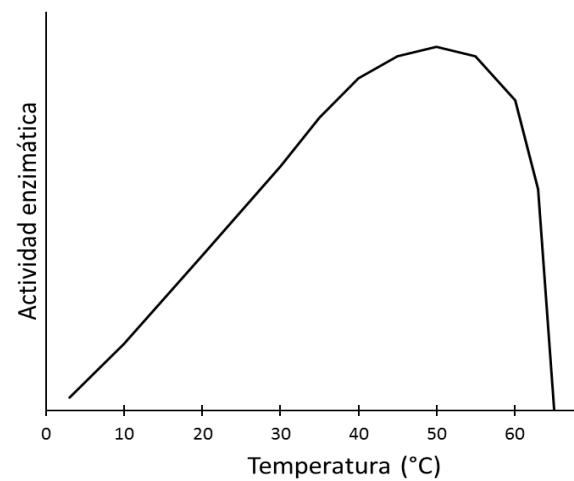


Figura 8. Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.

### 2.6.5 Condiciones que afectan la formación de enzimas

El contenido enzimático de las células de los tejidos animales es relativamente constante, ya que se encuentran en un medio en el que las condiciones físicas y químicas están sujetas a cambios muy pequeños. Pero las células bacterianas, están expuestas a un medio siempre cambiante. Los organismos manifiestan cambios de reacción al medio sólo dentro de ciertos límites. Es importante

reconocer su capacidad para producir estos cambios cuando se examinan organismos.

Con respecto a la presencia de sustratos y la formación de enzimas, las enzimas bacterianas se dividen en dos grupos:

*Enzimas constitutivas.* Siempre son producidas por la célula, independientemente de la constitución del medio en el que se desarrollan.

*Enzimas adaptativas (inducidas).* Son producidas por las células solo en respuesta a la presencia de un sustrato en particular, esencialmente sólo se producen cuando se necesitan (Pelczar et al., 1982).

## **2.6.6 Regulación de la actividad enzimática**

### **Tipos de mecanismos para la regulación enzimática**

En las células vivas existen cientos de enzimas diferentes. Cada una es un catalizador muy efectivo para una o más reacciones químicas; pero todas actúan en conjunto de manera coordinada para que todas las actividades químicas en las células vivas se integren unas a las otras. Consecuencia obvia de esto, es que la célula viva no sintetiza ni cataboliza más material que el necesario para desarrollar su metabolismo y crecimiento normal, actividad que requiere un control preciso, aunque, todos los procesos metabólicamente principales son capaces de autorregularse.

El control del metabolismo celular implica esencialmente la regulación de la actividad enzimática. En una célula microbiana, como en una bacteria, la existencia de mecanismos reguladores celulares es muy importante ya que operan en las células de los tejidos de organismos superiores.

En general las enzimas son controladas o reguladas de dos maneras: control genético y control directo de catálisis. Tanto la inducción como la represión de

enzimas actúan a nivel genético. El control directo de la actividad enzimática puede ser el del mecanismo catalítico por sí mismo o por el acoplamiento del mecanismo catalítico con otros procesos. En el primer caso, dicho control es simplemente causado por la alteración en la concentración de los sustratos o reactivos y se manifiesta por la cinética de las enzimas que caracteriza las reacciones enzimáticas. Por ejemplo, cuando la concentración del producto se incrementa, la velocidad de la reacción aumenta hasta alcanzar un valor límite. Además, cuando se acumulan los productos, la velocidad de la reacción disminuye. Otros reactivos, como las coenzimas y cofactores, también pueden ejercer influencia en el control en la célula latente. El control directo del mecanismo catalítico por sí mismo, puede también ser causado por divisiones o separaciones espaciales dentro de la célula. Las enzimas suelen estar delimitadas por diversas estructuras internas, especialmente membranas y macromoléculas, de manera que las enzimas y los sustratos no están en contacto directo (Pelczar et al., 1982).

El control directo de la actividad enzimática mediante acoplamiento con otros procesos implica generalmente una regulación catalítica de las moléculas capaces de ligarse a la enzima, que no participan en el proceso catalítico por sí misma. Dichos catalizadores no son con frecuencia similares o cercanos en su estructura al sustrato (Pelczar et al., 1982).

### **2.6.7 Nomenclatura y clasificación de las enzimas**

Cada enzima es designada por: a) Nombre recomendado, corto y apropiado para su uso general, b) nombre sistemático que identifica la reacción que cataliza y c) número que se emplea cuando se necesita la identificación inequívoca de la enzima. Las enzimas se clasifican en seis clases: a) Oxidorreductasas que provocan reacciones de transferencia de electrones (óxido-reducción), y se conocen como deshidrogenadas u oxidasas, peroxidasas, oxigenasas, o reductasas, b) transferasas para transferencias de grupos funcionales de una

sustancia a otra, ejemplo, UDP-glucosa-fructosa-glucotransferasa, c) hidrolasas que catalizan reacciones de hidrólisis de sustancias y el agua sirve como receptor del grupo transferido, ejemplo, lipasa, proteasa, celulasa, d) liasas para la adición a dobles enlaces o ruptura de moléculas por procesos distintos. ejemplo, carboxilasa fenilalanina amonioliasa, e) isomerasas para la interconversión de isómeros, ejemplo, fosfoglucosa isomerasa, f) ligasas o sintetasas que catalizan la ligadura o unión de dos sustratos en reacciones sintéticas, al catalizar energía en forma de ATP (Pelczar et al., 1982; Huber, 1985).

## **2.7 Microbiología ruminal**

El sistema microbiano ruminal es un activo proceso regulado mediante complejos mecanismos bioquímicos. En el rumen existe una fase gaseosa donde se puede encontrar metano (CH<sub>4</sub>) y CO<sub>2</sub>, y otra acuosa que tiene dos estratos: estrato ventral (90 % agua y 10 % MS), donde están las partículas de alimento de mayor densidad y de forraje con más de 12 h de digestión; estrato superior (80 % agua y 20 % MS) conformado por un manto de forraje de baja densidad. Por tanto, los estratos difieren en composición y actividad microbiana; en la fase acuosa los microorganismos son anaerobios estrictos, con una menor cantidad de anaerobios facultativos. Las bacterias forman la mayor parte de esos microorganismos, hay un máximo de 40 % de protozoarios y menos de 8 % de hongos (Díaz et al., 2008).

Cheng y Costerton (1980) postularon que los microorganismos del rumen pueden ser clasificados en tres grupos: (I) los microorganismos que se adhieren a la pared del rumen, (II) los que viven libremente y (III) los que están adheridos a las partículas del alimento. Este último grupo representa 75 % del total de microorganismos ruminales y desde el punto de vista ecológico son los que presentan las mayores ventajas, ya que los otros pueden ser removidos del rumen más rápidamente por el flujo de la digesta.

Un factor importante para alcanzar una actividad microbiana óptima es que los microorganismos dispongan de los sustratos necesarios para su mantenimiento y crecimiento. En ausencia de energía fermentable y de algunos otros nutrientes exógenos, 60 % de las bacterias ruminales podrían morir en un lapso de 2 horas y alrededor del 30% o más podrían lisiarse debido a la inanición. Por tanto, es necesario garantizar energía y nitrógeno suficiente y además minerales, vitaminas, péptidos y aminoácidos, si se quiere obtener una velocidad de digestión de la fibra y una síntesis óptima de proteína.

El ecosistema ruminal es enormemente complejo, responde a cambios dietarios y la optimización de la fermentación ruminal dependerá en gran medida del entendimiento que se logre tener de los mecanismos reguladores de los procesos que tienen lugar en el rumen (Díaz et al., 2008).

### 2.7.1 Bacterias

Cada mililitro de contenido ruminal alberga alrededor de 10 mil a 50 mil millones de bacterias, siendo estos los microorganismos más abundantes. Las bacterias se encuentran en una gran variedad de géneros y especies por lo menos 28 especies funcionalmente importantes, las cuales se agrupan de acuerdo a su actividad.

Según González (2002) la mayoría de las bacterias que se encuentran en el rumen son anaerobias estrictas, Gram Negativas donde se observan bacilos, cocos, cocobacilos, espiroquetas y esporoformes, siendo las principales responsables de la fermentación ruminal. Algunos de los principales grupos de bacterias, de acuerdo con el sustrato utilizado, son los siguientes (Díaz et al., 2008):

**Celulolíticas:** *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*.

**Hemicelulolíticas:** *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R.albus*.

**Amilolíticas:** *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Streptococcus bovis*, *Succinomonas amilolítica*.

**Proteolíticas:** *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* .

**Pectinolíticas:** *B. fibrisolvens* y *Lachnospira multiparus*, además de las bacterias hay algunos protozoarios que tiene función pectinolítica.

La mayor parte de los nutrientes energéticos que consumen los rumiantes se encuentran en la celulosa, hemicelulosa, y pectina de la pared celular, así como en el almidón del contenido celular, de aquí la importancia de estos microorganismos en la alimentación de estos animales. Además, *B. amilophylus*, *Selenomonas ruminantium*, y *Streptococcus bovis*, al igual que algunas cepas de *B. succinogenes*, sintetizan amilasas (para fermentar almidón), mientras que *Megasphaera elsdenii* utiliza azúcares solubles (Díaz et al., 2008).

También algunas bacterias degradan componentes tóxicos de la dieta como los aminoácidos mimosina y sus derivados, componentes del forraje de *Leucaena*, fenoles vegetales como la cumarina (1,2 benzopirona), etc. A pesar del papel de las poblaciones protozoaria y fúngica del rumen en la digestión de la pared celular vegetal, parece claro que son las bacterias los microorganismos más activamente implicados en este proceso, tanto cualitativamente, por su alta actividad enzimática, como a nivel cuantitativo, por la magnitud de su repercusión debida a su elevada concentración en el rumen (Díaz et al., 2008).



### 2.7.2 Protozoarios

En el rumen se encuentran protozoos flagelados y ciliados, estos últimos presentan mayor concentración y actividad, los cuales pertenecen a dos órdenes fundamentales como se relacionan a continuación (Díaz et al., 2008).

Orden *Trichostomatida*, Familia *Isotrichidae*, Géneros *Isotricha*, *Dasytricha*, *Oligoisotricha*, y predominan cuando la dieta es alta en almidón (grano).

- 1) Orden *Entodinomorphida* (cilios cerca del peristomo u orificio bucal; ingieren bacterias principalmente), Familia *Ophryoscolecidae*.

Los protozoarios flagelados utilizan azúcares simples y bacterias como substratos: *Monocercomonas ruminantium*, *M. bovis*, *M. caprae*, *Trichomonas ruminantium*, *Tetratrichomonas ruminantium*.

El efecto de los protozoos sobre la digestión de la fibra vegetal depende del papel y de la importancia relativa de los distintos géneros y especies en el ecosistema ruminal (Jouany & Ushida, 1994). En general, la presencia de protozoos aumenta, directa o indirectamente, la digestión ruminal de celulosa y hemicelulosas respecto a animales defaunados.

Aunque las actividades enzimáticas endoglucanasa,  $\beta$ -celobiosidasa y  $\beta$ -glucosidasa —implicadas en la hidrólisis de celulosa— por una parte, y hemicelulasa y xilanasa, por otra, están ampliamente distribuidas entre los protozoos del rumen (Jouany y Ushida, 1994).

A partir de estudios con protozoos cultivados *in vitro*, tratados con antibióticos para eliminar la posible contaminación bacteriana, se ha observado que la celulosa cristalina (avicel) es degradada 30% por protozoos de los géneros *Eudiplodinium* y *Polyplastron*, y 10% por *Epidinium* (Jouany & Ushida, 1994). La capacidad de degradar celulosas sustituidas (hexaetilcelulosa, carboximetilcelulosa) es mayor para todos los géneros, siendo más limitada en *Entodinium* e *Isotricha*. Sin embargo, el crecimiento en medios que incluyen

polisacáridos estructurales como única fuente de energía respecto a un medio sin sustrato es muy variable, y sólo *Eudiplodinium* y *Epidinium* responden positivamente a la incorporación de una fuente de celulosa o de xilano (Díaz et al., 2008).

Entre los *Ophryoscolecidos*, los protozoos de los géneros *Eudiplodinium*, *Polyplastron* y *Epidinium* son activos degradadores de xilano, utilizándolo como fuente de nutrientes, y degradan celulosas sustituidas con bajo grado de cristalinidad, aunque no son capaces de utilizar los productos de su hidrólisis. Sólo los dos primeros géneros mencionados son capaces de digerir y utilizar celulosa cristalina. Los protozoos del género *Entodinium* no son capaces de actuar frente a este tipo de sustratos, mientras que los protozoos del género *Isotricha* tienen cierta actividad  $\beta$ - glucanasa, pero no utilizan los productos de la hidrólisis para su crecimiento (Williams et al., 1984; Jouany & Ushida, 1994). La capacidad de depolimerizar pectina está presente en algunas especies de protozoos, pero la posibilidad de utilizar los productos liberados como fuente de energía es mínima (Orpin, 1983).

En sentido general la capacidad de los protozoos de adherirse a las partículas de pared celular es reducida, excepto en el caso de los holótricos, estimulados probablemente por quimiotactismo hacia azúcares solubles, aunque su actividad fibrolítica es escasa (Bauchop, 1989). Los *Epidinium* se adhieren a las partículas por una zona situada en su parte anterior; luego, vierten enzimas extracelulares que van rompiendo los tejidos vegetales en pequeños fragmentos que son entonces ingeridos y digeridos intracelularmente (Díaz et al., 2008).

Bohatier, Sénaud y Benyahya (1990) registraron que los grandes entodiniomorfos únicamente tienen actividad enzimática intracelular, y por ello ejercen su acción degradativa ingiriendo partículas suspendidas en el medio, que luego digieren intracelularmente.

Cunningham (1997) menciona que los protozoos ingieren grandes números de bacterias y mantienen constante la cantidad de bacterias ruminales teniendo un

efecto negativo sobre las bacterias amilolíticas, debido a que protozoarios como *Entodiniomorfo* pueden ingerir grandes cantidades de gránulos de almidón, lo que disminuye la disponibilidad de almidón para las bacterias amilolíticas. La ingestión de almidón viene acompañada también por una depredación selectiva de las bacterias amilolíticas que se adhieren a los gránulos de almidón.

### 2.7.3 Hongos

En el rumen existen también hongos anaerobios, conocidos desde 1974, en una concentración de  $10^3$  a  $10^5$  mL<sup>-1</sup> fluido ruminal ejemplos de éstos lo constituyen: *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis*; *Piromonas communis*, *Orpinomyces* (Orpin, 1983).

La población de hongos anaerobios del rumen está directamente relacionada con el contenido en fibra de la dieta, y su proporción disminuye en dietas ricas en almidón o azúcares solubles (Grenet et al., 1989). Los hongos ruminales tienen capacidad enzimática de hidrolizar celulosa y xilano, aunque parece que no pectina (Fonty & Joblin, 1991). La actividad enzimática de los hongos frente a estos substratos es variable dependiendo del origen filogenético, en especial de la estructura rizoidal, pero se ha postulado que algunas especies, como *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas comunis* y *Orpinomyces joyonii* son tanto o incluso más eficientes en la digestión de los polisacáridos estructurales como las especies bacterianas más activamente celulolíticas (Díaz et al., 2008).

La acción fúngica sobre la pared celular vegetal y su contribución a la digestión ruminal de ésta, parece estar muy relacionada con su activa colonización. Se ha observado mediante microscopía electrónica que las zoosporas son atraídas por quimiotactismo (Bauchop, 1989), y se adhieren rápidamente a las partículas, preferentemente en estomas y zonas de corte de los tejidos lignificados (esclerenquima, xilema), aunque los tejidos vegetales no lignificados (floema, parénquima medular) son los más rápidamente degradados. En este sentido, los hongos ruminales son especialmente activos frente a substratos muy lignificados (Joblin & Naylor, 1989). De hecho, aunque no está probada su capacidad de

utilización de lignina como fuente de nutrientes, *N. frontalis* puede solubilizar pequeñas cantidades de lignina de la pared celular vegetal, probablemente debido a la solubilización de compuestos fenólicos, en mayor medida que las bacterias, aumentando la accesibilidad de los polisacáridos estructurales para las bacterias (Díaz et al., 2008).

La acción mecánica de los hongos sobre la pared celular vegetal disminuye la rigidez estructural de los forrajes y favorece la ruptura de las partículas de ésta, aumentando también así la superficie accesible para la acción bacteriana (Díaz et al., 2008). Cuantitativamente, la magnitud de la contribución de los hongos a la digestión de la pared celular *in vivo* no está totalmente esclarecida. Fonty et al., (1992) observaron que la presencia de hongos en el rumen no tiene un gran efecto sobre la desaparición de materia seca o la concentración de ácidos grasos volátiles, a pesar de que la actividad glucosidasa y polisacaridasa de la población microbiana adherida a las partículas aumenta apreciablemente.

#### **2.7.4 Virus**

También pueden ser detectados a nivel ruminal virus (bacteriófagos) principalmente en *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Eubacteria*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Selenomonas*, *Streptococcus*; siendo su función principal disminuir la concentración y actividad de bacterias ruminales (Díaz et al., 2008).

#### **2.8 Factores que afectan la población de microorganismos del rumen**

Algunos factores sobre el desarrollo de la microbiología ruminal están ligados a la fisiología de diferentes especies (máxima velocidad de crecimiento, afinidad por el sustrato, energía metabólica, resistencia a pH ácidos y compuestos tóxicos, habilidad para adherirse a las partículas de la planta, etc.). Esto depende del hospedero y su alimento (composición de la dieta, frecuencia de comidas,

cantidades ingeridas, aditivos del alimento, forma en la cual el alimento es presentado, etc.) y de la naturaleza de las relaciones establecidas entre las diferentes poblaciones durante la evolución, como la competencia, el sinergismo, la predación, el mutualismo, etc. (Díaz et al., 2008).

Generalmente se acepta que los principales factores que modifican la población de microorganismos del rumen son (Díaz et al., 2008):

- La dieta y su manipulación
- Cantidad y frecuencia en el suministro de alimentos
- Cambios diurnos y estacionales
- Procesamiento de la dieta
- Competencia entre protozoos y bacterias
- Especie animal
- Edad

Existen otras variables, que pudieran ser factores, las que también influyen en el número y representación de especies microbianas, entre estas: el consumo y su velocidad, la selectividad al pastar, la fertilidad del suelo, la situación geográfica, el clima. Estos influyen en la cantidad y calidad de nutrimento que se ofrecerán a los microorganismos del rumen (Díaz et al., 2008).

## **2.9 Enzimas exógenas fibrolíticas**

### **2.9.1 Modo de acción**

El modo de acción de las enzimas exógenas para mejorar la digestión de la pared celular de plantas es complejo, y se necesita investigación adicional en esta área. Beauchemin, Rode y Karren (1999) se basaron en la información disponible para proponer el siguiente modo de acción de las enzimas exógenas fibrolíticas:

Adicionar las enzimas exógenas antes de la ingestión de los alimentos ayuda a eliminar las barreras estructurales del alimento que limitan la digestión

microbiana en el rumen y provocan la liberación de carbohidratos solubles. Otro motivo de la aplicación de las enzimas, antes del consumo, es para aumentar su estabilidad en el rumen. Además, aumenta la unión de la enzima con el sustrato lo cual puede incrementar la resistencia de la enzima a la proteólisis.

Lo más probable es que la mayor parte de las respuestas positivas en la producción resultante del uso de suplementos de enzimas es debido a efectos ruminales. La adición de enzimas exógenas a la dieta aumenta la capacidad hidrolítica del rumen, debido principalmente al mayor apego bacteriano, estimulación de la población microbiana ruminal y efectos sinérgicos con hidrolasas de los microorganismos del rumen. El efecto neto es el de mayor actividad enzimática dentro del rumen, lo que mejora la digestibilidad de la dieta integral. Así, las mejoras en la digestibilidad no se limitan al componente dietético para el que las enzimas se aplican. Mayor capacidad hidrolítica del rumen, también pueden provocar un aumento en la digestibilidad de la fracción de carbohidratos no fibrosos, además de aumentar la digestibilidad de la fibra, lo cual explica por qué las enzimas fibrolíticas pueden ser eficaces en dietas concentradas.

Las enzimas exógenas parecen sobrevivir en el intestino delgado el tiempo suficiente para tener un efecto sobre los sustratos. Sin embargo, los efectos post-ruminales de enzimas exógenas sobre la digestión es sólo un factor importante cuando las enzimas son infundidas en el rumen, o añadido al alimento de tal manera que permita una fácil solubilización del alimento y el rápido paso en el rumen. Tal puede ser el caso cuando las enzimas se aplican a alimentos húmedos antes de ser ingeridos.

### **2.9.2 Efectos sobre consumo de alimento**

Beauchemin et al., (1999) mencionan que en estudios recientes se ha demostrado que la adición de enzimas fibrolíticas exógenas a dietas de rumiantes puede aumentar la producción de leche de vacas y la ganancia de peso del

ganado de carne en crecimiento como resultado de la mejora de la digestión del alimento.

Lewis, Sánchez, Treacher, Hunt, y Pritchard (1996) administraron un complejo enzimático fibrolítico (xilanasas y celulasas) a razón de 1.65 ml de enzima kg<sup>-1</sup> de MS en bovinos para carne, a diferentes tiempos post-alimentación, sin hallar cambios en el consumo de MS. La alimentación consistió en ofrecer a los novillos un alimento a base de heno de cebada (70%) y concentrado (30%). McAllister et al., (1999) incluyeron dos complejos enzimáticos comerciales (celulasa y xilanasas) en ovinos Suffolk alimentados con ensilado de cebada y trigo, no observaron diferencias significativas en el consumo de MS del ensilado de cebada. El consumo fue de 1,053, 1,055 y 1,041 g MS día<sup>-1</sup> para la dieta control y para las dietas con enzimas.

Pinos et al., (2002) no encontraron diferencias sobre el consumo de materia seca al incluir un complejo enzimático en la alimentación de ovinos con alfalfa y ballico perenne. En dietas de alfalfa con y sin enzima se registraron consumos de 1,623 g día y 1,670 g día<sup>-1</sup>, respectivamente, mientras que en los animales alimentados con ballico perenne los consumos fueron de 1,075 g día<sup>-1</sup> y 1,302 g día<sup>-1</sup> respectivamente.

En estudios *in vivo* con ovinos alimentados con una dieta a base de sorgo (70%) tratado con enzimas de *B. licheniformis* y *A. niger* produjeron una disminución en el consumo de materia seca, materia orgánica y almidón (Rojo et al., 2005).

### **2.9.3 Efectos sobre producción y calidad de la leche**

La suplementación con enzimas exógenas fibrolíticas aumentó la producción de leche y sólidos lácteos con dietas basadas en alto contenido de forraje. Estos resultados coinciden con los estudios publicados con posterioridad a los incluidos en el meta-análisis (Kholif & Aziz, 2014). Mohamed, Borhami, El-Shazly y Sallam (2013) encontraron que el uso de una preparación con actividad principalmente

xylanasa incrementó la producción de leche en  $1.5 \text{ kg día}^{-1}$  (3.8%). Este resultado sugiere que podría ser posible aumentar la cantidad de forraje en la dieta de vacas lecheras, si dicha dieta es tratada con enzimas fibrolíticas.

El aumento de la cantidad de forraje incluido en la dieta no sólo podría reducir los costos de alimentación, (Oba & Allen, 2005; Mendoza et al., 2014), también podría tener efectos benéficos sobre la salud y el bienestar de las vacas lecheras. Por ejemplo, incluyendo más forraje en la dieta aumenta la diversidad de los microorganismos del rumen hasta 3.45 veces, reduciendo las bacterias que causan acidosis como *Acetitomacillum*, *Lactobacillus*, *Prevotella* y *Streptococcus* (Petri et al., 2013), y reducir el contenido de metabolitos anormales en el rumen (Saleem et al., 2012; Saleem et al., 2013).



## 2.10 Literatura citada

- Bach, B., & Casalmigia, S. (2006). La fibra en los rumiantes ¿química o física?. XXII Curso de especialización FEDNA. Barcelona 16 y 17 octubre de 2006. Pp99-113.
- Bauchop, T. (1989). Colonization of plant fragments by protozoa and fungi. The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. *Armidale: Pernambuco Books*, 83-96.
- Bauman, D. E., & Currie, W. B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63,9, 1514-1529.
- Beauchemin, K. A., Rode, L. M., & Karren, D. (1999). Use of feed enzymes in feedlot finishing diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 79, 243-246.
- Bell, A. (1997). *Nutritional Physiology and Management of The Transition Cow*. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Alan\\_Bell3/publication/267237620\\_Nutritional\\_Physiology\\_And\\_Management\\_Of\\_The\\_Transition\\_Cow/links/563d8ff308ae8d65c01194e7.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Alan_Bell3/publication/267237620_Nutritional_Physiology_And_Management_Of_The_Transition_Cow/links/563d8ff308ae8d65c01194e7.pdf). Consultado el 20 de febrero de 2018.
- Blanco, M. (1999). *El alimento y los procesos digestivos en el rumen*. Producción Animal. Disponible en [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar). Consultado el 13 de noviembre de 2017
- Bohatier, J., Senaud, J., & Benyahya, M. (1990). In situ degradation of cellulose fibres by the entodiniomorph rumen ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *Protoplasma*, 154,2, 122-131. DOI: 10.1007/BF01539839
- Bungart, K. (1998). *Prepare Dry Cows for Ruminal Changes*. Dairy Biz, October. Disponible en: <http://www.dairybiz.com/archive/nutrition-25.htm>. Consultado el: 20 de febrero de 2018.
- Capuco, A. V., Akers, R. M., & Smith, J. J. (1997). Mammary growth in holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science*, 80(3), 477-487. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)75960-5
- Cheng, K. J., & Costerton, J. W. (1980). Adherent rumen bacteria-their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In *Digestive physiology and metabolism in ruminants* (pp. 227-250). Springer, Dordrecht. Disponible en: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-8067-2\\_11](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-8067-2_11). Consultado el: 20 de junio de 2016
- Colunga, T. I. & Pérez, P. V. (2016). Concentración de metabolitos sanguíneos, condición corporal y consumo en vacas Holstein suplementadas con

enzimas exógenas durante el periodo de transición. Tesis profesional. Departamento de Enseñanza e Investigación en Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 135pp.

- Correa, H. (2001). Relación producción-reproducción en vacas de alto potencial genético. Revisión. *Boletín Técnico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 10, 3-13.
- Cruz, C., & Sánchez González, J. M. (2013). La fibra en la alimentación del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical*, 6,1, 39-74. Disponible en: <http://repositorio.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/13518/10317-14671-1-SM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cunningham, J. G. (1997). *Fisiología Veterinaria*. (2a ed.). México. McGraw- Hill Interamericana.
- Dehority, B. A. (1973). Hemicellulose degradation by rumen bacteria. *Federation proceedings*, 32, 1819-1825. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19731413642>
- Díaz, R. A., Galindo, B. J. L., Bocourt, S. R., Laurencio, S. M., & Pérez, Q. C. M. (2008). *Los microorganismos del rumen y su papel en la fisiología digestiva del rumiante*. Disponible en <http://monografias.umcc.cu/monos/2008/Agronomia/m082.pdf>. Consultado el 9 de junio de 2016
- Doepel, L., Kennelly, J. J. & Lapierre, H. (1996). *Protein and Energy Nutrition of the Transition Cow*. Advances in Dairy Technology - Focus on the Future Proceedings of the 1996 Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, Alberta. Volume 12.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259-2273. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3
- Fernández Mayer, A. (1998). *Fisiología de la producción de carne*. INTA
- FIRA. (2011). *Panorama Agroalimentario Leche y Lácteos*.
- Fonty, G., & Joblin, K. N. (1991). Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*, 655-680.
- Fonty, G., Williams, A. G., Bonnemoy, F., Morvan, B., Dore, J., & Gouet, P. (1992). Interactions between cellulolytic bacteria, anaerobic fungi and methanogens in the rumen of gnotobiotic lambs. *Proc Int Conf Manipulation of Rumen Microorganisms to improve Efficiency of Fermentation and Ruminant Production*. Alexandria, Egypt, 20-23.
- Gamroth, M., & Carroll, D. (1995). *Dry Cow Feeding and Management*. Extension service, Oregon State University, Corvallis. Consultado el 13 de agosto de 2016.

- Goff, J. P., & Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1260-1268. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7
- González, M. S. S. (2002). Nutrición de rumiantes y utilización de forrajes. Disponible en: [http://www.tamaulipas.gob.mx/sedeem/sectores/agrop\\_pesca/cursos\\_ganaderia/documentos%5CNutricionrumiantesForrajesSergio.pdf](http://www.tamaulipas.gob.mx/sedeem/sectores/agrop_pesca/cursos_ganaderia/documentos%5CNutricionrumiantesForrajesSergio.pdf). Consultado el: 13 de agosto de 2016.
- Grant, R. J., & Albright, J. L. (1995). Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2791-2803. DOI: 10.2527/1995.7392791x
- Grenet, E., Breton, A., Barry, P., & Fonty, P. (1989). Rumen anaerobic fungi and plant substrates colonization as affected by diet composition. *Animal Feed Science and Technology*, 26: 55-70. DOI: 10.1016/0377-8401(89)90006-0
- Grummer, R. R., & Hayirli, A. (2000). *Factors Affecting Dry Matter Intake of Prefresh Transition Cows*. 4-State Professional Dairy Management Seminar proceedings.
- Hinders, R. (2000). High dry matter intake translates to greater milk production. *Feedstuffs*, 72,2, 10.
- Huber, R. (1985). *Ingeniería enzimática*. Biotecnología. Scriban R. (ed). Ed. Manual Moderno. México, D.F. pp. 242-254.
- Hutjens, M. (1999). Managing the Transition Cow. University of Illinois Extension. Disponible en: <http://dairynet.outreach.uiuc.edu/fulltext.cfm?section=1&documentID=333>. Consultado el: 13 de agosto de 2016
- Ingvartsen, K. L., & Andersen, J. B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1573-1597. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75029-6
- Joblin, K. N., & Naylor, G. E. (1989). Fermentation of woods by rumen anaerobic fungi. *FEMS microbiology letters*, 65,1-2, 119-122.
- Jouany, J. P., & Ushida, K. (1994). Plant cell-wall degradation by rumen protozoa. *Microorganisms in Ruminant Nutrition*, 69-78.
- Kholif, A. M., & Aziz, H. A. (2014). Influence of feeding cellulytic enzymes on performance, digestibility and ruminal fermentation in goats. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 14,1, 121-136.
- Komaragiri, M. V. S., & Erdman, R. A. (1997). Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. *Journal of Dairy Science*, 80,5, 929-937.

- Lewis, G. E., Hunt, C. W., Sanchez, W. K., Treacher, R., Pritchard, G. T., & Feng, P. (1996). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *Journal of Animal Science*, 74,12, 3020. DOI: 10.2527/1996.74123020x
- Lewis G.E., Sánchez, W. K., Treacher, R., Hunt, C. W., and Pritchard, G. T. (1995). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on lactational performance of mid lactation Holstein cows. *Proceedings-American Society of Animal Science Western Section* 46: 310-313.
- McAllister, T. A., Oosting, S. J., Popp, J. D., Mir, Z., Yanke, L. J., Hristov, A. N., ... & Cheng, K. J. (1999). Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(3), 353-360.
- Mendoza, G. D., Loera-Corral, O., Plata-Pérez, F. X., Hernández-García, P. A., & Ramírez-Mella, M. (2014). Considerations on the use of exogenous fibrolytic enzymes to improve forage utilization. *The Scientific World Journal*, 2014. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/247437/abs/>. Consultado el 2 de junio de 2016
- Mohamed, D. E. D. A., Borhami, B. E., El-Shazly, K. A., & Sallam, S. M. A. (2013). Effect of dietary supplementation with fibrolytic enzymes on the productive performance of early lactating dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, 5(6), 146.
- National Research Council. (2001). *The nutrient requirement of dairy cattle*. (7<sup>th</sup> ed.) Washington, D. C. National Academy Press. 381 p
- Nsereko, V. L., Beauchemin, K. A., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Furtado, A. F., McAllister, T. A., ... & Wang, Y. (2002). Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. *Canadian Journal of Microbiology*, 48,1, 14-20. DOI: 10.1139/w01-131
- Oba, M., Allen, M., (2005). In vitro digestibility of forages. Tri-State Dairy Nutrition Conference Pp. 81-91. Dep. Dairy Sci., The Ohio State Univ., Columbus, Ohio, 43210. Disponible en: <http://www.dairyweb.ca/Resources/3SDNC2005/Oba.pdf>. Consultado el 20 de febrero de 2017
- Orpin, C. G. (1983). The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Animal Feed Science and Technology*, 10:121-143. DOI: 10.1016/0377-8401(84)90003-8
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., & Gill, D. R. (1997). The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 75,3, 868. DOI: 10.2527/1997.753868x
- Palladino, A., Wawrzkiwicz, M., y Bargo, F. (2006). La Fibra. Infortambo, Bs. As., 202:82- 84. Departamento de Producción Animal, Facultad de

- Agronomía. Disponible en:  
 UBA.[http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/manejo\\_del\\_alimento/66-fibra.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/66-fibra.pdf). Consultado el: 2 de junio de 2016
- Pelczar, M. J., R. D. Red, E. C. S. Chan. (1982). *Microbiología*. (2ª ed.). México. D.F. Mc Graw-Hill.
- Petri, R. M., Schwaiger, T., Penner, G. B., Beauchemin, K. A., Forster, R. J., McKinnon, J. J., & McAllister, T. A. (2013). Characterization of the core rumen microbiome in cattle during transition from forage to concentrate as well as during and after an acidotic challenge. *PloS One*, 8,12, e83424. DOI: 10.1371/journal.pone.0083424
- Pinos-Rodriguez, J. M., Gonzalez, S. S., Mendoza, G. D., Barcena, R., Cobos, M. A., Hernandez, A., & Ortega, M. E. (2002). Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. *Journal of Animal Science*, 80,11, 3016-3020. DOI: 10.2527/2002.80113016x
- Rode L. M., Yang, W. Z., & Beauchemin, K. A. (1999). Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* 82(10): 2121-2126.
- Rodríguez-Palenzuela, P., García, J., & de Blas, C. (1998). *Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos*. Curso de Especialización FEDNA, 14, 227-240.
- Rojo, R., Mendoza, G. D., González, S. S., Landois, L., Bárcena, R., & Crosby, M. M. (2005). Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 655-665. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.04.053
- Saleem, F., Ametaj, B. N., Bouatra, S., Mandal, R., Zebeli, Q., Dunn, S. M., & Wishart, D. S. (2012). A metabolomics approach to uncover the effects of grain diets on rumen health in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95,11, DOI: 6606-6623. 10.3168/jds.2012-5403
- Saleem, F., Bouatra, S., Guo, A. C., Psychogios, N., Mandal, R., Dunn, S. M., . . . Wishart, D. S. (2013). The bovine ruminal fluid metabolome. *Metabolomics*, 9,2, 360-378. DOI: 10.1007/s11306-012-0458-9
- González, J. S., & Soto-Murillo, H. (1998). Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos II. Componentes de la pared celular. *Nutrición Animal Tropical*, 4,1, 3-23.
- SIAP-SAGARPA. (2017). Panorama de la leche en México. Disponible en: [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Diciembre2016.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf) Consultado el 20 de enero de 2018.
- Smith, J. W., & Guthrie, L. D. (1989). Managing the Dry Dairy Cow. *Leaflet-Cooperative Extension Service*. Disponible en:

<http://www.ces.uga.edu/pubcd/L325-W.HTML>. Consultado el 2 de junio de 2016

Stalling, C. (1999). Transition Cow Nutrition. Proceedings Virginia Tech. *Feed and Nutritional Management Cow College*.

Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press.

Williams, A. G., & Coleman, G. S. (2012). *The rumen protozoa*. Springer Science & Business Media. 72-128pp.

# CONSUMO, PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACAS EN PERIODO SECO PREPARTO E INICIO DE LA LACTANCIA AL AGREGAR ENZIMAS FIBROLÍTICAS A LA DIETA

## 3.1 Resumen

La alimentación es un aspecto importante para la producción animal, la cual en ganado lechero se basa en el uso de forrajes y granos. La eficiencia de utilización del forraje es limitada, por lo que se han desarrollado diversos procesos para aumentar su valor energético. Por esta razón se planteó la investigación con el objetivo de evaluar el efecto del uso de enzimas fibrolíticas en el consumo de materia seca (CMS) en vacas en periodo seco preparto y, además, la producción (PDL) y composición de leche de vacas en inicio de la lactancia. Dicha investigación se realizó en el establo lechero "18 de Julio" localizado en Bermejillo, Dgo. Se utilizaron 29 vacas adultas de la raza Holstein, en periodo seco preparto, el cual sirvió como adaptación a las enzimas fibrolíticas (EF) (Fibrozyme, Alltech, INC, Nicholasville, KY, USA) y la etapa de recolección de datos fue durante el preparto y los primeros 45 días posparto. Los tratamientos fueron T1=dieta basal y T2=dieta basal +25 gramos vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> de EF. Se utilizó un diseño de medidas repetidas con dos tratamientos y una covariable; los análisis se realizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS. Los resultados muestran que no hubo efecto ( $P>0.05$ ) de la adición de EF en comparación con el tratamiento control sobre CMS seco preparto ( $14.47 \pm 0.71$  vs  $13.40 \pm 0.97$ ), CMS inicio de la lactancia ( $20.38 \pm 0.74$  vs  $19.78 \pm 0.85$  kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), PDL ( $42.31 \pm 1.36$  vs  $41.16 \pm 1.55$  kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), producción de leche corregida al 4% de grasa ( $39.46 \pm 1.43$  vs  $41.17 \pm 1.63$  kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), contenidos de sólidos totales ( $12.53 \pm 0.20$  vs  $12.82 \pm 0.22$  %), grasa ( $3.73 \pm 0.19$  vs  $4.06 \pm 0.21$ %), proteína ( $3.10 \pm 0.05$  vs  $3.16 \pm 0.06$ %) ni lactosa ( $4.91 \pm 0.03$  vs  $4.90 \pm 0.04$  %). Por tanto, el consumo de materia seca, la producción y composición de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de lactancia son independientes de agregar o no enzimas fibrolíticas a la dieta ofrecida.

**Palabras clave:** *Bos taurus*, enzimas, fibra, leche, grasa

---

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

Autor: Pedro Joseph Hernández Martínez

Director de Tesis: M.C. Carlos Sánchez del Real

# INTAKE, MILK YIELD AND QUALITY OF DAIRY COWS IN THE DRY PERIOD NEAR TO CALVING AND EARLY LACTATION WITH DIET ADDED FIBROLYTIC ENZYMES

## 3.2 Abstract

The feeding is an important aspect in the animal production, which in dairy cattle is based on the use of forages and grains. The efficiency of forage utilization is limited; therefore, various processes have been developed to increase its energy value. For this reason, the research was proposed with the objective of evaluating the effect of addition of fibrolytic enzymes in the diet on dry matter intake (DMI) of cows in dry period close to calving and, in addition, the production (PDL) and milk composition of cows in early lactation. This research was carried out in the milk dairy "18 de Julio" located in Bermejillo, Dgo. 29 Holstein cows in dry period close to calving were used, which served as an adaptation to the fibrolytic enzymes (EF) (Fibrozyme, Alltech, INC, Nicholasville, KY, USA) and the stage data collection was during prepartum and the first 45 postpartum days. Treatments were T1=basal diet, and T2=basal diet + 25 g cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> of EF. A repeated measures design with two treatments and a covariate was used; the analyzes were performed using the SAS MIXED procedure. The results show that there was non-significant effect ( $P>0.05$ ) of EF addition on diets for dry period close to calving cows on DMI close to calving ( $5.82 \pm 0.71$  vs  $1.40 \pm 0.97$ ), DMI in early lactation ( $20.38 \pm 0.74$  vs  $19.78 \pm 0.85$  kg cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), PDL ( $42.31 \pm 1.36$  vs  $41.16 \pm 1.55$  kg cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), milk production corrected to 4% fat ( $39.46 \pm 1.43$  vs  $41.17 \pm 1.63$  kg cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), and total solids ( $12.53 \pm 0.20$  vs  $8.64 \pm 0.22$  %), fat ( $3.73 \pm 0.19$  vs  $4.06 \pm 0.21$ %), protein ( $3.10 \pm 0.05$  vs  $3.16 \pm 0.06$ %) and lactose contents ( $4.91 \pm 0.03$  vs  $4.90 \pm 0.04$  %). Therefore, the dry matter intake, the milk production and composition of cows in the dry period near to calving and early lactation are independent of adding or not adding fibrolytic enzymes to the diet offered.

**Keywords:** *Bos taurus*, enzymes, fiber, milk, fat



### **3.3 Introducción**

La alimentación es un aspecto importante para la producción animal. El forraje es un componente importante en la dieta para rumiantes; sin embargo, la eficiencia de utilización por el rumiante es baja debido a que la digestibilidad aparente de su fibra es inferior al 65% (Van Soest, 1994). Se han desarrollado procesos para aumentar la digestibilidad y valor energético de los forrajes (Owens et al., 1997), con el objetivo de maximizar la producción de leche y reducir la incidencia de problemas metabólicos, sin afectar grasa ni proteína en leche.

El periodo seco preparto e inicio de lactancia son de vital importancia, ya que en estos periodos se define el futuro productivo, siendo aquellas vacas con mayor consumo de materia seca las que alcancen más pronto su pico máximo de producción de leche y, por tanto, una mayor producción en toda la lactancia (Colunga y Pérez, 2016).

Las enzimas fibrolíticas exógenas y las endógenas del rumen pueden tener un efecto sinérgico para la colonización y digestibilidad microbiana en las partículas fibrosas del alimento, lo que ocasiona el aumento en el consumo de materia seca y de la producción; además, las enzimas representan una alternativa para reducir costos por alimentación (Nsereko et al., 2002).

La adición de enzimas fibrolíticas exógenas (xilanasas y celulasas) puede inducir incrementos de 20% en la digestibilidad de la fibra (Rode et al., 1999), 11% en el consumo de materia seca y 15% en la producción de leche (Lewis et al., 1995). Sin embargo, no se conoce el efecto de estos aditivos enzimáticos durante la etapa de transición, por lo que el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del uso de enzimas fibrolíticas en el consumo de materia seca en vacas en periodo seco preparto y, además, la producción y composición de leche de vacas en inicio de la lactancia.

### **3.4 Materiales y métodos**

#### **3.4.1 Localización y duración del experimento**

La investigación se realizó en el establo lechero “18 de Julio” perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Bermejillo, Dgo., en las coordenadas 25°54'06" N, 103°35'06" W precipitación pluvial de 239 mm anuales (García, 1988). El estudio se inició en enero de 2017 y se finalizó en abril del mismo año, con una duración de 94 días.

#### **3.4.2 Tratamientos y diseño experimental**

La investigación consistió en la evaluación de dos tratamientos que fueron la diaria adición (25 g de enzimas exógenas fibrolíticas) o no (0 g de enzimas exógenas fibrolíticas) a una misma dieta ofrecida a vacas Holsteín que se encontraban en el período seco preparto e inicio de lactancia.

Las enzimas exógenas fibrolíticas son las producidas por Fibrozyme, Alltech, INC, Nicholasville, KY, USA.

El diseño experimental fue de medidas repetidas con 14 y 15 repeticiones para los tratamientos con y sin enzimas exógenas fibrolíticas agregadas a la dieta. La unidad experimental fue una vaca Holstein.

#### **3.4.3 Animales y su manejo**

El número de vacas Holstein usadas en la investigación fue de 29, la selección de las vacas fue que cumplieran con estar del segundo al cuarto partos, encontrarse a 20 días antes de la fecha probable de parto y no haber tenido un antecedente de padecer.

Desde el inicio y durante toda la fase experimental las vacas fueron siempre alojadas en el mismo corral, lugar en el que permanecieron excepto por los momentos en que fueron pesadas o se movían a la sala de ordeño.

La ordeña se realizó en una sala de ordeño tipo paralelo de 18 plazas, los horarios fueron a las 8:00 y 20:00 h. A la llegada de las vacas a la sala de ordeño se lavó y se secó la ubre, se hizo un presello (Virkon) y posteriormente se realizó un despunte para detectar la presencia de grumos en leche. Después se colocaron las pezoneras y estas se dejaban accionar hasta que se terminó de ordeñar la vaca, por último, se sellaron los pezones con una solución de yodo al 5% v/v.

Cada vaca fue pesada antes de ofrecer la ración de comida de la tarde (14:00 h), el día uno del experimento, el día del parto y a los 45 días postparto, en una báscula (REVUELTA) de 1500 kg de capacidad y un kg de sensibilidad. Después de cada pesada las vacas fueron ubicadas nuevamente en el corral.

#### 3.4.4 Rutina de alimentación

La alimentación de las vacas consistió de dos dietas distintas, una dieta para la fase de periodo seco preparto y la otra para el inicio de lactancia. La primera se proporcionó desde los 20 días antes de la fecha probable de parto y hasta el día de parto; del día siguiente al parto y hasta los primeros 45 días luego del parto se ofreció la otra dieta. La conformación de cada dieta se muestra en los Cuadros 1 y 3 y su análisis nutricional se describen en los Cuadros 2 y 4.

Formulación para lograr en la vaca una producción de 45 kg de leche día<sup>-1</sup> con 3.5% de grasa (NRC, 2001).

Cuadro 1. Dieta experimental de vacas en periodo seco preparto

INGREDIENTE	CONTENIDO EN BASE SECA (%)
Heno de alfalfa	22.24
Ensilado de maíz	41.20
Grano de maíz Rolado	18.33
Pasta de soya	5.94
Salvado de trigo	7.33
Minerales Reto*	2.48

Vitaminas Reto**	1.66
Carbonato de calcio	0.83

\*Cl, 17.27%; Ca, 3.66%; Mg, 5.62%; S, 6.11%; Fe, 502 ppm; Zn, 682 ppm; Cu, 726 ppm; I, 18 ppm; Se, 15 ppm; Mn, 557 ppm; Co, 20 ppm.

\*\* Vitamina A, 8.1 KUI; Vitamina D, 300 UI; Vitamina E, 35.2 KUI.

Cuadro 2. Composición nutritiva estimada de la dieta experimental de vacas en periodo seco preparto (NRC, 2001).

<b>NUTRIMENTO</b>	<b>CONTENIDO</b>
Materia seca, %	57.052
Energía Neta de Lactancia, Mcal/ kg BS	1.570
Proteína cruda, %	13.376
Proteína no degradable, %	4.341
Proteína degradable, %	9.035
Extracto etéreo, %	3.347
Fibra cruda, %	19.317
Fibra detergente ácido, %	21.535
Fibra detergente neutro, %	36.806
Cenizas, %	5.288
Calcio, %	0.848
Cloro, %	0.476
Magnesio, %	0.350
Fosforo, %	0.352
Potasio, %	0.224
Sodio, %	0.060
Azufre, %	0.334
Cobalto, ppm	0.534
Cobre, ppm	26.423
Yodo, ppm	0.463
Hierro, ppm	207.915
Manganeso, ppm	49.253
Selenio, ppm	0.469
Zinc, ppm	44.784

Cuadro 3. Dieta experimental de vacas en inicio de la lactancia.

<b>INGREDIENTE</b>	<b>CONTENIDO EN BASE SECA (%)</b>
Alfalfa verde	43.78
Maíz ensilado	21.59
Grano de maíz rolado	16.23
Pasta de soya	4.54
Soy Plus*	3.14
Semilla de algodón	3.06
Salvado de trigo	2.17
Melaza de caña	2.55
Barredura de nuez	1.32
Oxido de magnesio	0.08
Bicarbonato de sodio	0.61
Carbonato de calcio	0.45
Lactomil*	0.24
Minerales**	0.08
Vitaminas***	0.08
Ganadero Plus*	0.04
Bovi8Ways*	0.03
Maxifolipol	0.01

\*Lactomil, grasa de sobrepaso; Bovi8Ways, levadura ( $3.0 \times 10^9$  UFC/g); Ganadero Plus, levadura ( $1 \times 10^{10}$  UFC/g); Maxifol, 4% Flavofosfolipol).

\*\* Na, 0.006%; Mg, 46.05%; S, 0.38%; Fe, 0.21ppm; Zn, 15134ppm; Cu, 6050ppm; I, 505ppm; Se, 150ppm; Mn, 4974ppm; Co, 56ppm.

\*\*\* Vitamina A, 8.1 KUI; Vitamina D, 300 UI; Vitamina E, 35.2 KUI.

Cuadro 4. Composición nutritiva estimada de la dieta experimental de vacas en inicio de la lactancia.

<b>NUTRIMENTO</b>	<b>CONTENIDO</b>
Materia seca, %	62.594
Energía Neta de Lactancia, Mcal/ kg BS	1.602
Proteína cruda, %	17.615
Proteína no degradable, %	5.968
Proteína degradable, %	11.647
Extracto etéreo, %	4.790
Fibra cruda, %	18.417
Fibra detergente ácido, %	21.208
Fibra detergente neutro, %	33.764
Cenizas, %	6.726
Calcio, %	0.989
Cloro, %	0.241

Magnesio, %	0.310
Fosforo, %	0.348
Potasio, %	1.548
Sodio, %	0.282
Azufre, %	0.231
Cobalto, ppm	0.456
Cobre, ppm	20.045
Yodo, ppm	0.703
Hierro, ppm	201.108
Manganeso, ppm	46.178
Selenio, ppm	0.538
Zinc, ppm	44.748

---

Las vacas fueron aseguradas en las trampas del comedero antes de ofrecer el alimento correspondiente a su etapa fisiológica y a su tratamiento. El alimento se ofreció a libre acceso en tres raciones iguales a las 6:00, 14:00 y 22:00 h. Las vacas fueron liberadas cuando todas terminaran de comer. Después se pesó el rechazo en una báscula digital (PORTABLE ELECTRONIC SCALE; modelo) de 40 kg de capacidad y 5 g de sensibilidad. Entre cada trampa se colocó un separador metálico de 50 x 50 cm, cubierto con malla de plástico para evitar que la comida de diferentes vacas se mezclará.

La enzima se adicionó en la ración de alimento de la tarde (14:00 h), para lo cual primero se mezcló 25 g de producto enzimático con 500 g de dieta y se ofreció a las vacas. Al terminar de consumirla se ofreció el resto de alimento.

Diariamente, al terminar el ofrecimiento de las 14:00 h, se recolectó una muestra de la dieta antes de ofrecerla, la cual fue secada en un horno de microondas para obtener el contenido de humedad y calcular el consumo de materia seca de ese mismo día.

### **3.4.5 Variables de respuesta**

Consumo: El consumo de materia seca se registró en los tres horarios de ofrecimiento de alimento de un mismo día, éstos se sumaron para tener el

consumo vaca día. Los registros de cada vaca se agruparon y se promediaron todos los de la misma semana, para ser reportados como consumo de materia seca vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Para calcular el contenido de materia seca se tomó una muestra de 100 g de la dieta antes de ser ofrecida, se metió al horno de microondas por 2 min y después se colocaba un vaso de agua dentro del microondas, al lado de la muestra, a partir de este momento se accionó el horno por un minuto y se pesó la muestra, enseguida se accionó por otro minuto y se volvió a pesar la muestra, así sucesivamente hasta que los pesos de la muestra fueran constantes en 2 mediciones seguidas. Este procedimiento se realizó diariamente.

Producción de leche: La producción de leche se registró dos días de la semana (miércoles y sábado), se promediaron y se reportó como media de la producción de leche por vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. La producción de leche se midió con pesadores con capacidad de 35 kg.

Producción de leche corregida al 4% de grasa: Esta variable se calculó sustituyendo la producción de leche y su contenido de grasa, en el siguiente factor:

$$PDLCORR = (0.4 * PDL) + [15 * (PDL * (CONTENIDO DE GRASA / 100))]$$

Contenido de sólidos totales, grasa, proteína y lactosa en leche: Semanalmente a cada vaca en estudio se le tomó una muestra de leche de 50 ml en viales de plástico estériles, directamente del pesador y en el ordeño de las 20:00 h; dicha muestra se identificó y fue refrigerada a 4°C para ser enviada al laboratorio al siguiente día.

El conjunto de las dos últimas variables solamente se pudo medir en vacas en inicio de lactancia

### 3.4.6 Análisis estadístico

Se realizó un primer análisis en el que se estableció una regresión lineal simple con el peso vivo de las vacas al momento del parto y el consumo de alimento en esa semana. Con esa regresión se compararon ambos tratamientos, en forma general, para establecer si hubo diferencia significativa entre los efectos de tratamientos en cada una de las variables. En este caso se consideró una variable ficticia, digamos  $X$ , que tomó el valor 1 si la observación correspondió al tratamiento T1, y valió 0 en caso contrario.

El modelo considerado es

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$$

Donde:

$Y$  es la variable respuesta observada y corresponde a una cualquiera de las variables: CMS, PDL y composición de la leche

$\beta_j$  es un coeficiente de regresión,  $j = 0,1$

$X = 1$ , si la observación corresponde al tratamiento T1

$X = 0$ , si la observación corresponde al tratamiento T2

$\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$  es el término de error

Usando las estimaciones de  $\beta_j$  se probó si estadísticamente hubo diferencias entre los promedios  $\bar{Y}_j$  asociados al tratamiento respectivo.

Adicionalmente, y con el propósito de comparar los promedios semanales de cada tratamiento se realizó un análisis de regresión lineal simple en el cual la variable dependiente correspondió a la variable respuesta en cuestión mientras que el regresor fue el tiempo en semanas.



Usando el modelo de regresión estimado se compararon los promedios de la variable respuesta de interés, entre las condiciones que corresponden a cada tratamiento y en cada semana.

Primero se probó que hubiese efecto de regresión, para cada tratamiento, los cuales sí fueron significativos ( $P < 0.05$ ). A continuación, mediante una prueba de paralelismo de modelos de regresión, se decidió si los promedios de los tratamientos fueron estadísticamente iguales o no en cada una de las semanas.

Para el diseño de medidas repetidas el modelo que se considera es

$$Y_{ijt} = \mu + \tau_i + \varphi_{j(i)} + (\tau\gamma)_{it} + \gamma_t + (\beta + \phi_j)X_{ij} + \varepsilon_{ijt}$$

Donde:

$Y_{ijt}$  = valor de la variable de respuesta ( CMS, PDL y composición de la leche) correspondiente al tratamiento  $i$  en el animal  $j$  durante el periodo  $t$

$\tau_i$  = efecto del tratamiento  $i$

$\varphi_{j(i)}$  = efecto del animal  $j$  en el tratamiento  $i$

Suponemos  $\varphi_{j(i)} \sim N(0, \sigma^2)$

$\gamma_t$  = efecto del periodo  $t$

$(\tau\gamma)_{it}$  = efecto de la interacción del tratamiento  $i$  con el periodo  $t$

$\beta$  = coeficiente de regresión asociado al peso inicial del animal  $j$  bajo el tratamiento  $i$ ,  $X_{ij}$

$\phi_j$  = efecto de desviación del tratamiento  $i$  (pendiente correspondiente) con respecto a la pendiente de regresión común  $\beta$

$X_{ij}$  = peso inicial del animal  $j$  bajo el tratamiento  $i$

$$\epsilon_{ijt} \sim N(0, \sigma^2)$$

$$i = 1, 2$$

$$j = 1, \dots, 15$$

$$t = 1, 2$$

El modelo utilizado para el segundo análisis fue:

$$Y_{ij} = \beta_{0j} + \beta_{1j} + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = valor de la variable de respuesta en la semana  $i$  para el tratamiento  $j$

$\beta_{0j}$  = valor del intercepto de la regresión lineal simple en el tratamiento  $j$

$\beta_{1j}$  = valor de la pendiente de la regresión lineal simple en el tratamiento  $j$

$\epsilon_{ij}$  = error experimental asociado a la respuesta  $i$  en el tratamiento  $j$

Los análisis se realizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (SAS 2002).

### 3.5 Resultados

En el Cuadro 6 se presentan el consumo de materia seca de vacas en etapa de seco preparto e inicio de la lactancia, la producción de leche y leche corregida al 4% de grasa, y su contenido de sólidos totales grasa, proteína y lactosa.

Cuadro 5. Consumo de materia seca, producción y composición de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia, alimentadas con una dieta adicionada con 0 y 25 gramos de enzimas fibrolíticas.

VARIABLE	Enzima (g d <sup>-1</sup> vaca <sup>-1</sup> )		P
	0	25	
CMS seco preparto (kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	14.47 ±0.71*	13.40 ±0.97	0.5783
CMS inicio de la lactancia (kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	20.38 ± 0.74	19.78 ± 0.85	0.5997
PDL (kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	42.31 ± 1.36	41.16 ± 1.55	0.5849
PDLCORR (kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup> )	39.46 ± 1.43	41.17 ± 1.63	0.4402
SÓLIDOS TOTALES (%)	12.53 ± 0.20	12.82 ± 0.22	0.3383
GRASA (%)	3.73 ± 0.19	4.06 ± 0.21	0.2460
PROTEINA (%)	3.10 ± 0.05	3.16 ± 0.06	0.4910
CONTENIDO DE LACTOSA (%)	4.91 ± 0.03	4.90 ± 0.04	0.8452

CMS= consumo de materia seca, PDL= producción de leche, PDLCORR= producción de leche corregida al 4% de grasa

\*media aritmética ± error estándar

La adición de enzimas fibrolíticas a la dieta ofrecida no modificó ( $P>0.05$ ) el consumo de materia seca, ni la producción y composición de la leche (Cuadro 6).

En la Figura 9 se reporta el consumo de materia seca desde la semana 3 antes del parto hasta la semana 7 posparto. En las Figuras 10 a 15 se reportan las producciones de leche sin y con el ajuste al 4% de grasa y los contenidos de sólidos totales, grasa, proteína y lactosa.

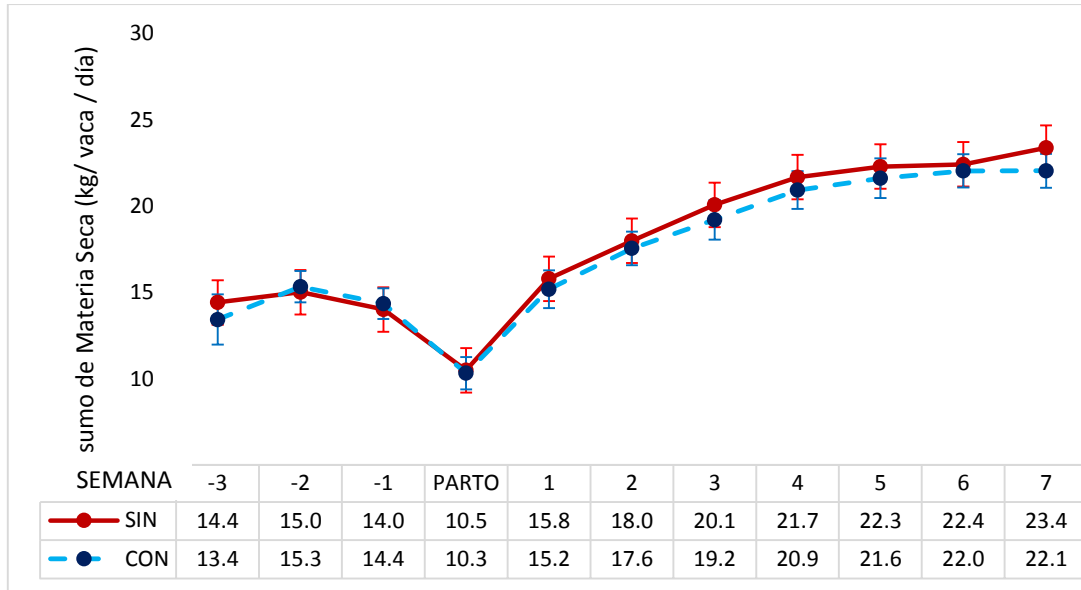


Figura 9. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

El consumo de materia seca durante semanas previas y después del parto, no mostro diferencias asociadas a la adición de enzimas fibrolíticas. Durante las semanas previas al parto el CMS fue disminuyendo, siendo menor de hasta 31% en el día del parto, con respecto a la semana -2. Después de la gestación el consumo de materia seca incrementó hasta 46.7% en la semana 7 en comparación a la semana 1.

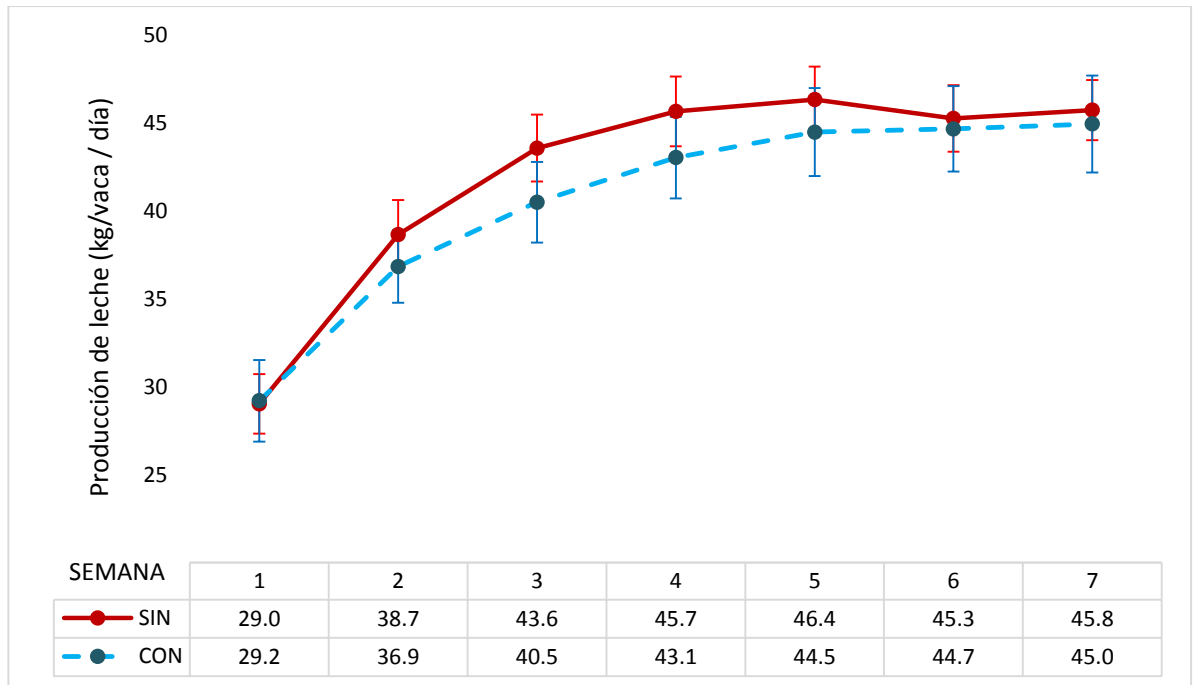


Figura 10. Producción de leche de vacas en el inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

La producción de leche no mostró diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. Sin embargo, la curva de la producción diaria de leche por vaca mostró similar patrón entre las vacas con y sin enzimas fibrolíticas agregadas a la dieta, entre la segunda y quinta semanas luego del parto, las vacas con enzimas fibrolíticas tendieron a mostrar una menor producción diaria, en cambio, de la sexta a la séptima semanas ambos grupos de vacas se igualan en la producción diaria de leche.

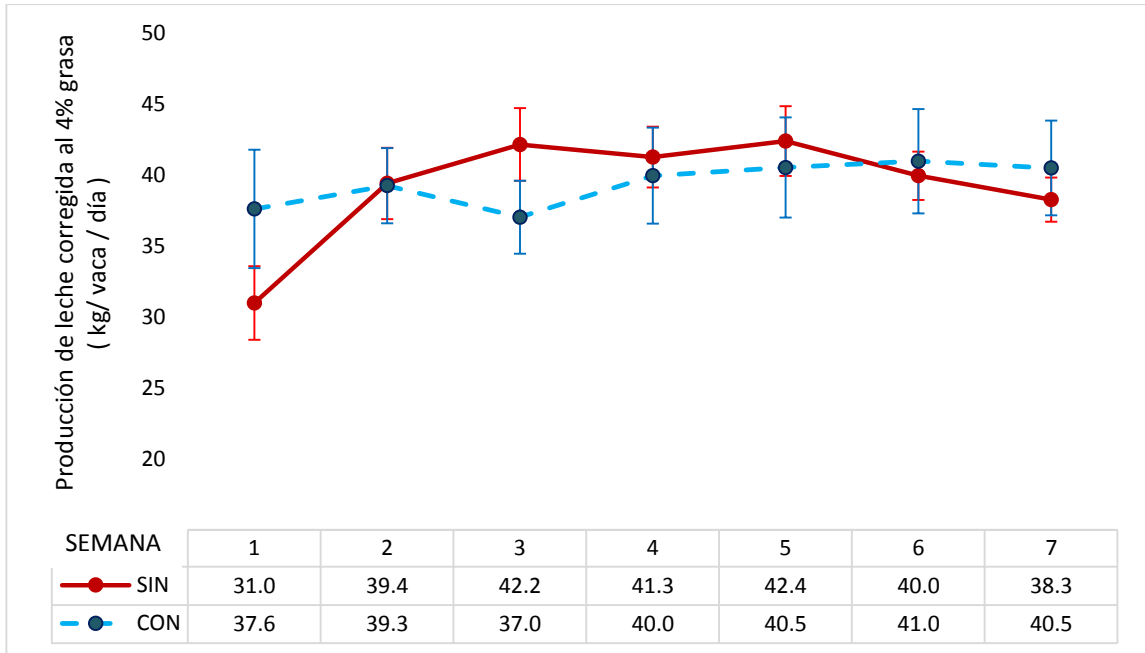


Figura 11. Producción de leche corregida al 4% de grasa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

La producción de leche corregida al 4% de grasa no fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos, la mayor variación en la media de producción, se dio en la semana 1 y 3 (6.6 y 5.2 kg d<sup>-1</sup>). El registro de la semana 7 fue 15% superior al de la semana 1.

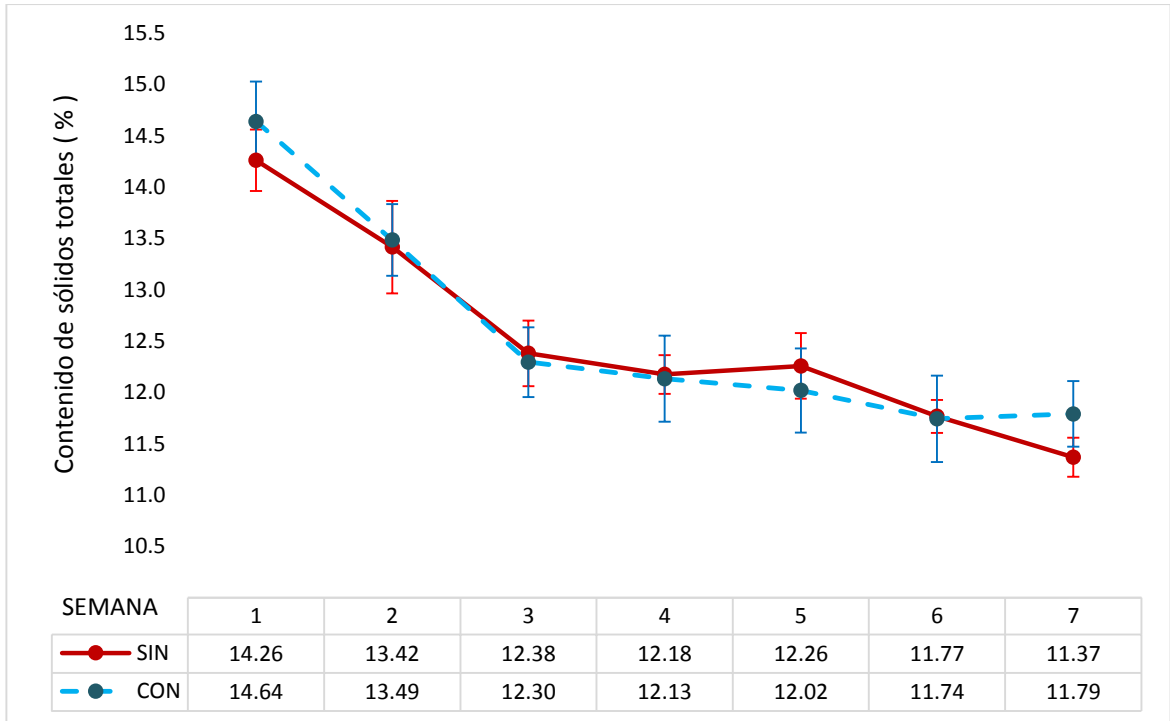


Figura 12. Contenido de sólidos totales en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

El contenido de sólidos totales en leche no tuvo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) asociadas a la adición de enzimas fibrolíticas. Se observa que conforme transcurren las semanas después del parto, el contenido de sólidos en leche va disminuyendo, existiendo una diferencia de 2.8 puntos porcentuales entre las semanas 1 y 7.

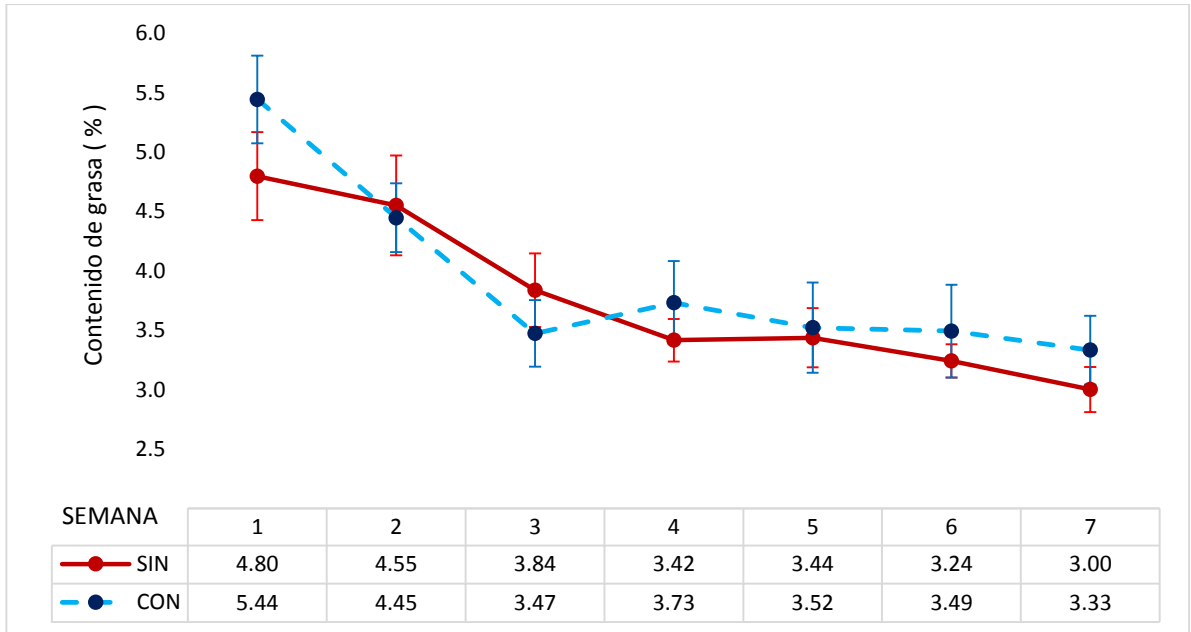


Figura 13. Contenido de grasa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

En la Figura 13 se muestra que la adición de enzimas fibrolíticas no influyó significativamente en el contenido de grasa en leche durante las primeras 7 semanas de la lactancia de vacas.

El contenido de grasa en leche en las primeras semanas de la lactancia, en ambos tratamientos, tiene una relación negativa con el tiempo, existiendo diferencia de 1.8 puntos porcentuales entre la semana 1 y 7.



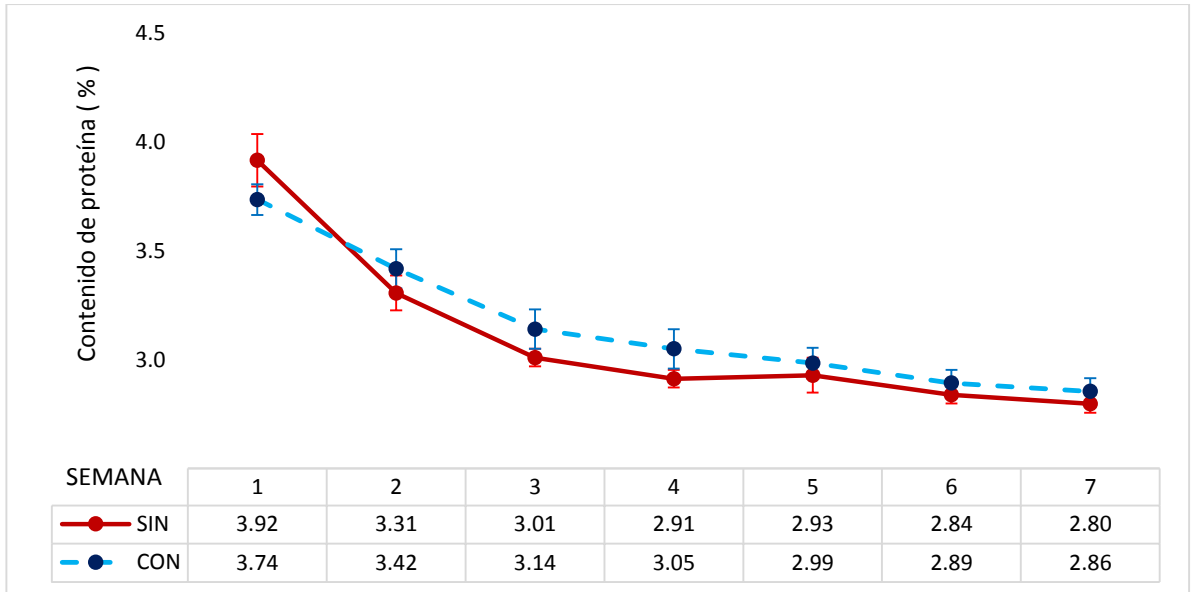


Figura 14. Contenido de proteína en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

El contenido de proteína en leche de vaca no es influido por la adición de enzimas fibrolíticas en la dieta ( $P > 0.05$ ). La presencia de proteína en leche va disminuyendo durante la lactancia, siendo 26% menor en la semana 7 comparada con la 1.

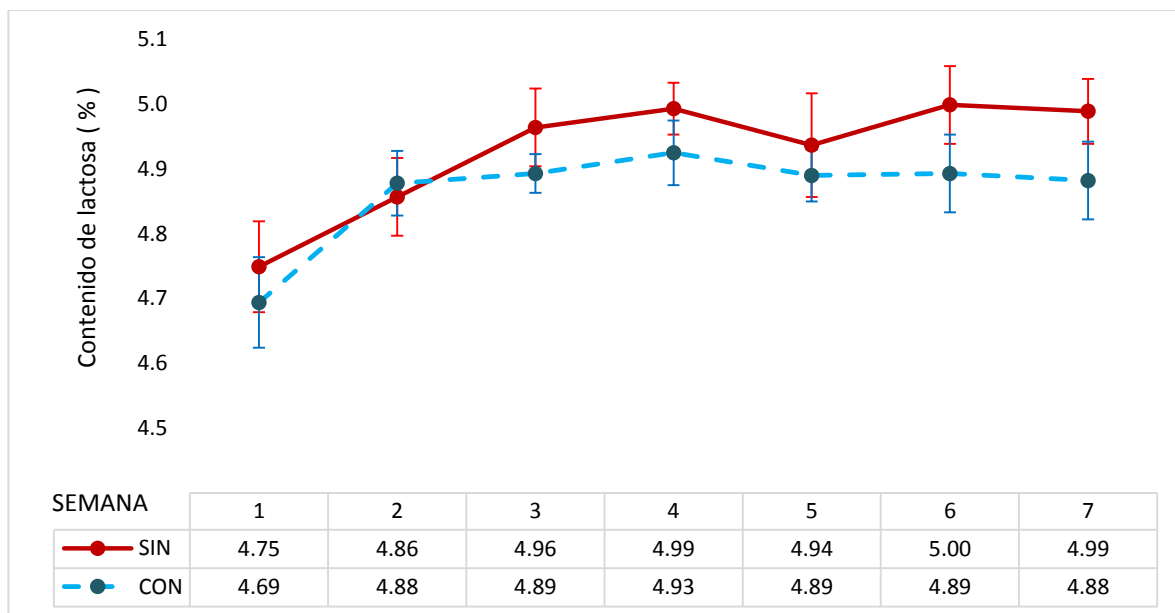


Figura 15. Contenido de lactosa en leche de vacas al inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas fibrolíticas.

No hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el contenido de lactosa, asociadas a la adición de enzimas fibrolíticas. Sin embargo, se observa que dicho contenido va aumentando al avanzar las semanas de la lactancia. La leche que se produce en la semana 7 contiene 4.5% más lactosa comparada con la de la semana 1.

### 3.6 Discusión

El resultado encontrado sobre el CMS coincide con lo reportado por Ahn et al., (2003); Bernard et al., (2010); Arriola, Kim, Staples y Adesogan (2011) y Mohamed et al., (2013) quienes no reportaron diferencias significativas en el consumo de materia seca de vacas Holstein en lactancia temprana al recibir, una dieta con y sin enzimas exógenas.

En cambio, otros autores han reportado un aumento en el CMS de vacas lecheras cuando las enzimas fibrolíticas fueron aplicadas al forraje antes de mezclarse con otros ingredientes (Lewis et al., 1999) o al aplicarse al concentrado de la dieta

(Bowman et al., 2002). Los efectos de las enzimas fibrolíticas sobre el CMS parecen variar entre los productos de enzimas y el método de aplicación (Bowman et al., 2002).

Holtshausen, Chung, Gerardo-Cuervo, Oba y Beauchemin (2011) no encontraron diferencias significativas en la producción de leche, en la producción de leche corregida al 3.5% de grasa ni en la composición de la leche de vacas en lactancia temprana al recibir dieta con y sin enzimas fibrolíticas, lo cual coincide con lo reportado en este estudio.

La falta de respuesta a la adición de enzimas exógenas fibrolíticas se puede deber a la dosis que se maneja ya que como lo indica Beauchemin, Colombatto, Morgavi y Yang (2003), cuando se aplican dosis altas de enzimas, la alteración de la estructura de la superficie de los alimentos puede disminuir debido a que el exceso de enzimas exógenas unidas al alimento puede restringir el ataque microbiano y limitar la digestión. En este caso la dosis que se manejó (25 g vaca día) fue calculada para un consumo de 22 kg MS vaca día, este nivel de consumo se registró a partir de la sexta semana luego del parto, previo a ello el consumo fue menor, por lo que la concentración de enzimas fue mayor a la cantidad fija de 25 g de enzimas/vaca/día

Nsereko, Morgavi, Rode, Beauchemin y McAllister (2000) mencionan que los cambios estructurales al sustrato son un componente integral del modo de acción de las enzimas para alimentación animal en mejorar la digestión, por lo que es importante agregarlas tiempo antes de la ingestión. Otra razón importante para la aplicación de las enzimas antes de la ingestión es mejorar el enlace de la enzima al alimento, aumentando así la resistencia de las enzimas a la proteólisis en el rumen. Las enzimas aplicadas antes de la ingestión son estables ya que la presencia de sustrato les permite aumentar la resistencia a su inactivación (Fontes et al., 1995).

En este estudio las enzimas fueron agregadas al momento de la ingestión por lo que no tuvieron el tiempo necesario para generar cambios importantes en la

estructura del forraje y así mejorar la digestión, además, al no estar bien unidas con el alimento, éstas fueron más susceptibles a la proteólisis en el rumen, de tal manera que, al inactivarse su función, los parámetros productivos no fueron mejorados.

### **3.7 Conclusión**

El consumo de alimento, la producción y composición de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de lactancia son independientes de agregar o no enzimas fibrolíticas a la dieta ofrecida.

### 3.8 Literatura Citada

- Ahn, J., Joo, C., Seo, I., Kim, D., Hong, H. N., Kim, Y. K., & Lee, H. (2003). Characteristics of apoptotic cell death induced by coxsackievirus B in permissive vero cells. *Intervirology*, 46(4), 245-251. DOI: 10.1159/000072435
- Arriola, K. G., Kim, S. C., Staples, C. R., & Adesogan, A. T. (2011). Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 94,2, 832-841. DOI: 10.3168/jds.2010-3424
- Beauchemin, K. A., Colombatto, D., Morgavi, D. P., & Yang, W. Z. (2003). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, 81(Number 14 Electronic Supplement 2), E37.
- Bernard, J. K., Castro, J. J., Mullis, N. A., Adesogan, A. T., West, J. W., & Morantes, G. (2010). Effect of feeding alfalfa hay or tifton 85 bermudagrass haylage with or without a cellulase enzyme on performance of holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93,11, 5280-5285. DOI: 10.3168/jds.2010-3111
- Bowman, G.R., Beauchemin, K.A., & Shelford, J.A., (2002). The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 85, 3420–3429.
- Fontes, C. M., Hall, J., Hirst, B. H., Hazlewood, G. P., & Gilbert, H. J. (1995). The resistance of cellulases and xylanases to proteolytic inactivation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43,1, 52-57. DOI: 10.1007/BF00170622
- García, E. (1988). Modificaciones del Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México (4ª ed.)
- Holtshausen, L., Chung, Y., Gerardo-Cuervo, H., Oba, M., & Beauchemin, K. A. (2011). Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive. *Journal of Dairy Science*, 94, 2, 899-907. DOI: 10.3168/jds.2010-3573
- Lewis G.E., Sánchez, W. K., Treacher, R., Hunt, C. W., & Pritchard, G. T. (1995). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on lactational performance of midlactation Holstein cows. *Proceedings-American Society of Animal Science Western Section*, 46, 310-313.
- Lewis, G. E., Sanchez, W. K., Hunt, C. W., Guy, M. A., Pritchard, G. T., Swanson, B. I., & Treacher, R. J. (1999). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82,3, 611-617. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75274-4
- Mohamed, D. E. D. A., Borhami, B. E., El-Shazly, K. A., & Sallam, S. M. A. (2013). Effect of dietary supplementation with fibrolytic enzymes on the productive

- performance of early lactating dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, 5,6, 146-155.
- NRC. (2001). Page 16 in *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. (7<sup>th</sup> ed.) Washington, DC. Natl. Acad. Press,
- Nsereko, V. L., Beauchemin, K. A., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Furtado, A. F., McAllister, T. A., ... & Wang, Y. (2002). Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. *Canadian Journal of Microbiology*, 48,1, 14-20. DOI: 10.1139/w01-131
- Nsereko, V. L., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Beauchemin, K. A., & McAllister, T. A. (2000). Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 88,3, 153-170. DOI: 10.1016/S0377-8401(00)00225-X
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., & Gill, D. R. (1997). The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 75,3, 868. DOI: 10.2527/1997.753868x
- Rode, L. M., Yang, W. Z., & Beauchemin, K. A. (1999). Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 82(10), 2121-2126
- SAS. (2002). *Statistical Analysis Systems user's guide versión 9.0.0.380*. SAS Institute Inc., Raleigh, North Carolina, USA.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press.