



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

VALORACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS EXÓGENAS  
EN LA NUTRICIÓN DE OVINOS EN ENGORDA.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Presenta

Edgar Josué De Gante Triqui

Directores de Tesis

M. en C. Elsa Lysbet Rodríguez Castañeda

Dr. José Manuel Robles Robles

Asesores.

Dr. José del Carmen Rodríguez Castillo

M. en C. Mari Carmen Larios García

El Salado, Tecamachalco, Puebla, 2023



ASUNTO: VOTOS PROBATORIOS

M EN C. DAVID NÁJERA CASTAÑÓN  
SECRETARIO ACADÉMICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
PRESENTE

Por medio del presente, nos permitimos informar a usted que revisamos la Tesis titulada: **"VALORACIÓN DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS EXÓGENAS EN LA NUTRICIÓN DE OVINOS EN ENGORDA"**. presentada por el PMVZ. **EDGAR JOSUÉ DE GANTE TRIQUI**, con matrícula **201300867**. Bajo la dirección de la M. en C. Elsa Lysbet Rodríguez Castañeda, y el Dr. José Manuel Robles Robles y asesorado por el Dr. José del Carmen Rodríguez Castillo y el M. en C. Mari Carmen Larios García.

Considerando que la Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario Zootecnista, cumple con los requisitos necesarios para ser discutida en el examen Profesional correspondiente **OTORGAMOS NUESTRO VOTO APROBATORIO**.

#### SINODALES

**PRESIDENTE:** DR. JORGE EZEQUIEL HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ.  
**SECRETARIO:** M. EN C. MARI CARMEN LARIOS GARCÍA.  
**VOCAL:** M. EN C. ELSA LYSBET RODRÍGUEZ CASTAÑEDA.

ATENTAMENTE

"Pensar bien para vivir mejor"  
El Salado, Tlaxiaco, Puebla, 30 de septiembre de 2022.

Dr. Jorge Ezequiel Hernández Hernández  
Coordinador de la Instalación de La Fmvz-Buap

Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia

Carretera Cañada Morelos  
Km 7.5 El Salado,  
Tecamachalco, Pue.  
Tel. 222 229 55 00 Ext. 2593

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero agradecer Dios por permitirme terminar una meta más, dándome sabiduría, fortaleza y amor, y así ser una mejor persona cada día de mi vida.

A mis padres: Raymunda Herlinda Triqui Nolasco y José De Gante García, por brindarme su apoyo para poder culminar ésta meta, por su ayuda y comprensión durante ésta etapa de mi vida.

A mi pareja Margarita Bello Cantú, por su compañía, aprecio, comprensión, y darme un motivo más para seguir luchando más en esta vida.

**GRACIAS**

## **DEDICATORIAS**

Con todo amor para mi hijo Máximo De Gante Bello, éste trabajo es por ti, por haberme dado mucha felicidad al momento de tu llegada, dándome fe, fuerza y voluntad.

A mis amados padres por su apoyo, creer en mi capacidad de lograr mis metas y ser mi fortaleza para no rendirme ante las adversidades.

A mis profesores de la universidad que brindaron conocimiento para poder ejercer esta hermosa profesión, en especial a la profesora Elsa Lysbet Rodríguez por brindarme la oportunidad de aprender nuevas cosas, además de amigos y compañeros que compartieron parte de su vida durante la carrera.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	
ÍNDICE DE TABLAS .....	
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	
RESUMEN.....	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
1. Características generales de la producción ovina en el país .....	2
2. Estructura de la pared celular .....	3
2.1 Celulosa .....	4
2.2 Hemicelulosa .....	6
2.3 Lignina .....	7
3. Digestión microbiana en los rumiantes .....	8
3.1 Bacterias .....	10
3.2 Protozoos.....	11
3.3 Hongos.....	12
4. Características químicas de las enzimas.....	14
4.1 Breve historia de la utilización de las enzimas a través del tiempo.....	14
4.2 Estructura química y mecanismo de acción.....	16
4.3 Clasificación de las enzimas .....	17
5. Enzimas exógenas en la nutrición animal.....	18
5.1 Enzimas proteolíticas.....	19
5.2 Enzimas amilolíticas .....	20
5.3 Enzimas fibrolíticas .....	21
5.4 Aspectos de producción industrial de las enzimas.....	23
III. JUSTIFICACION.....	24
IV. OBJETIVOS.....	25
V. HIPOTESIS.....	26
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27

1. Descripción y manejo de los animales.....	28
2. Manejo alimenticio .....	29
3. Variables de medición.....	30
4. Análisis estadístico.....	30
VII. RESULTADOS Y DISCUSION .....	31
1. Consumo de alimento .....	31
2. Peso de los animales.....	34
2.1 Peso inicial.....	35
2.2 Peso intermedio .....	35
2.3 Peso final .....	35
3. Conversión alimenticia.....	37
VIII.CONCLUSIONES .....	38
IX. BIBLIOGRAFIA.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de la pared celular. ....	3
<b>Figura 2.</b> Estructura de fibras de celulosa. ....	4
<b>Figura 3.</b> Estructura del homopolisacárido de la celulosa cristalina y amorfa. ....	5
<b>Figura 4.</b> a) Estructura química de la hemicelulosa, b) Hexosas, c) Pentosas y d) azúcares ácidos. ....	6
<b>Figura 5.</b> Composición química de la lignina de pared celular.....	8
<b>Figura 6.</b> Estratificación del contenido ruminal. ....	9
<b>Figura 7.</b> Modelos de la actividad enzimática. ....	15
<b>Figura 8.</b> Complejo enzimático xilanolítico. Estructura de xilano y las enzimas xilanolíticas que participan en su degradación. ....	22

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de las bacterias ruminales. ....	11
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de las enzimas de acuerdo a la reacción que cataliza. ....	17
<b>Tabla 3.</b> Ración alimenticia de ovinos adicionando enzimas fibrolíticas exógenas* 29	
<b>Tabla 4.</b> Datos de peso inicial, intermedio y final de ovinos en el experimento adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento. ....	34
<b>Tabla 5.</b> Prueba Shapiro Wilk para el peso inicial, intermedio y final de ovinos adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento. ....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Grafica 1.</b> Consumo promedio de alimento (BS) en ovinos durante el periodo experimental adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento. ....	31
---	----

## RESUMEN

La alimentación animal constituye una de las mayores inversiones en la producción pecuaria, lo cual ha llevado a investigar diversas alternativas, como el uso de enzimas fibrolíticas exógenas para incrementar la digestibilidad de las paredes celulares.

Se realizó un experimento en el rancho Uno y Medio ubicado en el municipio de Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Estado de Puebla. Se utilizaron 26 borregos de cruce Pelibuey X katahdin, con un peso promedio de  $22.70 \pm 2.08$  kg, mismos que se dividieron al azar en dos grupos: con adición de enzimas fibrolíticas (Fibrozyme, Alltech Inc, a dosis 2 g por kg de alimento) y otro sin enzimas. Los ovinos fueron identificados, desparasitados, vitaminados y bacterinizados; recibieron una alimentación balanceada a base de pasta de soya, rastrojo de maíz, grano de maíz molido, melaza y minerales. Se midieron las variables consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia por un periodo de 30 días.

El análisis de consumo de alimento se realizó por el método estadístico ANOVA y Levene; para el peso de los animales se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y T de Student.

El consumo de alimento promedio en base seca fue 0.88 kg/animal/día en el grupo con enzima y 0.87 kg/animal/día en el grupo sin enzima, no observándose diferencia estadística. Los valores de peso inicial, intermedio y final tuvieron una distribución normal, sin diferencia estadística ( $P > 0.05$ ).

Se concluyó que la adición de enzimas fibrolíticas en el alimento no modificó el consumo y no promovió ganancia de peso en los ovinos. Debido a la variedad de productos enzimáticos y la diversidad en las condiciones experimentales, los resultados observados con el uso de enzimas para rumiantes son a menudo inconsistentes y van desde una mayor liberación de carbohidratos solubles y una mejora en la digestibilidad de los alimentos, hasta respuestas nulas o negativas.

**Palabras clave: enzimas exógenas, fibra, engorda de ovinos, parámetros productivos**

## I. INTRODUCCIÓN

La crianza del ganado es una de las mayores fuentes de inversión en el país, con este fin se han llevado a cabo diversas alternativas para potenciar los nutrientes que se encuentran en el alimento como la disponibilidad de los carbohidratos, la utilización de diversos tipo de granos y forrajes que contengan un mayor contenido nutricional, el empleo de diversos microorganismos que se encuentran en el rumen, el uso de aditivos que ayuden a mejorar el valor nutritivo del alimento, la reutilización de las excretas para poder aprovechar todos los nutrientes del alimento proporcionado, la utilización de diversos tipos de alimentos no tan comunes que puedan ayudar a mejorar el aporte energético y recientemente la utilización de enzimas exógenas, que ayudan a la digestión de la pared celular de los alimentos (Mendoza *et al.*, 1993; Bañuelos *et al.*, 1995; Beauchemin *et al.*, 1995; Miranda *et al.*, 1996; Martínez-Avalos *et al.*, 1998; Ortega *et al.*, 1998; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2002).

Uno de los componentes que mantiene una buena función ruminal es la fibra, ya que estimula la masticación, aumenta la secreción de la saliva, regula el pH, aumenta el paso del alimento y proporcionando una mejor digestión. La pared celular está constituida de un 40-80% de materia seca (MS) conformada por polisacáridos estructurales como la celulosa, hemicelulosa y pectina. De estos polímeros del 40-80% son utilizados por la flora ruminal y el restante es desechado (Van Soest, 1994; Cruz, 2000).

Las enzimas fibrolíticas exógenas (EFE) no son sintetizadas por la flora ruminal, por lo tanto, cuando se agregan al alimento proporciona una mayor degradación de la fibra, además que ejerce una sinergia con las enzimas del rumen favoreciendo la degradación de la fibra e incrementando los sustratos disponibles para los microorganismos del rumen (Jurkovich *et al.*, 2006; Meraz *et al.*, 2012).

Por los beneficios que se reporta del uso de enzimas en la degradabilidad de la fibra, se realizó un experimento en ovinos de engorda adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento, con el objetivo de aumentar los resultados productivos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

Una manera de incrementar la producción en los animales rumiantes es mejorando la eficiencia de la digestión ruminal, por tal razón diversas investigaciones sobre aditivos se han realizado con el objetivo de aumentar la actividad en el rumen, tal es el caso de las enzimas exógenas en los ovinos.

### 1. Características generales de la producción ovina en el país

La ovinocultura es reconocida como una actividad importante en la economía del país. Los sistemas de producción son muy variados, con características propias de cada región y son determinados por la disponibilidad de recursos y por los hábitos o tradiciones en el consumo de productos ovinos. Estos sistemas van desde los altamente tecnificados que mantienen a los animales en completa estabulación, hasta los trashumantes que se mantienen en condiciones totalmente extensivas y no utilizan tecnología básica. De acuerdo con Partida et al. (2013), la zona centro del país se caracteriza por la producción ovina con razas de lana (Suffolk, Hampshire, Rambouillet y Dorset) y de pelo (Katahdin, Dorper y Pelibuey) y la región sur-sureste se orienta principalmente a la producción con razas de pelo (Pelibuey, Black Belly, Katahdin y Dorper). De las 8,725,882 cabezas de ovinos, el 15.5% se producen en el Edo. de México, el 12.9% en Hidalgo, el 8.1% en Veracruz, el 6.3 % en Puebla, el 5.8% en Zacatecas y 4.9% en San Luis Potosí (SIAP, 2020).

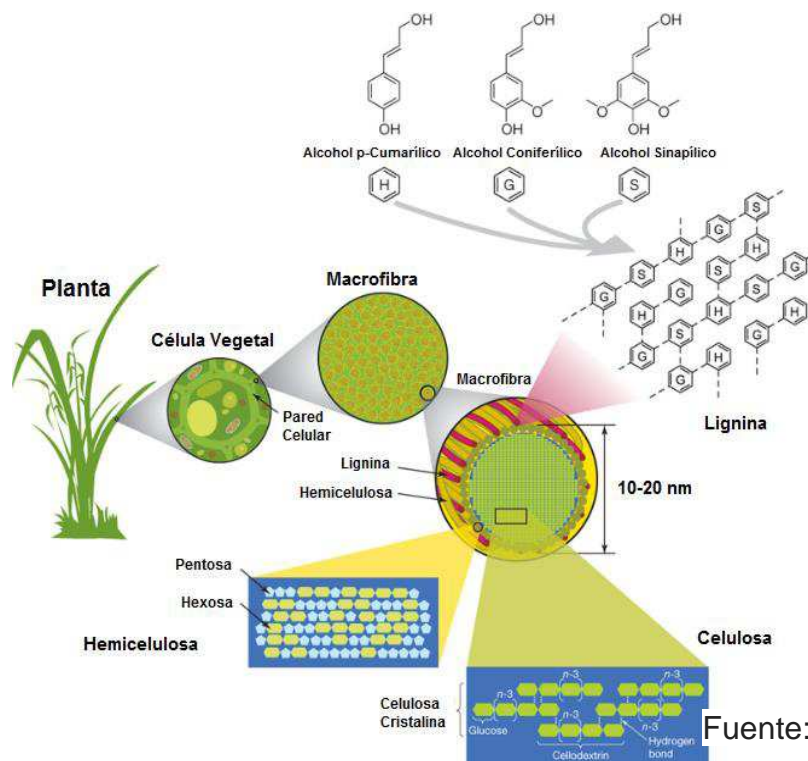
La comercialización de la carne de ovino se realiza en canales que permiten que el producto llegue a manos del consumidor final. Los pequeños productores venden los ovinos en pie, generalmente a intermediarios (acopiadores o barbacoeros) ya que es

la ruta más accesible; mientras tanto, los grandes productores de ovinos practican la comercialización bajo un sistema más organizado; ya que disponen de más recursos económicos que les permite tener acceso a la información de mercados y a nuevas tecnologías (Partida *et al.*, 2013). De acuerdo a SADER (2019), el 95% de la carne de borrego en México, se consume en forma de barbacoa.

## 2. Estructura de la pared celular

La función de la pared celular es la de sostener la estructura de la planta dándole resistencia mecánica, protección contra patógenos y captación de radiación solar. Es una estructura (**Figura 1**), formada por celulosa (20% -50%), hemicelulosa (15% -35%) y el polímero fenólico lignina (10% -30%), además contiene otros componentes como proteínas (3-10%), lípidos (1.5%), azúcares solubles y minerales, 10.5% (Rubin, 2008; Pauly y Keegstra, 2008; Srivastava *et al.*, 2017).

**Figura 1.** Estructura química de la pared celular.



Fuente: Rubin, (2008).

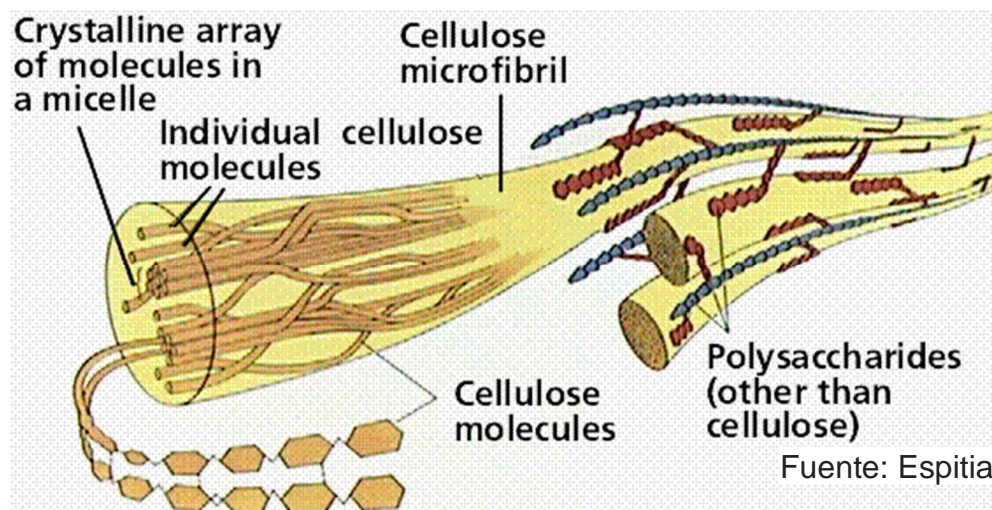
Dependiendo de su composición química y la función de la célula, la pared celular de las plantas se puede clasificar en pared primaria y secundaria, La primaria contiene bajo grado de polimerización de celulosa (2000 moléculas de glucosa) a comparación de la secundaria que contiene alto grado de polimerización (13000-14000 moléculas de glucosa). Durante el proceso de crecimiento la pared secundaria se posa sobre la pared primaria (Cardemil *et al.*, 2007).

## 2.1 Celulosa

El químico francés Anselme Payen aisló por primera vez la celulosa y estableció su fórmula molecular ( $C_6H_{10}O_5$ ) mediante análisis elemental. Posteriormente Staudinger formulo la estructura de la celulosa (Hon, 1994; Klemm *et al.*, 2005).

La celulosa es uno de los componentes mas abundante de la pared celular de las plantas está conformado por monómeros de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 formando moléculas de celobiosa, así mismo la celobiosa hace estructuras en forma de filamentos no ramificados (**Figura 2**), estos filamentos a su vez crean microfibrillas con un diámetro de 5-15 mm (Levy *et al.*, 2002).

**Figura 2.** Estructura de fibras de celulosa.

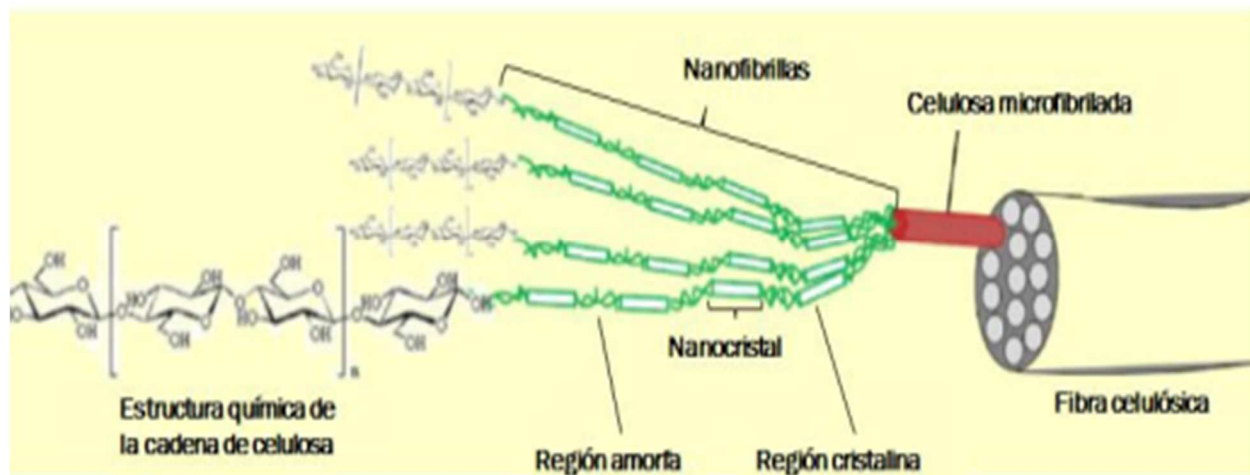


Fuente: Espitia, (2010).

El grado de polimerización de la celulosa es el número repetido de unidad anhídrida glucosa ( $\beta$ -D-glucopiranososa) unido mediante un enlace glucosídico del carbono uno y cuatro, esta estructura facilita que la celulosa pueda formar microfibrillas (**Figura 3**), estas microfibrillas son cadenas largas unidas por puentes de hidrogeno y fuerzas de Van Der Waals, lo cual confiere que en ciertas zonas de las microfibrillas se formen estructuras resistentes a la hidrolisis (región cristalina), esta zona a su vez está separada por una zona compuesta por celulosa no organizada o amorfa (región amorfa) que es más susceptible a la degradación enzimática (Béguin y Aubert, 1994; Rinaldi y Schuth, 2009; Pérez *et al.*, 2002).

La celulosa además de tener sus características estructurales que lo hacen ser resistente, también se encuentra entrelazado con la hemicelulosa y lignina, esta característica lo hace aun mas resistente a la degradación por los microorganismos ruminales y por consecuencia solo algunos microorganismos celulíticos pueden hidrolizarla (Hildén y Johansson, 2004).

**Figura 3.** Estructura del homopolisacárido de la celulosa cristalina y amorfa.

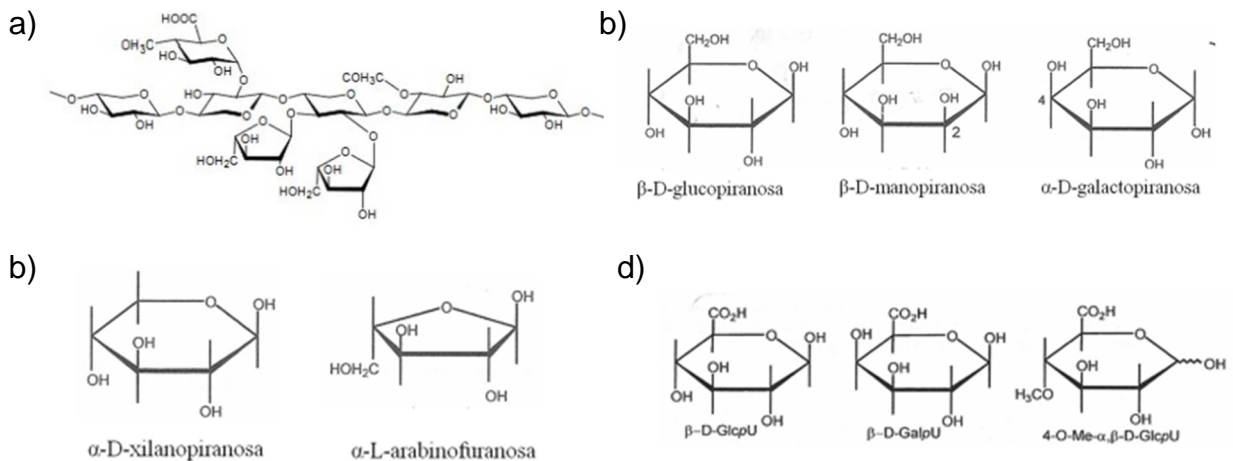


Fuente: Lavoine *et al.*, (2012).

## 2.2 Hemicelulosa

La hemicelulosa es un polímero complejo de heteropolisacáridos (**Figura 4**); formado principalmente por pentosas (D-xilosa y L-arabinosa); hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) que forman cadenas ramificadas; y azúcares ácidos 4-O-metilglucurónico, D-galacturónico y D-glucurónico (xilanos, xiloglucanos, mananos, glucomanos y glucano), unidos por enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 y ocasionalmente por enlaces  $\beta$ -1,3 (Pérez *et al.*, 2002; Saha, 2003).

**Figura 4.** a) Estructura química de la hemicelulosa, b) Hexosas, c) Pentosas y d) azúcares ácidos.



Fuente: Izquierdo-González, (2018).

La función más importante de la hemicelulosa es actuar como conexión entre la lignina y las fibras de celulosa, otorgándole mayor rigidez a la red celulosa-hemicelulosa-lignina. La celulosa se une mediante los puentes de hidrógeno con la hemicelulosa, por otro lado, la lignina por medio de sus hidroxilos se une a los ésteres de arabinosa de la hemicelulosa. Proporcionándole una mayor rigidez entre la celulosa, hemicelulosa y lignina (Pérez *et al.*, 2005).

El xilano es el mayor componente que tiene la hemicelulosa conformando hasta el 39% de materia seca (MS) de las plantas, estructuralmente esta conformado por la unión  $\beta$ -1,4 de unidades de D-xilosa, arabinosa, ácido glucurónico, ácido acético y ferúlico. El xilano cuenta con una cadena lineal de residuos de xilanopiranososa, además, presenta una cadena que puede ser sustituida con distintas cadenas laterales; las cuales pueden ser sustituidos por grupos acetilo, arabinosa y residuos glucuronosilo, debido a la variedad de combinaciones del xilano esto hace que la solubilidad de este dependa el grado de solubilidad o cantidad de ramificaciones que contenga (Sunna y Antranikian, 1997; Prade, 1996; Saha, 2003; Deesukon *et al.*, 2011).

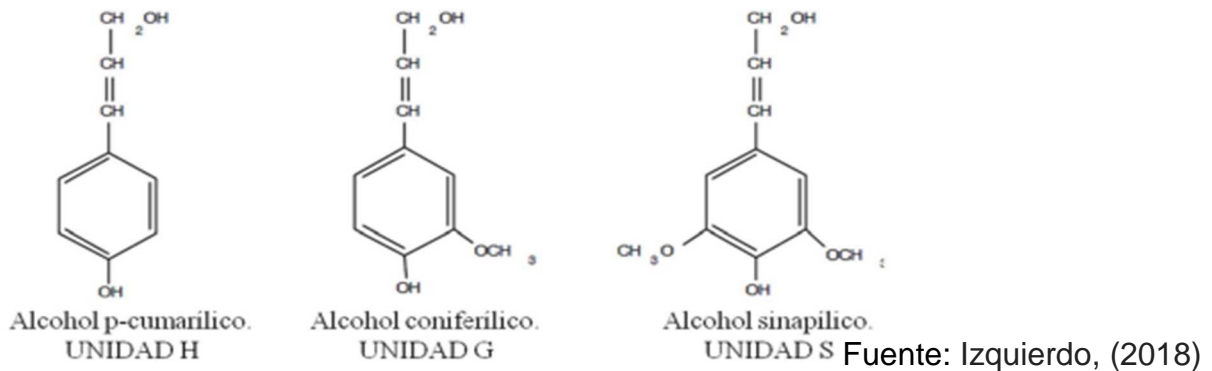
Debido a la estructura compleja del xilano se encuentra presente de distintas maneras en diferentes tipos de maderas como por ejemplo en maderas duras presenta cadenas largas de 150 a 200 monómeros, si embargo en maderas suaves presenta cadenas cortas de 70 a 130 por consecuencia presenta menor grado ramificaciones (Collins *et al.*, 2005; Bribiesca, 2013).

### 2.3 Lignina

Forma parte de la pared celular, dándole a la planta un soporte, impermeabilidad y barrera para los patógenos, esta situada en la lámina media de la pared celular y en la pared celular, que junto con la hemicelulosa forman una estructura de soporte para las fibras de celulosa (Prinsen, 2010).

Estructuralmente es un polímero ramificado, conformado por tres alcoholes aromáticos (**Figura 5**): alcohol p-cumárico (unida H), alcohol coniferílico (unidad G) y alcohol sinapílico (Unidad S), estos alcoholes se encuentran unidos por enlaces tipo éster y enlaces C-C, debido a su estructura compleja lo hace muy resistente a la degradación por muchos métodos químicos (Cunningham y López, 1994; Brandt *et al.*, 2013).

**Figura 5.** Composición química de la lignina de pared celular.



### 3. Digestión microbiana en los rumiantes

Durante el proceso de digestión el alimento sufre un proceso mecánico que es la masticación, este proceso tiene la finalidad de reducir el tamaño de las partículas, una vez dentro del estómago el alimento que previamente fue desintegrado es digerido por los microorganismos ruminales, debido a que este proceso de digestión es lento el rumiante debe de consumir grandes cantidades de alimento para llenar su necesidad energética. Por consecuencia el consumo de alimento del rumiante dura entre 4 a 8 horas, una vez que consume la cantidad necesaria ocurre un proceso en el cual el alimento que no ha sido digerido de manera eficiente, vuelve a tener una re masticación con este proceso asegura que las partículas que tiene un mayor grosor sean desintegradas de manera más eficiente y a este proceso se le conoce como rumia. Este proceso de rumia se va alternando con los procesos de ingesta para permitir el avance de alimento ingerido hacia el omaso y abomaso (Van Lier y Regueiro, 2008).

En el rumen entra alimento, agua y saliva, estos elementos se van mezclando por medio de las contracciones del rumen, una vez mezclado este contenido toda la flora ruminal se adhiere al alimento (bacterias, protozoos y hongos), durante este proceso los microorganismos empiezan a desintegrar aún más el alimento consumido, generando la formación de productos finales que son parte de la alimentación del rumiante en forma de ácidos grasos volátiles (AGV). Estos ácidos grasos son absorbidos por las vellosidades del rumen para ser transportadas por medio de la sangre a las demás células del animal, los demás residuos que no se absorben pasan al omaso. Todos los residuos que no pueden ser ingeridos van a formar parte de las heces (Van Lier y Regueiro, 2008).

De acuerdo a Relling y Mattioli (2003), en la disposición del contenido retículo-ruminal se distinguen cuatro zonas o estratos (**Figura 6**).

**Figura 6.** Estratificación del contenido ruminal.



Fuente: Relling y Mattioli, (2003).

- En el extracto gaseoso se encuentran gases de la fermentación, especialmente metano (CH<sub>4</sub>) y CO<sub>2</sub>.
- En el extracto sólido se ubica el forraje recientemente consumido. Contiene partículas que van 1 a 2 cm de largo.
- En el extracto fangoso el forraje posee un menor tamaño el cual está mejor humectado.
- En el extracto líquido el contenido está triturado y humectado. Contiene partículas que van de 1 a 3 mm en ovinos.

La mayor parte de los organismos de rumen son anaerobios. Actúan de manera cooperativa dependiendo del tipo de alimento, temperatura, pH, tipo de microorganismo en el rumen y factores fisiológicos del animal. Con esto sobresale la acción de una especie productora de una actividad (Relling y Mattioli, 2003; Van Lier y Regueiro, 2008).

### **3.1 Bacterias**

De acuerdo a Van Lier y Regueiro (2008), las bacterias del rumen se ubican en tres sitios diferentes:

- Adheridas a la pared (flora epimural): Hidrolizan la urea y consumen el poco oxígeno que pueda llegar con el alimento ingerido.
- Adheridas a partículas alimenticias (SAB: solid adherent bacteria): Atacan sustratos no solubles (bacterias celulolíticas y hemicelulolíticas).
- Libres, flotando en el líquido ruminal (LAB: liquid associated bacteria): Atacan sustratos solubles, hidrófilos.

Se clasifican según el sustrato que utilizan o según los productos finales de la fermentación que realizan (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Clasificación de las bacterias ruminales.

<b>Bacterias</b>	<b>Característica funcional</b>	<b>Productos finales</b>
<b>Celulolíticas</b>	Fermentan hidratos de carbono estructurales de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectinas).	AGV (especialmente acetato)
<b>Amilolíticas</b>	Fermentan hidratos de carbono de reserva de granos (almidón).	AGV (especialmente propionato)
<b>Sacarolíticas</b>	Fermentan hidratos de carbono simples (azúcares vegetales).	AGV (especialmente butirato)
<b>Lactolíticas</b>	Metabolizan el lactato.	AGV (especialmente propionato)
<b>Lipolíticas</b>	Metabolizan las grasas (hidrolizan triglicéridos).	Ácidos grasos libres y AGV (especialmente propionato)
<b>Proteolíticas</b>	Degradan las proteínas.	AGV y amoníaco (NH <sub>3</sub> )
<b>Metanógenas</b>	Producen metano.	Metano (CH <sub>4</sub> )
<b>Ureolíticas</b>	Hidrolizan la urea.	CO <sub>2</sub> y NH <sub>3</sub>

Fuente: Relling y Mattioli, (2003)

### 3.2 Protozoos

Los protozoos son anaerobios y sus productos son el acetato, butirato, lactato, dióxido de carbono e hidrógeno. Contribuyen en la producción de AGV ayudan a engullir pequeñas cantidades almidón y otras partículas de carbohidratos, gracias a esto la cantidad de carbohidratos disponibles en el rumen es moderado y las bacterias amilolíticas no desintegran rápidamente los carbohidratos, la lenta hidrolisis de los carbohidratos genera un equilibrio en el pH dentro del rumen. Esta misma función de los protozoarios de engullir, ayuda a que las partículas de proteínas no sean digeridas de manera rápida, sino que la proteólisis sea de manera prolongada (Coleman, 1979).

Los protozoos se desarrollan preferentemente a pH superior a 6 y a pesar de que se encuentran en el rumen su presencia no dependen de la supervivencia del animal y ni de la función en el rumen. El beneficio que proporciona al rumiante es que modera la utilización del almidón engullendo pedazos de almidón, así como bacterias amilolíticas. Todo esto es transportado al intestino delgado donde proporciona una fuente directa de glucosa que puede ingerir el animal (Relling y Mattioli, 2003).

Se estima que la población protozoaria es la segunda más grande del rumen, correspondiendo a 24 géneros y 257 especies (Bohatier, 1991). Lee-Rangel et al. (2006). Los clasifico en dos órdenes; holotricos (orden *Vestibuliferida*) y entodiniomorfos (orden *Entodiniomorphida*), por otro lado, Shin et al. (2004) considera que existen 11 géneros mas representativos de los protozoos ruminales. Debido a la gran cantidad de protozoos que se encuentran en el rumen representa el 50% de la flora ruminal. Existen varios factores que influyen en la composición de la fauna de protozoo en el rumen como son: el tipo de dieta, pH, frecuencia en la alimentación, entre otros (Dehority y Orpin, 1997; Regensbogenova *et al.*, 2004).

### 3.3 Hongos

La función de los hongos anaerobios en el rumen aun no se ha sido completamente descifrado, parece tener un papel importante en la digestión de la fibra, ya que tiene la capacidad de penetrar en la pared celular de tejidos lignificados degradando por medio de sus enzimas estructuras que son difíciles de desintegrar por las bacterias (Akin, 1989).

Algunos hongos son aerotolerantes y pueden adherirse a las partículas del alimento, el consumo de forrajes fibrosos proporciona una fuente de alimento para los hongos que se encuentran en el rumen, además de encontrarse en el rumen, también están presentes en el duodeno, ciego y heces. La mayor parte de los hongos se eliminan cuando el rumiante es alimentado por grandes cantidades de carbohidratos, a pesar de eso los hongos proliferan rápidamente cuando se les da alimento con alto grado de fibra (Grenet *et al.*, 1989; Denman *et al.*, 2008).

Los hongos ruminales son capaces de producir enzimas que hidrolizan celulosa y xilanos. Su actividad enzimática es variable, por ejemplo, algunas especies como *Neocallimastix frontalis*, *Piromyces joyonii* y *Orpinomyces communis*, tiene la capacidad de descomponer polisacáridos estructurales mejor que las bacterias celulolíticas presentes en el rumen. Las enzimas que generan los hongos del rumen permiten romper los tejidos lignificados, esta acción hace que las bacterias tengan acceso a los productos no lignificados degradando más rápidamente los tejidos de las células. Por este motivo los hongos forman parte importante en la degradación de los alimentos que contienen sustratos lignificados, llegando a degradar el 34% de la lignina presente (Grenet *et al.*, 1989; (Borneman *et al.*, 1991; Bernalier *et al.*, 1992; Mcsweeney *et al.*, 1999).

Los hongos representan alrededor del 8 % del ecosistema ruminal, además de tener una actividad sobre la lignina, también posee la propiedad de actuar sobre la celulosa, en especial cuando el alimento que se le proporciona es un forraje demasiado maduro. Debido a su baja tasa de multiplicación en el rumen, los hongos no predominan en cantidad dentro de la flora ruminal. (Relling y Mattioli, 2003).

## 4. Características químicas de las enzimas

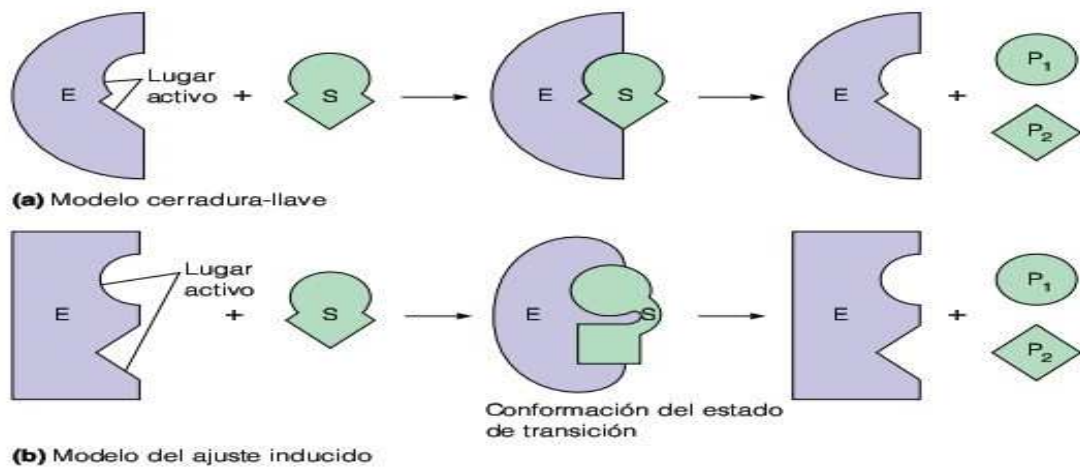
En 1878 el fisiólogo Wilhelm Kühne acuñó el término enzima, que viene del griego  $\epsilon\nu\zeta\upsilon\mu\omicron\nu$  "en levadura", para describir el proceso de fermentación. La palabra enzima fue usada después para referirse a sustancias inertes como la pepsina (Dubos, 1951).

### 4.1 Breve historia de la utilización de las enzimas a través del tiempo

El uso de la enzima a través de la historia de la humanidad se da en Egipto ya que hace mas de dos mil años la leche se almacenaba en viseras secas de animales, dentro de esas viseras se formaba un solido blanquecino con el cual, al quitarle todo el suero se forma el queso. Este proceso se lleva acabo gracias la enzima quimosina, la cual hidroliza la caseína que es una proteína que se encuentra en la leche de las vacas. En el año 1860 Luis Pasteur descubrió que la fermentación del azúcar en el alcohol era provocada por una fuerza, además que se creía que ese proceso era exclusivo de microorganismos vivos (Aceves, 2014).

Emil Ficher en 1894, introdujo por primera vez la hipótesis que las enzimas tiene una función similar a una llave y cerradura. Esta activad enzimática se explica por medio de dos modelos de interacción enzimática (**Figura 7**): a) modelo de llave y cerradura; es cuando el lugar a donde se junta una enzima con el sustrato tiene las características similares que tiene una llave cuando se ajusta a una cerradura. b) modelo ajuste inducido, en este modelo tanto la enzima como el sustrato sufren una distorsión al unirse, una vez ocurrida la reacción la enzima vuelve a su estado original (Mathews *et al.*, 2002).

**Figura 7.** Modelos de la actividad enzimática.



Fuente: Mathews *et al.*, (2002).

Eduard Buchner empezó a estudiar la capacidad de las levaduras para fermentar el azúcar, durante una serie de experimentos encontró que el azúcar también podía ser fermentada sin la presencia de seres vivos, utilizó el primer término de la enzima zimasa que era la enzima que provocaba la fermentación de la sacarosa. En 1907 recibió el Premio Nobel de Química tras descubrir que la fermentación del azúcar puede hacerse sin la presencia de células vivas (The Nobel Prize in Chemistry, 1907).

En 1965 el científico David Chilton Phillips determinó por primera vez la estructura tridimensional de la enzima lisozima, mediante el patrón de difracción de rayos X. Esto sucedió con lo que conllevó a conocer con detalle la estructura molecular de la enzima, gracias a esto se abrieron nuevos campos de investigación de la biología estructural y conocer el funcionamiento que tienen las enzimas en los diversos procesos biológicos (Blake *et al.*, 1965; Aceves, 2014).

## 4.2 Estructura química y mecanismo de acción

Las enzimas son polímeros formados por aminoácidos unidos por enlaces covalentes. Su actividad catalítica depende de que mantengan su estructura tridimensional, en ésta estructura se forman cavidades llamadas “sitio activo”, en este sitio activo solo pueden reaccionar las moléculas específicas llamados sustratos, los cuales se convertirán en productos finales (Aceves, 2014). De acuerdo a Nelson y Cox (2015), todas las enzimas son proteínas y su actividad catalítica depende de la conformación proteica que tenga, si se desintegra una enzima en subunidades, esta pierde la actividad catalítica provocando una inactivación de la enzima.

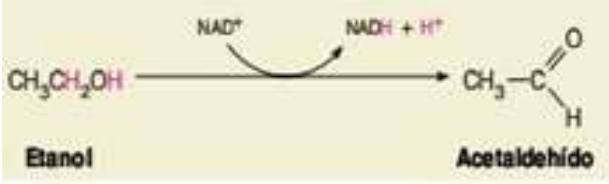

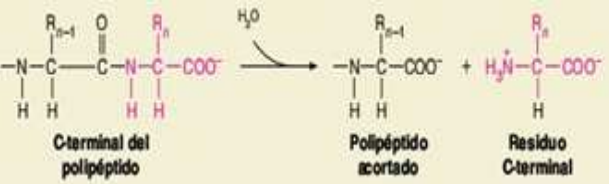
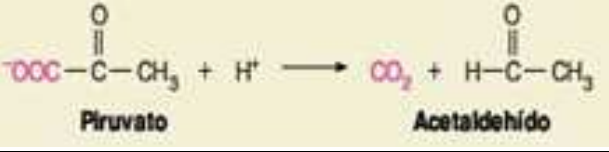

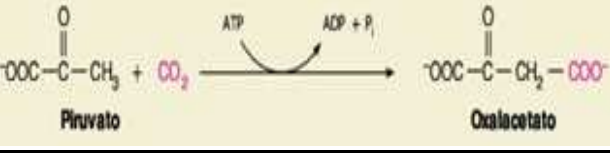
Las enzimas tienen masas moleculares van desde 12 mil hasta más de 1 millón. Debido a la gran cantidad de masa que presenta algunas enzimas solamente requieren sus residuos aminoácidos para su actividad, sin embargo, existen otras que requieren de un componente químico adicional llamado cofactor. Los cofactores pueden ser de diversas fuentes como iones metálicos ( $Zn^{2+}$ ), moléculas orgánicas llamadas coenzimas ( $NAD^{+}$ ) o grupo prostético (grupo prostético hemo) como en el caso de la hemoglobina que se allá unido a la proteína a través de interacciones hidrofóbicas (Voet y Voet, 2006; Nelson y Cox, 2015).

La función de la enzima no es solo de colocar su sustrato, además suelen tener cadenas laterales en lugares específicos para facilitar el proceso. En otros casos en lugar de cadenas laterales tiene iones metálicos que participan en la reacción, entonces la enzima además de unir sus sustratos, también reduce la energía que utiliza ayudando al proceso catalítico, una vez que el proceso catalítico halla terminado, la enzima debe de tener la capacidad de liberar los productos y regresar a su estado original, preparándose a un nuevo ciclo de catálisis (Mathews *et al*, 2002).

### 4.3 Clasificación de las enzimas

En la primera época de la bioquímica, las enzimas se denominaban según el capricho de sus descubridores. Con frecuencia, los nombres de las enzimas utilizaban varios nombres para la misma enzima. Las enzimas solían nombrarse añadiendo el sufijo “-asa” al nombre del sustrato. Para eliminar la confusión, la Unión Internacional de Bioquímica (UIB) instituyó un esquema para las enzimas (**Tabla 2**), donde cada enzima se clasifica de acuerdo con la clase de reacción que cataliza (McKee *et al.*, 2003).

**Tabla 2.** Clasificación de las enzimas de acuerdo a la reacción que cataliza.

CLASE	EJEMPLO (TIPO DE REACCION)	REACCION CATALIZADA
Oxidorreductasas	Alcohol deshidrogenasa (BC 1.1.1.1) (Oxidación con NAD)	 <p style="text-align: center;">Etanol <span style="margin-left: 200px;"></span> Acetaldehído</p>
Transferasas	Hexoquinasa (BC 2.7.1.2) (Fosforilación)	 <p style="text-align: center;"><math>\alpha</math>-Glucosa <span style="margin-left: 200px;"></span> <math>\alpha</math>-Glucosa-6-fosfato</p>
Hidrolasas	Carboxipeptidasa A (BC 3.4.17.1) (Ruptura de enlace péptido)	 <p style="text-align: center;">Cterminal del polipéptido <span style="margin-left: 50px;"></span> Polipéptido acortado <span style="margin-left: 50px;"></span> Residuo Cterminal</p>
Liasas	Piruvato descarboxilasa (BC 4.1.1.1) Descarboxilación	 <p style="text-align: center;">Piruvato <span style="margin-left: 200px;"></span> Acetaldehído</p>
Isomerasas	Maleato isomerasa (BC 5.2.1.1) (Isomerización cis-trans)	 <p style="text-align: center;">Maleato <span style="margin-left: 200px;"></span> Fumarato</p>
Ligasas	Piruvato carboxilasa (BC 6.4.1.1) (Carboxilación)	 <p style="text-align: center;">Piruvato <span style="margin-left: 200px;"></span> Oxalacetato</p>

Fuente: Mathews *et al.*, (2002)

De acuerdo al UIB cada enzima se le debe de asignar un nombre sistemático junto con una secuencia de cuatro números, Por ejemplo, el alcohol: NAD+ oxidorreductasa (EC 1.1.1.1) se denomina habitualmente alcohol deshidrogenasa. (Las letras E.C. son una abreviatura de Enzyme Commission). Ya que muchas enzimas fueron descubiertas antes de que se implementara este sistema algunos de los nombres de las enzimas se siguieron conservando (McKee *et al.*, 2003).

## 5. Enzimas exógenas en la nutrición animal

En los últimos años las enzimas se han utilizado como un aditivo indispensable en la alimentación de los animales con el fin de poder utilizar alimentos de menor calidad, extrayendo la mayor parte de los nutrientes de dicho alimento, con este fin se van reduciendo los costos de producción y haciendo más eficientes los procesos de la alimentación. De las 200 enzimas conocidas para los alimentos solo el 10% están siendo utilizadas de forma comercial (Spring *et al.*, 1999; Mendoza-Martínez, 2000; Cortés *et al.*, 2002).

En los años 80's surge la utilización de las enzimas por primera vez a nivel industrial estas enzimas tienen el objetivo de incrementar el contenido nutritivo y la digestibilidad del alimento, en especial los alimentos altos en fibra ya que estos alimentos necesitan mayor cantidad de enzimas y mayor tiempo para poder ser ingeridos por el animal. Experimentos recientes sugieren que la utilización de enzimas amilolíticas, proteolíticas y fibrolíticas tienen incrementos en la actividad ruminal y la digestión de los productos finales de dichas enzimas (Hristov *et al.*, 2000; Moral *et al.*, 2015). Según Martínez (1997) las enzimas pueden tener aplicación en la nutrición de rumiantes en dos formas: a) como agentes mejorantes y b) como aditivos del alimento, ya sea que actúen antes de la digestión o a través del tracto gastrointestinal.

## 5.1 Enzimas proteolíticas

El termino correcto de las enzimas que degradan las proteínas son las proteasas, proteinasa o enzimas proteolíticas. La unión internacional de bioquímica y biología recomienda el uso de peptidasa para referirse a las enzimas que degradan dichas proteínas. De este tipo de enzimas se pueden describir dos clasificaciones que son endopeptidasa y exopeptidasas (Barrett *et al.*, 2001).

Las exopeptidasas actúan únicamente sobre los extremos de la cadena polipeptídica (carboxilo o amino) . Por ejemplo, las enzimas que actúan en el N-terminal liberan uno, dos o tres residuos de aminoácidos, existen otro tipo de enzimas que son específicas para dipéptidos, que remueven los residuos terminales (Caffini y Cantera, 2009).

Las endopeptidasas hidrolizan uniones internas en las cadenas polipeptídicas. Son divididas en subclases en función de su mecanismo catalítico. Por ejemplo, la enzima serinca posee un residuo serina o la enzima aspartica que posee un residuo aspártico (Caffini y Cantera, 2009).

Las enzimas proteolíticas además de modificar los alimentos, suelen ser usados para la creación de sabores específicos, este cambio de sabor es provocado gracias a que sus productos finales de las hidrolisis (péptidos y aminoácidos) interaccionan con los carbohidratos y grasas de los alimentos provocando un cambio en el sabor, textura y aroma del alimento (Birschbach *et al.*, 2004).

## 5.2 Enzimas amilolíticas

El almidón está compuesto por polisacáridos los cuales son; la amilosa contiene de entre un 15-20% y amilopectina que contiene entre 80-85%. Las enzimas amilolíticas hidrolizan las moléculas de almidón, los residuos de dicha hidrolisis son dextrinas y polímeros que contienen pequeñas cantidades de glucosa (Mathews *et al.*, 2002; Pandey *et al.*, 2006).

De acuerdo a Gupta *et al.* (2003) las amilasas se dividen en dos categorías, endoamilasas y exoamilasas. Las endoamilasas pueden catalizar dentro de una molécula de almidón, cuando sucede este proceso esa hidrolisis descompone cadenas de varias longitudes generando la formación de cadenas lineales de oligosacidos. Por otro lado, las exoamilasas catalizan a la molécula de almidón desde sus extremos esta acción provoca que los residuos generados de la hidrolisis sean productos finales pequeños. En la actualidad se ha descubierto que debe de haber una gran cantidad de enzimas que actúen en sinergia para poder hidrolizar con mayor eficiencia el almidón.

Las enzimas amilolíticas en el rumen pueden ser extracelulares o ligadas a la membrana, las enzimas extracelulares en su mayoría son secretadas por las bacterias amilolíticas, así también estas enzimas pueden ser secretadas por los protozoarios y hongos que se encuentran en el líquido ruminal (Rojo *et al.*, 2015).

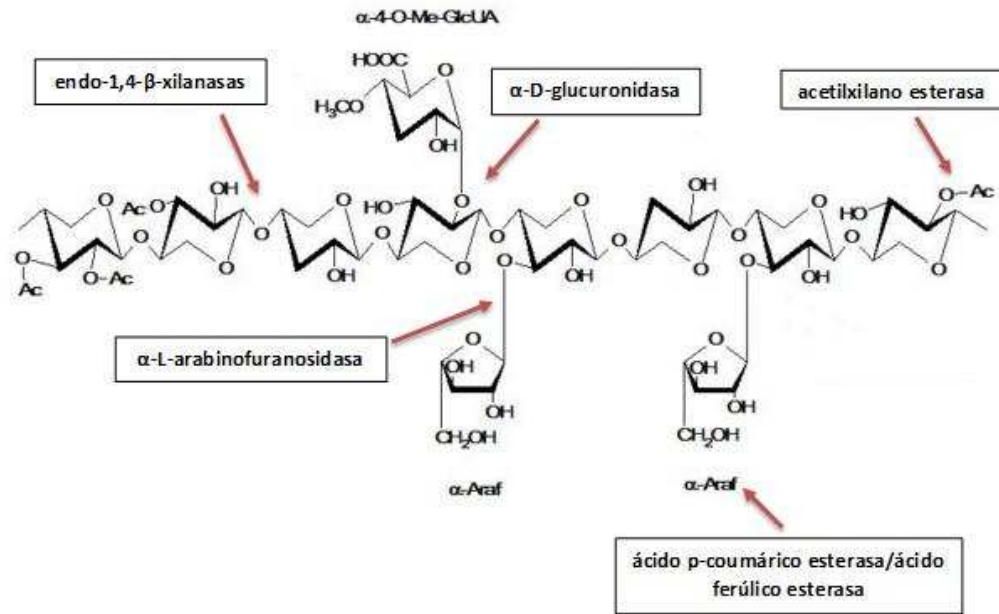
### 5.3 Enzimas fibrolíticas

En el caso de los rumiantes debido a sistema enzimático que poseen los microorganismos del líquido ruminal, pueden utilizar dietas con altos contenidos de forrajes (poseen una alta concentración de fibra). Este tipo de alimento contienen altas cantidades de celulosa, hemicelulosa y pectinas (González, 2001).

La hemicelulosa es uno de los componentes mas complejos que tiene la celulosa, para poder degradarse, es necesario la presencia de diferentes tipos de enzimas que actúen en diversos sitios de acción, además que ejerzan diferentes funciones para poder lograr degradarlo a sus azúcares más simples. En la actualidad ha surgido un interés en poder degradar de forma mas eficiente este componente, además que se ha encontrado que uno de los compuestos de la hemicelulosa que puede degradarse con enzimas exógenas es el xilano. El xilano es un polímero con una difícil degradación, sin embargo, este polímero puede ser degradado de forma casi completa por medio de una gran variedad de enzimas que actúen en forma conjunta, degradándolo en su polímero mas simple que es la xilosa (Chen *et al.*, 2009).

Las xilanasas son enzimas que degradan azúcares complejos de la hemicelulosa, estas enzimas degradan parcialmente el xilano. Este proceso ocurre gracias a la acción de un sistema complejo enzimático xilanolitico (**Figura 8**), dentro de este sistema se encuentran diferentes tipos de enzimas que incluye a las endo-1,4- $\beta$ -D-xilanasas,  $\beta$ -D-xilosidasas y varias enzimas accesorias incluidas a la L-arabinofuranosidasa,  $\alpha$ -glucuronidasa,  $\alpha$ -galactosidasa, acetilxilano esterasa y ácido ferúlico esterasa (Collins *et al.*, 2005; Visse *et al.*, 2013; Martínez, 2018).

**Figura 8.** Complejo enzimático xilanolítico. Estructura de xilano y las enzimas xilanolíticas que participan en su degradación.



Fuente: Sunna y Antranikian, (1997).

Las xilanasas se pueden dividir en dos clases las exogilanasas y endoxilanasas, la exogilanasas tiene su acción en el extremo de la cadena de xilano (más frecuente, pero no siempre en el sitio del término no-reductor) o en sitios intermedios y las endoxilanasas tiene su sitio de acción dentro de los sitios intermedio del xilano (Withers y Williams, 2018).

Debido a que las eximas fibrolíticas por lo regular no son sintetizados por los microorganismos de líquido ruminal, son asperjadas en los forrajes antes de ser ingeridas por el animal, esto provoca un aumentando en la degradación de la fibra contenida dentro del alimento. La utilización de las enzimas exógenas antes de la ingesta del alimento provoca una sinergia con las enzimas que producen los microorganismos de rumen, mejora la degradación de la pared celular, provoca un incremento en los sustratos disponibles, aumenta la digestibilidad de la fibra y en consecuencia mejora la actividad fermentativa dentro del rumen (Feng *et al.*, 1996; Jurkovich *et al.*, 2006; Meraz *et al.*, 2012; Rojo *et al.*, 2015).

#### 5.4 Aspectos de producción industrial de las enzimas

Las enzimas exógenas son productos comerciales que por lo regular son secretadas por bacterias (*Bacillus ssp*) u hongos (*Trichoderma*, *Saccharomyces* y *Aspergillus spp*). Estas enzimas llevan un proceso de purificación con lo cual son obtenidas las enzimas. Cabe señalar que algunos productos comerciales contienen diferentes tipos de enzimas mostrando una mejoría en la degradación del alimento en rumiantes, ya que existe una mejoría en la degradación de las paredes celulares (Kung *et al.*, 2000; Beauchemin *et al.*, 2004).

Las enzimas pueden interactuar no solo con la digestión sino también con los microorganismos ruminales. Se ha demostrado que la utilización de las enzimas fibrolíticas exógenas mejora considerablemente la adherencia de diferentes microorganismos del rumen en el alimento, una vez que las enzimas actúan sobre las paredes de las células abren un acceso a los demás compuestos que contiene, esto provoca la entrada a los demás microorganismos ruminales permitiendo el acceso a los azúcares libre de la celulosa y los xilanos, por consecuencia incrementa la tasa de degradación ruminal (Morgavi *et al.*, 2000).

El mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas lo hace a través de la hidrólisis de la fibra que contiene las plantas, provocando un incremento en la cantidad de nutrientes disponibles. Además, que se han postulado diferentes mecanismos de acción de las enzimas como hidrólisis directa, aumento significativo en la cantidad de microorganismos ruminales, mejoría en la palatabilidad, cambios en la viscosidad y cambios en el sitio de la digestión del alimento (Morgavi *et al.*, 2000; Hristov *et al.*, 2000; Officer, 2000; Beauchemin *et al.*, 2003; Adesogan, 2005).

### III. JUSTIFICACION

Al incrementarse la población humana se requiere aumentar la producción de alimentos de origen animal para poder abastecer el consumo.

La crianza de ovinos se realiza de forma tradicional por comunidades rurales, sin embargo, el incremento de la población y su demanda, han llevado a la búsqueda de alternativas en la producción.

Una de las alternativas para el mejoramiento del valor nutritivo de los forrajes es la utilización de enzimas fibrolíticas exógenas. Los microorganismos del rumen poseen enzimas para poder degradar los carbohidratos presentes en los forrajes, sin embargo, no son suficientes para poder desintegrar la mayor parte los componentes de la pared celular, por lo que el forraje no es utilizado de forma eficiente para la obtención de nutrientes.

Al añadir las enzimas exógenas se estimula el consumo y la digestibilidad de las dietas altas en fibra. Por esta razón el objetivo de este trabajo es determinar si la utilización de enzimas exógenas ayuda al aumento de los índices productivos en ovinos de engorda.

## IV. OBJETIVOS

### General

- Valorar el uso de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de ovinos en engorda.

### Específicos

- Determinar el consumo voluntario de ovinos en engorda consumiendo alimento adicionado con enzimas fibrolíticas exógenas.
- Determinar la ganancia de peso de ovinos en engorda, consumiendo alimento adicionado con enzimas fibrolíticas exógenas.
- Determinar la conversión alimenticia en ovinos consumiendo alimento adicionado con enzimas fibrolíticas exógenas.

## **V. HIPOTESIS**

La inclusión de enzimas fibrolíticas exógenas en el alimento podrá mejorar los parámetros productivos de los ovinos de engorda.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el rancho Uno y Medio ubicado en el municipio de Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla. Tepeyahualco, fundado alrededor de 1700, proviene de las raíces nahoas: Tepetl, que significa cerro, Yahualtic: cosa redonda o rodete, y Co: lo que significa "en la redondez o cerco de cerros". Se localiza en el extremo sur del Valle de Tepeaca y es uno de los 217 municipios que conforman al estado. Su altitud promedio es de 1,940 msnm, situándose en las coordenadas 18° 47' 48" y 18° 49' 12" latitud norte respecto al trópico de cáncer y entre 97° 50' 06" y 97° 53' 18" longitud oeste respecto al meridiano de Greenwich. Tiene una superficie de 19.15 km<sup>2</sup> que lo ubican en el lugar 204 con respecto a los demás municipios del estado (INAFED, 2010).

El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, temperatura media anual entre 12 y 18°C; precipitaciones del mes más seco menor de 40 milímetros. Todo su territorio está dedicado a la Agricultura; la zona norte es de riego y la zona sur de temporal, la zona de riego forma parte de las grandes extensiones dedicadas a la misma actividad en el valle de Tepeaca (INAFED, 2010).

La población total de Tepeyahualco de Cuauhtémoc en 2020 fue 3,851 habitantes, siendo 52.8% mujeres y 47.2% hombres. Los rangos de edad que concentraron mayor población fueron 0 a 4 años (381 habitantes), 5 a 9 años (359 habitantes) y 25 a 29 años (351 habitantes). Entre ellos concentraron el 28.3% de la población total (DataMexico, 2020).

De acuerdo a DataMexico, 2020 la población de 3 años y más que habla al menos una lengua indígena fue 20 personas, lo que corresponde a 0.52% del total de la población

de Tepeyahualco de Cuauhtémoc. Las lenguas indígenas más habladas fueron náhuatl (14 habitantes), Tseltal (1 habitantes) y Ch'ol (1 habitantes).

Según datos del Censo Económico 2019, los sectores económicos que concentraron más unidades económicas en Tepeyahualco de Cuauhtémoc fueron Industrias Manufactureras 121 unidades, Comercio al por Menor 84 unidades y Servicios de Alojamiento Temporal y de Preparación de Alimentos y Bebidas 26 unidades (DataMexico, 2020).

## 1. Descripción y manejo de los animales

Se utilizaron 26 borregos de cruce Pelibuey X katahdin, con un peso promedio de  $22.70 \pm 2.08$  kg, mismos que se dividieron aleatoriamente en dos grupos: con enzimas fibrolíticas (Fibrozyme, Alltech Inc) y sin enzimas. Los ovinos fueron identificados individualmente, se les administró el desparasitante TRODAX® BORREGOS (Nitroxinil 0.10 g, vehículo c.b.p. 1 ml); vitaminas VITA PIER ADE (Fórmula: Vitamina D3 75,000 U.I., Vitamina E 50 U.I., Vitamina A 500 000 U.I., Vehículo c.b.p. 1 ml) y BACTERINA EXGON 10® (Toxoide *Clostridium perfringens* serotipo C, *Clostridium perfringens* serotipo D, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordelli*, *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* tipo A serotipo 1 y sus toxoides (leucotoxina LCTx), *Pasteurella multocida* serotipo A (Carter) y *Pasteurella multocida* serotipo D (Carter), vehículo, c.b.p. 1 ml).

## 2. Manejo alimenticio

Los ovinos recibieron una alimentación de acuerdo a lo que se muestra en la Tabla 3. Al alimento del grupo 1 (con enzimas) se le añadió 2 g de enzimas fibrolíticas (Fibrozyme, Alltech) por kg de alimento, mismas que se diluyeron con agua, se mezclaron con la melaza y posteriormente se agregaron a la ración integral.

**Tabla 3.** Ración alimenticia de ovinos adicionando enzimas fibrolíticas exógenas\*

Ingrediente	% de inclusión
Pasta de soya	19%
Rastrojo de maíz	20%
Maíz molido	56%
Minerales	1%
Melaza**	4%
Composición química**	
MS%	12.2
PC%	15.27
FDN%	21.59
EM ( $\mu$ cal/kg)	2.59

\* Se añadió enzimas fibrolíticas a una dosis de 2g/kg de alimento

\*\*Datos calculados

Fibrozyme TM, Alltech Inc. Levadura inactivada, extracto de yuca, levadura de cerveza seca, producto de fermentación seca de *Trichoderma longibrachiatum*. Obtenida de la fermentación fúngica y con una actividad xilanolítica de 100 UI de producto xilosa g-1. Fibrozyme® Min. 100 XU<sup>2</sup>/g.

XU: Unidad de actividad de la enzima xilanasa equivalente a la cantidad de enzima que libera 1 micromol de xilosa por minuto a partir de xilano a pH 5,3 y 50°C.

Aspecto: FIBROZYME® es un polvo de color marrón.

Densidad: 620 Kg / m<sup>3</sup>.

### 3. Variables de medición

El experimento tuvo una duración de 30 días en los cuales se midieron las siguientes variables:

- a) Consumo de alimento (AC): diariamente se pesó el alimento y al siguiente día se pesó el alimento rechazado, antes de ofrecer alimento fresco. Se inició ofreciendo un consumo promedio de 1.14 kg de alimento, cantidad que se incrementaba o aumentaba de acuerdo al rechazo obtenido (10%). Los datos se obtuvieron mediante la fórmula siguiente:

$$AC = AO - AR$$

\*AO = Alimento Ofrecido

\*\*AR= Alimento Rechazado.

- b) Ganancia de peso (GP): se obtuvo el peso inicial, peso intermedio y peso final.

Los datos se obtuvieron mediante la fórmula siguiente:

$$GP = PF - PI$$

\*PF = Peso final del periodo

\*\*PI = Peso Inicial del periodo.

- c) Conversión alimenticia (CA): indica los kg que tuvo que consumir el animal para producir un kg de producto. Se calculó por todo el periodo, mediante la fórmula:

$$CA = \frac{AC}{GP}$$

### 4. Análisis estadístico

Para el consumo promedio de alimento, consumo total y consumo rechazado se utilizó el método estadístico ANOVA y Levene, para el peso de los animales se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y prueba de T de Student.

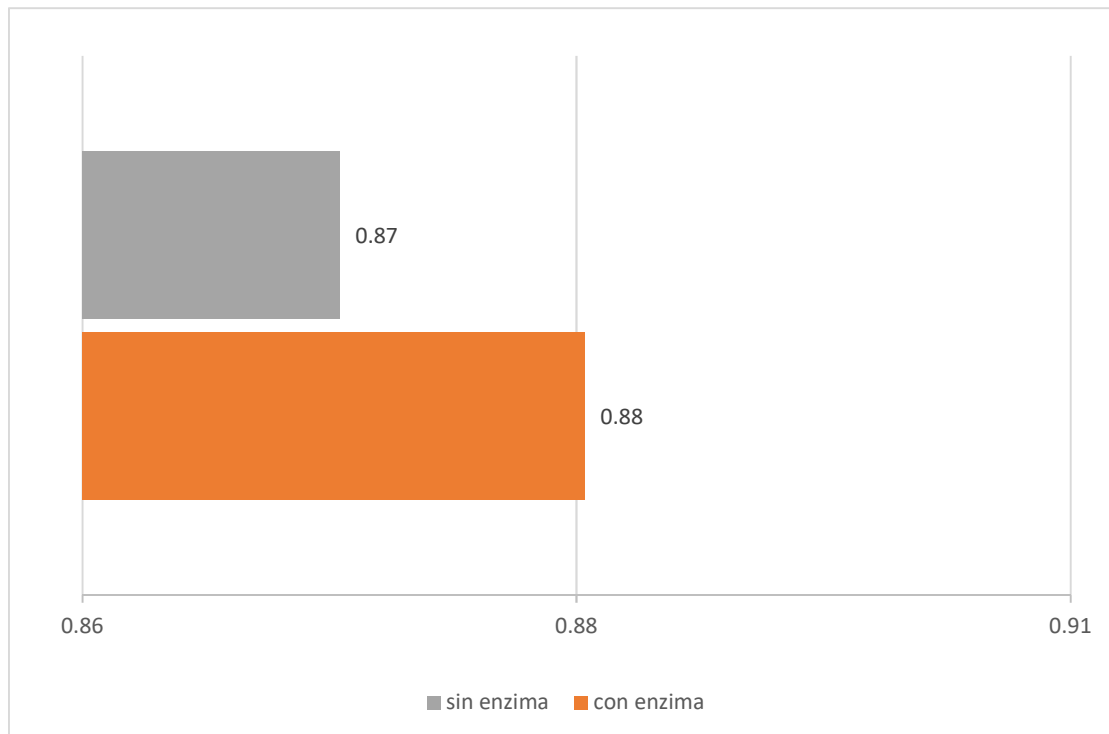
## VII. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación, se describen las variables que se midieron.

### 1. Consumo de alimento

Los resultados de consumo promedio de alimento en base seca (BS) se presentan en la **gráfica 1**, obteniéndose en la prueba estadística Levene, homogeneidad de varianzas en consumo de alimento ( $P=.582$ ), alimento rechazado ( $P=.540$ ) y consumo total ( $P=.914$ ).

**Gráfica 1.** Consumo promedio de alimento (BS) en ovinos durante el periodo experimental adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento.



El consumo de alimento promedio en BS en el grupo con enzima fue de 0.88 kg/animal/día y en el grupo sin enzima de 0.87 kg/animal/día, no se observó diferencia estadística ( $p=0.656$ ), es decir, estadísticamente fue el mismo consumo. Mismos resultados se obtuvieron con un nivel de significancia del 10%.

McAllister et al. (2000), Lee-Rangél et al. (2006), Colombatto et al. (2007) y Varlyakov et al. (2010) encontraron que la administración de enzimas no afecta el consumo de alimento, así mismo Bueno et al. (2013) concluye que la adición de altas dosis de enzimas fibrolíticas comerciales exógenas tampoco altera el consumo de alimento.

De acuerdo a Sousa (2019), durante el proceso del desarrollo experimental los animales tuvieron una disminución para estas variables, es decir, a medida que aumentaba el peso, los ovinos reducen su ingesta de alimento en relación a peso. Este suceso se debe a que el alimento proporcionado a los animales era de buena calidad provocando que el requerimiento energético de los animales se cubriera de manera eficiente, como resultado de esto el consumo de alimento disminuyó en relación con el peso corporal. Otro factor que influyó para la obtención de dichos resultados fue que tenían una condición corporal de 4.5 en una escala de 5. Este hecho pudo haber contribuido en el resultado obtenido.

Neiva (2018) y Razo-Barrera (2018) sugieren que la energía producida en el rumen beneficia en la degradación de la fibra, esta energía proporciona a los microorganismos del rumen una mayor actividad, reduciendo el tiempo de la colonización de las partículas fibrosas. Cuando el rumiante digiere la fibra de una manera más eficiente existe una reducción en el tamaño de las partículas, provocando un aumento en el consumo del alimento, por tal motivo la utilización de enzimas fibrolíticas en el alimento

aumenta la degradación de la fibra y mejora la digestión ruminal y post ruminal (Mertens, 1994; McAllister *et al.*, 2001). Los resultados obtenidos en el aumento del consumo voluntario de nutrientes se dieron posiblemente, a que al añadir enzimas exógenas existe una complementación con las enzimas de la flora ruminal permitienddo una mejor degradación de la fibra. Además, la liberación de nutrientes esenciales (almidones, proteínas) de las paredes celulares incrementa lo que genera una mayor ganancia de peso (Ponce y Pérez, 2002; Lata, 2011; Rojas, 2011; Phakachoed *et al.*, 2013).

Existen muchos informes sobre la mejora de la digestión de la fibra por microorganismos ruminales con suplementos de enzimas exógenas *in vivo* (Beauchemin *et al.*, 1995; Lewis *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 1999), pero no en todos los casos (Kung *et al.*, 2000; Sutton *et al.*, 2003), éstas inconsistencias podrían deberse a varios factores como la composición de la dieta, el tipo de enzimas utilizadas, la cantidad de enzima utilizada, la estabilidad de la enzima dentro del rumen, el método de aplicación y diferencias fisiológicas propias de cada animal. Las variaciones en el rendimiento de crecimiento de los rumiantes que consumen forrajes previamente tratados con enzimas fibrolíticas pueden deberse a factores como la especificidad y la actividad enzimática, así como la forma, el tiempo de aplicación y la naturaleza de la pared celular del forraje (Eun *et al.*, 2008).

## 2. Peso de los animales

Los resultados de peso inicial, intermedio y final de los ovinos se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla 4.** Datos de peso inicial, intermedio y final de ovinos en el experimento adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento.

Datos		Peso inicial	Peso intermedio	Peso final
		kg		
Con enzima	Media	22.82*	22.61*	22.34*
Sin enzima		22.7*	22.35*	23.17*
Con enzima	Desviación estándar	1.94	2.9	3.64
Sin enzima		2.08	4.21	5.22
Con enzima	Error estándar	0.54	0.84	1.05
Sin enzima		0.57	1.16	1.44
Con enzima	IC 95% Límite inferior	21.64	20.77	20.02
Sin enzima		21.44	19.8	20.02
Con enzima	IC 95% Límite superior	23.99	24.45	24.65
Sin enzima		23.99	24.9	26.33

\*Sin diferencia significativa en los tratamientos

Mediante la prueba de Shapiro-Wilk, prueba de normalidad para muestras menores de 50 datos, se obtuvo que la variable de peso inicial, intermedio y final, tienen una distribución normal ( $\text{Sig} > 0.05$ ), por lo que para su análisis se utilizó la prueba de T de Student (prueba no paramétrica), obteniéndose como resultado que no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) en el peso inicial, peso intermedio y peso final de los ovinos que recibieron enzimas fibrolíticas con aquellos que no recibieron enzimas exógenas en el alimento.

**Tabla 5.** Prueba Shapiro Wilk para el peso inicial, intermedio y final de ovinos adicionando enzimas fibrolíticas en el alimento.

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Peso inicial, kg	0.157	25	0.111	0.935	25	0.116
Peso intermedio, kg	0.111	25	.200*	0.954	25	0.302
Peso final, kg	0.13	25	.200*	0.932	25	0.098

## 2.1 Peso inicial

En la prueba de muestras independientes, se obtuvo una  $P= 0.893$ , con lo que se acepta que el peso inicial de los dos grupos es igual antes de iniciar el tratamiento, con un intervalo de confianza para la media de 95%.

## 2.2 Peso intermedio

En la prueba de muestras independientes, se obtuvo  $P= 0.925$ , con lo que se acepta que el peso intermedio de los dos grupos es igual durante el tratamiento, con un intervalo de confianza para la media de 95%.

## 2.3 Peso final

Se obtuvo una significancia de  $p>0.05$ , por lo que se acepta que el peso final de los dos grupos es igual al finalizar el tratamiento, esto quiere decir, que en ambos grupos

después del tratamiento no hubo diferencia debido a la aplicación de la enzima. Sin embargo, al finalizar el tratamiento se pudo observar que en el grupo 1 hubo una disminución en el promedio del peso de los animales de -0.477 kg con respecto al peso inicial y el peso final, lo cual pudo deberse al uso de suero derivado de la elaboración de queso. En cuanto al grupo 2 hubo un aumento de peso de 0.469 kg (inicial/final).

En cuanto al peso de los animales Varlyakov et al. (2010) y Bueno et al. (2013) no tuvieron efecto en la ganancia de peso y no tuvo impacto positivo en el desempeño de la producción de ovinos. Por otro lado, Cruywagen y Van, (2008); observaron un aumento de la ganancia de peso.

Debido a la variedad de productos enzimáticos y la diversidad en las condiciones experimentales, los resultados observados con el uso de enzimas para rumiantes son a menudo inconsistentes van desde una mayor liberación de carbohidratos solubles y una mejora en la digestibilidad de los alimentos, hasta respuestas nulas o negativas. Dichas respuestas se pueden atribuir a condiciones en las que la energía no es un factor limitante, existen otras variantes como son; el tipo de alimento administrado, la sobredosis o subdosis de la cantidad de enzima utilizada o por un por el método inadecuado de suministro al animal (Beauchemin *et al.*, 2003).

### 3. Conversión alimenticia

De acuerdo a los resultados obtenidos en el experimento no hubo un aumento en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia y en consecuencia no hubo mejoría en la conversión alimenticia, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Bueno et al. (2013) quien no observó cambios en la ganancia diaria y la conversión alimenticia. Los resultados obtenidos por Sousa (2019), fueron que la inclusión de enzima fibrolítica no influye en el consumo, el comportamiento digestivo y la eficiencia alimentaria.

Sin embargo, Varlyakov et al. (2010), Cirne et al. (2014) y Neiva (2018) reportaron que la adición de enzimas exógenas, mejoró la conversión alimenticia en ovejas, así mismo Cruywagen y Van (2008), Cruywagen y Groosen (2004) reportan aumento de la ganancia diaria de peso y mejor conversión alimenticia en ovejas.

## VIII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluyó lo siguiente:

- A) La adición de enzimas fibrolíticas en el alimento no modificó el consumo voluntario de los ovinos.
- B) No hubo diferencia en ganancia de peso en ovinos que consumieron alimento con o sin enzimas fibrolíticas.
- C) No hubo diferencia en conversión alimenticia en ovinos que consumieron alimento con o sin enzimas fibrolíticas.

Debido a la variedad de productos enzimáticos y la diversidad en las condiciones experimentales, como el tipo de forraje, los resultados observados con el uso de enzimas para rumiantes son a menudo inconsistentes y van desde una mayor liberación de carbohidratos solubles y una mejora en la digestibilidad de los alimentos, hasta respuestas nulas o negativas.

## IX. BIBLIOGRAFIA.

1. Aceves, M.A. (2014). Enzimas: ¿Qué son y cómo funcionan?, Citado en: [https://www.researchgate.net/profile/Joaquin\\_Ramirez5/publication/270219391\\_Enzimas\\_que\\_son\\_y\\_como\\_funcionan/links/57d5f1f108ae5f03b493292f/Enzimas-que-son-y-como-funcionan.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Joaquin_Ramirez5/publication/270219391_Enzimas_que_son_y_como_funcionan/links/57d5f1f108ae5f03b493292f/Enzimas-que-son-y-como-funcionan.pdf)
2. Adesogan, A.T. (2005). **Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes. Proc. Florida Ruminant Nutrition Symposium. University of Florida, Gainesville. pp 91-109.**
3. Akin, D.E. (1986). **Chemical and biological structure in plants as related to microbial degradation of forage cell walls. Control of digestion and metabolism in ruminants, 139-157.**
4. Akin, D.E. (1989). **Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agronomy journal, 81(1), 17-25.**
5. Bañuelos, O.T.; Mendoza, M.G.D.; Rodríguez, O.J.L y Muñoz, O.A. (1995). **Evaluación forrajera de 18 variedades de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en Montecillo, México. Rev. Fac. Agron. (KUZ). 12: 71-79.**
6. Barrett, A.J.; Rawlings, N.D. and O'Brien, E.A. (2001). **The MEROPS database as a protease information system. Journal of structural biology, 134(2-3), 95-102.**
7. Beauchemin, K.A., Rode, L.M. and Sewalt, V.J.H. (1995). **Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. Can J Anim Sci 75, 641-644. Citado en: <https://doi.org/10.4141/cjas95-096>.**
8. Beauchemin, K.A.; Colombatto, D. and Morgavi, D.P. (2004). **A rationale for the development of feed enzyme producís for ruminants. Can J Anim Sci 84: 23-36.**
9. Béguin, P. and Aubert J.P. (1994). **The biological degradation of cellulose. FEMS Microbiol Rev. 13(1):25-58.**
10. Bernalier, A.; Fonty, G.; Bonnemoy, F. and Gouet, P. (1992). **Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. Current Microbiology, 25(3), 143-148.**

11. Birschbach, P.; Fish, N.; Henderson, W. and Willrett, D. (2004). **Enzymes: Tools for creating healthier and safer foods. Food technology (Chicago), 58(4), 20-26.**
12. Blake, C.C.; Koenig, D.F.; Mair, G.A.; North, A.C.; Phillips, D.C. and Sarma, V.R. (1965). **Structure of hen egg-white lysozyme. A three-dimensional Fourier synthesis at 2 Angstrom resolution. Nature 22 (206): pp. 757-761. PMID 5891407.**
13. Bohatier, J. (1991). **The rumen protozoa: taxonomy, cytology and feeding behaviour. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Paris: Inra, 27-38.**
14. Borneman, W.S.; Ljungdahl, L.G.; Hartley, R.D. and Akin, D.E. (1991). **Isolation and characterization of p-coumaroyl esterase from the anaerobic fungus Neocallimastix strain MC-2. Applied and environmental microbiology, 57(8), 2337-2344.**
15. Brandt, A.; Gräsvik, J.; Hallett, J.P. and Welton, T. (2013). **Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids, Green Chem., 15:550.**
16. Bribiesca, B.L.C. (2013). **Enzimas xilanolíticas bacterianas y sus aplicaciones industriales. VERTIENTES Revista Especializada en Ciencias de la Salud, 16(1), 19-22.**
17. Bueno, A.L.; Martínez, G.D.; García, P.A.; García, J.A. and Pérez, F.X. (2013). **Evaluation of high doses of exogenous fibrolytic enzymes in lambs fed an oat straw based ration. Animal Nutrition and Feed Technology, 13(3), 355-362.**
18. Caffini, N.O. and Cantera, A.M. (2009). **Enzimas proteolíticas de vegetales superiores: Aplicaciones Industriales (No. 581.134 ENZ).**
19. Cardemil, L.; Handford, M. and Meisel L. (2007). **Fisiología Vegetal. Capítulo I. La célula vegetal. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile 1: 1-46.**
20. Chen, L.; Zhang, M.; Zhang, D.; Chen, X.; Sun, C.; Zhou, B. and Zhang, Y. (2009). **Purification and enzymatic characterization of two  $\beta$ -endoxylanases from Trichoderma sp. K9301 and their actions in xylooligosaccharide production. Bioresource Technology 100: 5230-5236.**

21. Cirne, L.G.A.; Oliveira, G.J.C.; Jaeger, S.M.P.L.; Bagaldo, A.R.; Leite, M.C.P.; Rocha, N. y Oliveira, P.A. (2014). Comportamento ingestivo de cordeiros em confinamento, alimentados com dieta exclusiva de concentrado com diferentes porcentagens de proteína. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 66, 229-234.
22. Coleman, G.S. (1979). The role of rumen protozoa in the metabolism of ruminants given tropical feeds. *Trop. Anita. Prod.* 4:199.
23. Collins, T.; Gerday, C. and Feller, G. (2005). Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 3-23.
24. Colombatto, D.; Mould, F.; Bhat, M. and Owen, E. (2007). Influence of exogenous fibrolytic enzyme level and incubation pH on the in vitro ruminal fermentation of alfalfa stems. *Anim Feed Sci Tech* 137, 150-162.
25. Cortés, C.A.; Águila, S.R. Y Ávila, G.E. (2002). La Utilización de enzimas como aditivos en dietas para pollos de engorda. *Vet. Méx. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.* 33:1.
26. Cruywagen, C.W. and Goosen, L. (2004). Effect of an exogenous fibrolytic enzyme on growth rate, feed intake and feed conversion ratio in growing lambs. *South African Journal of Animal Science*, 34(Suppl 2), 71-73.
27. Cruywagen, C.W. and Van Zyl, W.H. (2008). Effects of a fungal enzyme cocktail treatment of high and low forage diets on lamb growth. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 151-158. 2.
28. Cruz, M. (2000). La fibra en la alimentación del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical*, 6(1).
29. Cunningham, R.E. y López, G.D. (1994). Etanol de lignocelulósicos: Tecnología y perspectivas. Santa Fe: Universidad de Santiago de Compostela, Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico
30. DataMéxico, (2020). Secretaria de economía, Gobierno de México. citado en: <https://datamexico.org/es/profile/geo/tepeyahualco-de-cuauhtemoc?redirect=true>
31. Deesukon W.; Nishimura, Y.; Harada, N.; Sakamoto, T. and Sukhumsirichart. W. (2011). Purification, characterization and gene cloning of two forms of a

- thermostable endo-xylanase from *Streptomyces* sp. SWU10. *Process Biochemistry*, 46: 2255-2262.
32. Dehority, B.A. and Orpin, C.G. (1997). Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 196-245). Springer, Dordrecht.
33. Denman, S.E.; Nicholson, M.J.; Brookman, J.L.; Theodorou, M.K. and McSweeney, C.S. (2008). Detection and monitoring of anaerobic rumen fungi using an ARISA method. *Letters in applied microbiology*, 47(6), 492-499.
34. Dubos, J. (1951). «Louis Pasteur: Free Lance of Science, Gollancz. Quoted in Manchester K. L., Louis Pasteur, chance and the prepared mind. *Trends Biotechnol* 13 (12): pp. 511-515. PMID 8595136.
35. Espitia, S.H.M. (2010). Aislamiento de nanofibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales de fique y caña de azúcar, con potencial aplicación en reforzamiento de polímeros termoplásticos. *Escuela de Química*.
36. Eun, J.S.; ZoBell, D.R.; Dschaak, C.M. and Diaz, D.E. (2008). Effect of a fibrolytic enzyme supplementation on growing beef steers. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*, 59: 418-420.
37. Feng, P.; Hunt, C.W.; Pritchard, G.T and Julien, W.E. (1996). Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Animal Sci.* 74: 1349-1357.
38. González, G.R. (2001). Efecto de Enzimas Fibrolíticas Obtenidas en la FAUANL sobre el Crecimiento de Lechones Destetados. *Memorias. XXIX Reunión anual de la asociación mexicana de producción animal. Transferencia de tecnología y competitividad pecuaria. Cd. Victoria, Tamaulipas.* pp. 262-265.
39. Grenet, E.; Breton, A.; Barry, P. and Fonty, G. (1989). Rumen anaerobic fungi and plant substrate colonization as affected by diet composition. *Animal Feed Science and Technology*, 26(1-2), 55-70.
40. Gupta, R.; Gigras, P.; Mohapatra, H.; Goswami, V.K. and Chauhan, B. (2003). Microbial  $\alpha$ -amylases: a biotechnological perspective. *Process biochemistry*, 38(11), 1599-1616.

41. Hildén, L. and Johansson, G. (2004). Recent developments on cellulases and carbohydrate-binding modules with cellulose affinity. *Biotechnol Lett.* 26(22):1683-93.
42. Hon, D.S. (1994). Cellulose: a random walk along its historical path, *Cellulose*, 1-25.
43. Hristov, A.N.; McAllister, T.A. and Cheng, K.J. (2000). Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. *J Anim Sci* 78: 477-487. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1946/](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1946/)
44. INAFED. Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2010. SEGOB Secretaría de Gobernación. Puebla.
45. Izquierdo-González, Á. (2018). Simulación de un proceso extracción hidrotermal de hemicelulosa utilizando Aspen Plus con Aspen Polymers.
46. Jurkovich, V.; Kutasi, J.; Fébel, H.; Reiczigel, J.; Brydl, E.; Könyves, L. and Rafai, P. (2006). Rumen fermentation response to a direct-fed xylanase enzyme preparation from *Thermomyces lanuginosus* in sheep. *Acta Vet Hung*, 54(3), 333–342. <https://doi.org/10.1556/AVet.54.2006.3.4>
47. Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H. and Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material, *Angewandte Chemie International Edition*, 44. 3358–3393.
48. Kung Jr, L.; Treacher, R.J.; Nauman, G.A.; Smagala, AM.; Endres, K.M. and Cohen, M.A. (2000). The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 83: 115-122.
49. Lata, O. (2011). Evaluación de Enzimas Exógenas en la Alimentación de Cerdos en la Etapa de Crecimiento. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Tesis de Grado. 1-85.
50. Lavoine, N.; Desloges, I.; Dufresne, A. and Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose—its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate polymers*, 90(2), 735-764.

51. Lee-Rangel, H.A.; Mendoza, G.D.; Pinos-Rodríguez, J.M.; Bárcena, R.; Plata, F. and Ricalde, R. (2006). Effect of an exogenous glucoamylase during different periods of time on performance of lambs fed sorghum based diets. *Journal of Applied Animal Research*, v. 29, n.2, p. 141-144.
52. Levy, I.; Shani, Z. and Shoseyov, O. (2002). Modification of polysaccharides and plant cell wall by endo-1,4-beta-glucanase and cellulose-binding domains. *Biomol Eng.* 19(1):17-30.
53. Lewis, L.A.; Hunt, C.W.; Sanchez, W.K.; Treacher, R.; Pritchard, G.T. and Feng, P. (1996). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J Anim Sci* 74, 3020-3028.
54. Martínez, R.J.M. (1997). El Uso de Enzimas en Dietas para Rumiantes. *Biotechnology in feed industry*.
55. Martínez, R.J.M. (2018). Selección de hongos filamentosos con potencial para la degradación de lignocelulosa aislados de desechos agroindustriales de café e higuera.
56. Martínez-Avalos, M.M.; Mendoza, G.D.; Cobos, M.A.; González, S.; García-Bojalil, C.M and Bárcena, R. (1998). Nutritional evaluation of cattle manure silage with molasses for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70: 257-264.
57. Mathews, C.K.; Van Holde, K.E. and Ahern, K.G. (2002). *Bioquímica*. Pearson Education. Capítulo 11 "Enzimas catalizadores biológicos" pp 403-461.
58. McAllister, T.A.; Stanford, K.; Bae, H.D.; Treacher, R.J.; Hristov, A.N.; Baah, J.; Shelford, J.A. and Cheng, K.J. (2000). Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth performance and carcass traits of lambs. *Can J Anim Sci* 80, 35-44.
59. McKee, T.; McKee, J. R. and González de Buitrago, J.M. (2003). *Bioquímica: la base molecular de la vida*. Capítulo 6 "Enzimas". Pp. 161-199.
60. McSweeney, C.S.; Dalrymple, B.P.; Gobius, K.S.; Kennedy, P.M.; Krause, D.O.; Mackie, R.I. and Xue, G.P. (1999). The application of rumen biotechnology to improve the nutritive value of fibrous feedstuffs: pre-and post-ingestion. *Livestock Production Science*, 59(2-3), 265-283.

61. Mendoza-Martínez, G.D. (2000). Uso de Enzimas Exógenas en la Alimentación de Rumiantes. Memorias. VIII Congreso internacional de Nutrición Animal. UACH. Facultad de Zootecnia. Chihuahua, Méx. pp. 3-14.
- 62. Mendoza, G.D.; Britton, R.A. and Stock R.A. (1993). Influence of Ruminant Protozoa on Site and Extent of Starch Digestion and Ruminant Fermentation. J. Anim. Sci. 71: 1572-1578.**
63. Meraz, E.; Loera, O.; Mendoza, G.; Meneses, M.; Cobos, M.; Hernández, D.; Ángeles, S.; Melgarejo, L. y Pinos, J. (2012). Efecto del pH y del líquido ruminal clarificado en la estabilidad de un producto enzimático fibrolítico. Agrocienca, 46(4): 347-358.
- 64. Mertens, D. (1994). Regulation of forage intake. *Forage quality, evaluation, and utilization*, 450-493.**
- 65. Miranda, R.L.A.; Mendoza, M.G.D.; Bárcena-Gama, R.; González, M.S.S.; Ferrara, R.; Ortega, C.M.E. and Cobos, P.M.A (1996). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* or *Aspergillus oryzae* cultures and NDF level on parameters of ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63: 289-296.**
66. Moral, S. ; Ramírez-Coutiño, L.P. y De Jesús García-Gómez, M. (2015). Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de los alimentos.
- 67. Morgavi, D.P.; Nsereko, V.L.; Rode, L.M.; Beauchemin, K.A.; McAllister, T.A. and Wang, Y. (2000). Effect of Trichoderma feed enzyme on growth and substrate degradation by *Fibrobacter succinogens* F85. *Reprod Nuir Dev* 40: 219.**
- 68. Neiva, M.C. (2018). Avaliação de enzimas exógenas na nutrição de ovinos.**
69. Nelson, D.L. y Cox, M.M. (2015). Lehninger: principios de bioquímica. Capítulo 6 "Enzimas" pp. 190-237.
- 70. Officer, D.I. (2000). Feed enzymes. In, *Farm animal metabolism and nutrition*, JPF Mello, Ed. CABI Publishing, Edinburgh, UK. pp 405-426.**
71. Ortega, C.M.E.; Carranco, M.E.; Mendoza, G. y Castro, G. (1998). Composición química de la guácima (*Guazuma ulmifolia* Lam) y su potencial en la alimentación de rumiantes. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 32: 411-415.

72. Pandey, A.; Webb, C.; Soccol, C.R. and Larroche, C. (Eds.). (2006). **Enzyme technology. New Delhi:: Springer.**
73. Partida, J.A.; Braña-Varela, D.; Jiménez-Severiano, H.; Ríos-Rincón, F.G. y Rodríguez-Germán, B. (2013). Manual de Producción de Carne Ovina. Libro Técnico No. 5. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.*
74. Pauly, M. and Keegstra, K. (2008). **Cell wall carbohydrates and their modifications as a resource for biofuels, The Plant Journal, 54 559-568**
75. Pérez, J.; Muñoz-Dorado, J.; De la Rubia, T. and Martínez, J. (2002). **Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. Int Microbiol. 5(2):53-63.**
76. Pérez, L.; Teymouri, F.; Alizadeh, H. and Dale, B.E. (2005). **Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass: characterization of pretreated corn stover. Appl Biochem Biotechnol. 121-124: 1081-99.**
77. Phakachoed, N.; Suksombat, W.; Colombatto, D. and Beauchemin, K.A. (2013). **Use of fibrolytic enzymes additives to enhance in vitro ruminal fermentation of corn silage. Livestock science, 157(1), 100-112.**
78. Pinos-Rodríguez, J.M.; González, M.S.S.; Mendoza, M.G.D.; Bárcena, G.R. y Cobos, P.M. (2002). Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la digestibilidad in vitro de la pared celular del heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o de ballico (*Lolium perenne*). *Interciencia* 27: 28-32.
79. Ponce, T. y Pérez, O. (2002). Celulasas y xilanasas en la industria. 1-5. Recuperado de: <https://es.scribd.com/doc/55903085/XILANASAS-Y-CELULASAS>
80. Prade, R.A. (1996). **Xylanases: from Biology to Biotechnology. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 13: 101-132.**
81. Prinsen, P. (2010). Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas, in, CSIC - Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS) Universidad de Sevilla.

82. Razo-Barrera, J.Y. (2018). Influencia de enzimas exógenas O *Saccharomyces cerevisiae* en dietas fibrosas sobre la fermentación ruminal y producción de gas in vitro en ovinos (Bachelor's thesis).
- 83. Regensbogenova, M.; Kisidayova, S.; Michalowski, T.; Javorsky, P.; Moon-Van Der Staay, S.Y.; Hackstein, J.H.P. and Pristas, P. (2004). Rapid identification of rumen protozoa by restriction analysis of amplified 18S rRNA gene.**
84. Relling, A.E. y Mattioli, G.A. (2003). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Fac. Ciencias Veterinarias. Argentina: Universidad Nacional de La Plata
- 85. Rinaldi, R. and Schuth, F. (2009). Acid hydrolysis of cellulose as the entry point into biorefinery schemes, ChemSusChem, 2. 1096-1107.**
86. Rojas, M.P. (2011). Uso estratégico de enzimas en la nutrición animal, 1-10.
- 87. Rojo, R.; Kholif, A.E.; Salem, A.Z.M.; Elghandour, M.M.Y.; Odongo, N.E.; Montes de Oca, R. and Alonso, M.U. (2015). Influence of cellulase addition to dairy goat diets on digestion and fermentation, milk production and fatty acid content. The Journal of Agricultural Science, 153(8), 1514–1523. <https://doi.org/10.1017/S0021859615000775>**
- 88. Rubin, E.M. (2008). Genomics of cellulosic biofuels, Nature, 454. 841-845.**
- 89. Saha, B.C. (2003). Hemicellulose bioconversion. J Ind Microbiol Biotechnol. 30(5): 279-91.**
- 90. Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnol Adv. 27(2):185-94**
91. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2019). Caprinos y ovinos una ganadería de mucha lana, Citado en: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/las-cabras-y-ovejas-en-la-ganaderia-mexicana?idiom=es>
92. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (SIAP). [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/655390/Inventario\\_2020\\_ovino.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/655390/Inventario_2020_ovino.pdf)

93. Shin, E.C.; Cho, K.M.; Lim, W.J.; Hong, S.Y.; An, C.L.; Kim, E.J. and Yun, H.D. (2004). Phylogenetic analysis of protozoa in the rumen contents of cow based on the 18S DNA sequences. *Journal of applied microbiology*, 97(2), 378-383.
94. Sousa, J.T.L.D. (2019). Utilização de enzimas Exógenas na nutrição de ovinos.
95. Spring, P.; Filer, K. y Rheinheimer, C. (1999). Las enzimas: Métodos y aplicaciones en la industria de la alimentación animal. *Biotecnología en la industria de la alimentación animal*. Alltech México S.A de C.V. Vol. VII.
96. Srivastava, V.; McKee, L.S. and Bulone, V. (2017). *Plant Cell Walls*. In: John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.eis.net> [doi: 10.1002/9780470015902.a0001682.pub3]
97. Sunna A. and Antranikian, G. (1997). Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17: 39-67.
98. Sutton, J.D.; Phipps, R.H.; Beever, D.E.; Humphries, D.J.; Hartnell, G.F.; Vicini, J.L. and Hard, D.L. (2003). Effect of Method of Application of a Fibrolytic Enzyme Product on Digestive Processes and Milk Production in Holstein-Friesian Cows. *J Dairy Sci* 86, 546-556.
99. The Nobel Prize in Chemistry (1907), Nobel Laureate Biography of Eduard Buchner at [nobelprize.org](http://nobelprize.org)  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1907/buchner-bio.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1907/buchner-bio.html)
100. Van Lier, E. y Regueiro, M. (2008). Digestión en retículo-rumen. Montevideo, (UY): Universidad de la República.
101. Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. Second Edition, Cornell University Press. Ithaca. 475 pp.
102. Varlyakov, I.; Grigorova, N. and Slavov, T. (2010). Effect of Hostazym C100 on growth performance and some hematological and ethological indexes of yearling rams. *Bulg. J. Agri. Sci*, 16, 659-664.
103. Visse, E.M.; Falkoski, D.L.; Almeida, M.N.; Maitan-Alfenas, G.P. and Guimarães, V.M. (2013). Production and application of an enzyme blend from *Chrysosporthe cubensis* and *Penicillium pinophilum* with potential for hydrolysis of sugarcane bagasse. *Bioresource Technology* 144: 587–594.

104. Voet, D. y Voet, J.G. (2006). Bioquímica. Ed. Médica Panamericana. Capítulo 12 “introducción a las enzimas” pp. 342-355
105. Withers, S. and Williams, S. (2018). Glycoside hydrolases. En: <[http://www.cazypedia.org/index.php/Glycoside\\_hydrolases](http://www.cazypedia.org/index.php/Glycoside_hydrolases)>. Consultado el 2 de diciembre de 2018.
106. Yang, W.Z.; Beauchemin, K.A. and Rode, L.M., (1999). Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. J Dairy Sci 82, 391-403.