



Universidad y Ciencia

ISSN: 0186-2979

ciencia.dip@ujat.mx

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Rojo-Rubio, R; Mendoza-Martínez, GD; Montañez-Valdez, OD; RebollarRebollar, S; Cardoso-Jiménez, D; Hernández-Martínez, J; GonzálezRazo, FJ
Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes
Universidad y Ciencia, vol. 23, núm. 2, 2007, pp. 173-182
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Villahermosa, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=15423208>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

 redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ENZIMAS AMILOLÍTICAS EXÓGENAS EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES

Exogenous amylolytic enzymes in the feeding of ruminant feeders

R Rojo-Rubio ✉, GD Mendoza-Martínez, OD Montañez-Valdez, S Rebollar-Rebollar, D Cardoso-Jiménez, J Hernández-Martínez, FJ González-Razo

(RRR) (SRR) (DCJ) (JHM) (FJGR) CU-UAEM-Temascaltepec Universidad Autónoma del Estado de México, México. dr_rojo70@yahoo.com.mx. (GDMM) Universidad Autónoma Metropolitana -Unidad Xochimilco. (ODMV) Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara

Ensayo recibido: 24 de mayo de 2006, **aceptado:** 06 de julio de 2007

RESUMEN. Recientemente, las enzimas exógenas se están usando para mejorar la degradabilidad ruminal de la fibra dietaria y del almidón presente en los alimentos utilizados en la alimentación de rumiantes. Estas enzimas representan una alternativa para incrementar la productividad y reducir los costos por alimentación, ya que se podría reducir el uso de granos, debido al mayor aporte de energía que realizarían los sustratos fibrosos. La actividad amilolítica de los microorganismos ruminales se da principalmente por la acción de enzimas extracelulares, las que en cocultivo han manifestado su máximo potencial para digerir el almidón. Diversas investigaciones han demostrado que la digestión ruminal del almidón es incompleta y más para aquellos granos de tasas de digestión lenta como el sorgo. Esta digestión incompleta es el resultado de la interacción entre las características del almidón (tipo de grano), condiciones fisicoquímicas del rumen y las enzimas amilolíticas microbiales. Las enzimas exógenas, producto de la biotecnología, actúan en intervalos amplios de pH (4 - 9) y temperatura (30 - 90 °C), las cuales podrían actuar sinérgicamente con las bacterias microbiales del rumen e incrementar la degradabilidad ruminal del almidón. Los avances en el uso de enzimas amilolíticas exógenas para incrementar el aprovechamiento del valor energético de los granos utilizados en la elaboración de alimentos para rumiantes, es una excelente alternativa para mejorar la producción animal.

Palabras clave: enzimas, amilolíticas, rumiantes.

ABSTRACT. Exogenous enzymes are being used to improve the ruminal digestion of fiber and starch in feeds used for feeding ruminants. These enzymes may increase productivity and reduce the costs of feeding, reducing the use of grains in the diet and providing greater energy through the use of fibrous substrates. The amylolytic activity of the ruminal microorganisms occurs primarily through the action of extracellular enzymes that have shown a high capacity to digest starch in cocultures. Several studies have shown that ruminal starch digestion is incomplete, particularly in the case of grains with a slow rate of digestion such as sorghum. This incomplete digestion results from the interactions among the characteristics of the starch (type of grain), the physicochemical conditions in the rumen, and the microbial amylolytic enzymes. The exogenous enzymes, produced by biotechnology, act throughout wide pH (4-9) and temperature (30-90 °C) ranges, and may act synergically with the microbial bacteria in the rumen, increasing the ruminal degradability of starch. Advances in the use of exogenous amylolytic enzymes to increase the energetic value of the grains used to elaborate ruminant feeds is an excellent option to improve animal production.

Key words: Enzymes, amylolytic, ruminant.

INTRODUCCIÓN

Para el año 2025 se espera que la actual población humana se incremente en 60 % y la superficie urbanizada aumente alrededor del 70 - 80 %, los que en forma conjunta, producirán un aumento considerable de la demanda de alimentos (Delgado *et al.* 1999). La actual producción de alimentos de origen animal, enfrentará en el corto plazo un

importante desafío para aumentar de manera considerable las actuales producciones pecuarias, las que deberán alcanzar el 18 % en la carne bovina; 45 % la de ovinos, caprinos, y porcinos; 68 % aves y 45 % la producción de leche.

Conjuntamente para ese mismo año, la demanda de fuentes energéticas para la alimentación animal será significativa mayor, ya que alcanzará el doble de la que se produce actualmente. Esta ma-

yor demanda en la producción de alimentos de origen animal debe realizarse dentro del concepto de sustentabilidad, es decir, incrementando la productividad por animal y no el rendimiento por unidad de superficie (Ramos *et al.* 1998). Esta situación ha hecho que los científicos de diversas disciplinas evalúen distintas alternativas para hacer un uso más eficiente de los alimentos empleados en la alimentación animal, particularmente los granos y forrajes.

En la alimentación de rumiantes se han estado investigando diversas alternativas hace tiempo, tales como la selección de granos y forrajes de mayor valor nutricional (Bañuelos *et al.* 1995), la manipulación de los microorganismos ruminales (Mendoza *et al.* 1993), el uso de aditivos que modifiquen el patrón de la fermentación ruminal (Miranda *et al.* 1996), el desarrollo de prácticas de alimentación más eficientes (Mendoza, datos no publicados), el reciclaje de excretas (Martínez-Avalos *et al.* 1998), el empleo de alimentos no convencionales (Ortega *et al.* 1998), el uso de tratamientos químicos o biológicos en los alimentos (Martínez *et al.* 1995; Montañez *et al.* 2004) y más recientemente el uso de enzimas exógenas para incrementar la digestibilidad de las paredes celulares (Pinos-Rodríguez *et al.* 2002a) y/o del almidón (Mora *et al.* 2002; Buendía *et al.* 2003; Gutiérrez *et al.* 2005a; Gutiérrez *et al.* 2005b; Rojo *et al.* 2005).

ALMIDÓN

Uno de los principales factores que afecta la productividad de los rumiantes alimentados con dietas altas en granos, es la digestión ruminal del almidón (Huntington 1997), por lo que se han desarrollado diversos procesos para incrementarla y consecuentemente aumentar su valor energético (Owens *et al.* 1997). Estudios realizados en ganado lechero han demostrado que el procesamiento de granos mejora la disponibilidad y utilización del almidón, logrando efectos benéficos en la producción de leche al incrementar su contenido de energía neta para lactancia en alrededor del 20 %.

Durante muchos años, se discutió la posibilidad de mejorar la respuesta animal mediante la manipulación de la digestión intestinal del almidón (Owens *et al.* 1986) y la modificación de la capacidad pancreática para degradarlo enzimáticamente.

Sin embargo, Huntington (1997) registró que existen límites biológicos para transportar la glucosa a través de la pared intestinal, lo cual marcó la pauta para pensar en incrementar la degradación ruminal del almidón, sin dejar de lado los problemas metabólicos como la acidosis (Britton & Stock 1986).

La tasa y extensión de la degradación ruminal del almidón está determinada por la relación intrínseca de varios factores alimentarios, entre los que se incluyen el tipo o fuente de almidón, la composición química y nutritiva de la dieta, la cantidad de alimento consumido por unidad de tiempo, las alteraciones mecánicas (grado de procesamiento y masticación) y fisicoquímicas (grado de hidratación y gelatinización), así como la adaptación de los microorganismos ruminales a la dieta. Los factores más investigados para controlar la tasa y extensión de la degradación ruminal del almidón han sido el manejo del consumo de alimento, el procesamiento de los granos y el uso de aditivos alimenticios (Huntington 1997).

Existen diferencias en la intensidad y la velocidad de la degradación ruminal del almidón, tanto dentro como entre granos y se han registrado ventajas del procesamiento de aquellos granos con menor degradación, como es el sorgo y el maíz. Esto es importante, pues en México el sorgo y el maíz constituyen los principales granos usados en la alimentación de los bovinos (Mendoza & Ricalde 1993a, 1993b). Los procesos más estudiados han sido el molido, rolado en seco y rolado a vapor (Owens *et al.* 1997). Los estudios con microorganismos ruminales han demostrado que las bacterias constituyen los principales microorganismos responsables de la degradación ruminal del almidón (Mendoza *et al.* 1993). De la interacción entre las propiedades del almidón (tipo de grano) y las enzimas amilolíticas bacterianas resultó una degradación ruminal limitada del almidón de los granos, particularmente en el sorgo (Stock *et al.* 1987), lo cual marcó las posibilidades de uso de diferentes tipos de tratamientos, especialmente el enzimático, para mejorar la degradación ruminal del almidón. Para ejemplificar lo anteriormente señalado, en México se ha demostrado que la digestión ruminal del sorgo varió desde 50 hasta 80 % cuando se evaluaron 22 variedades (Durán *et al.* datos no publicados).

ENZIMAS

Las enzimas exógenas son aquellas que no pertenecen al sistema digestivo endógeno del animal, por lo que deben ser incorporadas en el alimento. Las enzimas digestivas amilolíticas están involucradas en todas las reacciones metabólicas que implican la conversión de las moléculas complejas de almidón (amilasa y amilopectina) a sus constituyentes más simples, como ejemplos glucosa, maltosa e isomaltosa.

Las enzimas exógenas representaron una importante alternativa para incrementar la productividad y reducir los costos en los sistemas de producción de rumiantes (Schingoethe *et al.* 1999).

Durante las últimas dos décadas, la tecnología de producción de enzimas, y en especial las de origen microbiano, ha permitido que estas sean actualmente comercializadas para diversos usos industriales (Klibanov 1983). Actualmente, 515 microorganismos del género de *Bacillus* destacan entre los distintos microorganismos estudiados y modificados genéticamente para la producción de amilasas de uso industrial (Declerk *et al.* 1997; Castro *et al.* 1993a, 1993b). Particularmente, *Bacillus licheniformis* sobresale, ya que degradó un amplio tipo de carbohidratos (Bose & Das 1996; Shariati *et al.* 1995).

A la fecha, las enzimas exógenas que con mayor frecuencia se han utilizado en la alimentación de rumiantes son las fibrolíticas. La aplicación de estas enzimas a la dieta mejoró la unión con el sustrato e incrementa la colonización microbiana del alimento, además de aumentar la resistencia de estas enzimas a la proteólisis ruminal microbiana y prolongar su tiempo de vida media en el rumen (Yang *et al.* 1998). Así, diversos estudios *in vitro* han mostrado efectos benéficos de las enzimas fibrolíticas sobre la degradación ruminal de los forrajes (Feng *et al.* 1996; Beauchemin *et al.* 1998; Titi *et al.* 1998; Tricarico *et al.* 1998; Pinos-Rodríguez *et al.* 2001). También, estas enzimas han producido efectos positivos importantes sobre la producción de leche de ganado especializado (Dawson & Tricarico 1999; Schingoethe *et al.* 1999; Pinos-Rodríguez & González 2001), lo cual ha demostrado que el uso de enzimas fibrolíticas permite aprovechar una mayor cantidad de energía de la fracción de la fibra po-

tencialmente degradable en el rumen y así reducir la cantidad de granos incorporados en las raciones de vacas lecheras. A diferencia, del efecto de las enzimas fibrolíticas en el ganado productor de carne alimentado con alta proporción de granos ha sido menos consistente (Beauchemin *et al.* 1995; Zinn & Salinas 1999). Este resultado ha sido atribuido a las condiciones de acidez del rumen que limitan su actividad enzimática, la magnitud de los cambios en la fracción fibrosa es poco relevante por la cantidad escasa de fibra de la ración, la degradación potencial de estas enzimas en el rumen y la falta de contacto de la enzima con el sustrato, como también a los métodos de aplicación (Lewis *et al.* 1996; Harris 1998).

Enzimas amilolíticas

La actividad amilolítica de los microorganismos ruminales se da principalmente por medio de la acción de enzimas extracelulares, como es el caso de las provenientes de *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter amylophilus*, *Prevotella ruminicola* y *Selenomonas ruminantium*, las que en cocultivo manifestaron su máximo potencial para degradar el almidón (Cotta 1988). Aún así, la degradabilidad ruminal de granos, como la del sorgo, alcanzó solamente el 50 % (Britton & Stock 1986), la cual se complementa con una digestión adicional en el intestino delgado. Las condiciones de temperatura, pH y calidad del mezclado de la dieta en el líquido ruminal, entre otros factores, condicionan la efectividad del accionar de las enzimas amilolíticas extracelulares de las bacterias ruminales, por lo que existiría la posibilidad de que otras enzimas amilolíticas exógenas puedan actuar sinérgicamente al adicionarse al rumen.

Además, diferentes investigadores han estudiado las enzimas fibrolíticas para incrementar la digestibilidad de la celulosa (Feng *et al.* 1992a; 1992b; Beauchemin *et al.* 1995; Pinos-Rodríguez *et al.* 2002b). El uso de las enzimas amilolíticas termoestables, también tienen características potenciales para usarse como aditivo para mejorar la digestión ruminal del almidón en rumiantes. Las amilasas del *B. licheniformis* actuaron por difusión en los gránulos de almidón (Helbert *et al.* 1996) y presentaron una gran actividad en un intervalo de pH entre 4 y 9, y de temperatura entre 30 a 90 °C con un ópti-

mo de 76 °C (Ingle & Erickson 1978; Dobrevá et al. 1994). El rumen tiene condiciones de pH cercanas a la neutralidad con una temperatura constante de 39 °C, por lo que las amilasas industriales termoestables podrían actuar sinérgicamente con las enzimas producidas por los microorganismos ruminales y con la acción de ambos tipos de enzimas incrementar la degradabilidad ruminal del almidón.

Es importante mencionar que existen varias cepas de *B. licheniformis* (Ingle & Erickson, 1978) y que algunas pueden tener condiciones óptimas de crecimiento, más cercanas a las características físico-químicas del rumen. Por otro lado, para tener una idea de la capacidad amilolítica de este microorganismo, está se encuentra en el intervalo de 10 a 100 mM seg⁻¹ (Dobrevá et al., 1994), en comparación con la de los microorganismos del rumen, cuya actividad amilolítica es de 0.06 a 20 mM min⁻¹ (Cotta 1988; Noziere & Michalet-Doreau 1997). Mientras que, la capacidad amilolítica en los protozoarios es de 0.08 mM min⁻¹ y la actividad extracelular de los hongos anaeróbicos del rumen está entre 2.7 a 4.9 mM min⁻¹ (Mendoza et al. 1995), lo que indica que esta enzima tendría una actividad al menos equivalente a 80 veces a la de la microbiota ruminal. Rojo et al. (2005) registraron que la amilasa del *B. licheniformis* tuvo una actividad de 4.19 mM min⁻¹, una glucoamilasa industrial de *Aspergillus niger* 1.95 mM min⁻¹ y la de los microorganismos ruminales de 0.06 mM min⁻¹, lo que representó que la amilasa de *B. licheniformis* y la glucoamilasa de *A. niger* fueron 69 y 32 veces más activas que las enzimas microbiales encontradas en condiciones naturales del rumen, respectivamente.

Uso potencial de las enzimas amilolíticas exógenas en rumiantes

A pesar de que las enzimas amilolíticas han recibido poca atención, Romero et al. (datos no publicados) demostraron que la respuesta productiva en términos de ganancia de peso de novillos mantenidos en corrales de engorda podía mejorarse por la adición de una mezcla de enzimas exógenas que incluían a proteasas, amilasas y celulasas, las cuales fueron asperjadas sobre el alimento. Dado que este trabajo incluyó diferentes tipos de enzimas, se supone que las amilasas tuvieron un impacto positivo.

En la nutrición de rumiantes las amilasas ter-

moestables se usan principalmente en el análisis del contenido de almidón y en la determinación del contenido de paredes celulares en alimentos ricos en almidón, de las cuales algunas de ellas presentan características potenciales para usarse como aditivo dietario en rumiantes, como es el caso de la amilasa del *B. licheniformis* (Rojo et al. 2005). Es importante mencionar que existen varias cepas de *B. licheniformis* (Ingle & Erickson 1978) y que algunas pueden tener condiciones más cercanas a las características físico-químicas del rumen. Estudios *in vitro* indican que la alfa-amilasa de *B. licheniformis* y *A. niger* pueden incrementar la digestibilidad del almidón contenido en los cereales como el de sorgo y de maíz (Rojo et al. 2001; Rojo et al. 2005) y que además la respuesta dependerá del método de aplicación al sustrato (Tabla 1).

Las amilasas termoestables de *B. licheniformis* y *A. niger* son tanto del tipo endo-amilasas como exo-amilasas, las que actúan por difusión a través del gránulo del almidón y podrían hidrolizar las células de aleurona inmersas en el ectodermo donde se encuentra el almidón. Las amilasas actuaron en el grupo final no reductor del polímero de amilasa o amilopectina, específicamente sobre los enlaces α-1,4 o α-1,6 glucosídicos, y produjeron desde polisacáridos de alto peso molecular hasta residuos de cinco moléculas de glucosas, maltotriosas, maltosas y glucosas (Ingle & Erickson 1978; Helbert et al. 1996). Estos compuestos podrían ser utilizados como sustrato por microorganismos ruminales tales como: *Megasphaera elsdenii*, *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium*, *Dasytricha ruminantium* y *Entodinium caudatum* (Coleman 1986), lo cual se traduciría en una mayor degradación ruminal del almidón dietario.

Las alfa-amilasas termoestables de *B. licheniformis* presentan actividad alta a pH de 4 a 9 (óptimo de 7.0) y temperaturas de 30 a 90 C (Dobrevá et al. 1994; Bose & Das 1996) con un óptimo de 76 C (Ingle & Erickson 1978). Aún cuando las condiciones físico-químicas del rumen no son las óptimas, aunado su potencial degradación por acción de las proteasas microbianas, los resultados obtenidos han demostrado que estas amilasas pueden ser útiles y podrían actuar sinérgicamente con las enzimas extracelulares sintetizadas por las bacterias amilolíticas presentes en el rumen.

Tabla 1. Dosis óptima y método de aplicación de *Bacillus licheniformis* y *Aspergillus niger* sobre la desaparición *in vitro* de la materia seca del grano de maíz. Medias en la misma columna con diferente literal son diferentes ($p < 0.05$). Fuente: Rojo *et al.* (2001)

Table 1. Optimal dose and application method of *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on *in vitro* starch digestion of corn grain. Averages in the same column with dissimilar letter are different ($p < 0.05$). Source: Rojo *et al.* (2001).

Origen de la enzima	Nivel (μL)	Método	Digestibilidad
<i>B. licheniformis</i>	350	Asperjado	73.08 ^a
<i>B. licheniformis</i>	350	Directo al tubo	69.74 ^b
<i>A. niger</i>	250	Asperjado	67.43 ^c
<i>A. Níger</i>	250	Directo al tubo	64.57 ^d
Testigo	0		60.36 ^e

Estos cambios observados *in vitro* indican una acción sinérgica entre las enzimas producidas por los microorganismos ruminales y la enzima adicionada. Esta sinergia provocó un incremento máximo del 20 % en la degradación ruminal del almidón (Mendoza *et al.* 1998). En los actuales procesamientos a que son sometidos los granos de cereales, la degradabilidad ruminal del almidón ha aumentado hasta el 10 % (Huntington 1997).

Esta respuesta aditiva ha sido confirmada con estudios *in situ* (Rojo *et al.* 2005) (Tabla 2).

Tabla 2. Degradabilidad "*in situ*" de una dieta completa para bovinos tratada con dos enzimas amilolíticas. Medias en la misma columna con diferente literal, son diferentes, Tukey ($p < 0.05$) Fuente: Rojo *et al.* (2001).

Table 2. *In situ* digestibility of an integral diet treated with two amylolytic enzymes. Averages in the same column with dissimilar letter are different, Tukey ($p < 0.05$) Source: Rojo *et al.* (2001).

Origen y nivel de enzima (g proteína kg ⁻¹ sorgo)	Desaparición, %
<i>Bacillus licheniformis</i>	
2.90	65.67 ^a
1.45	64.77 ^a
<i>Aspergillus niger</i>	
2.90	64.36 ^a
1.45	60.80 ^b
Testigo	
0	60.78 ^b
Error estándar	2.80

Así, la digestibilidad de la materia seca de una dieta completa, que incluyó 70, 17, 10, 2 y 1 % de grano de sorgo, paja de avena, melaza, urea y minerales respectivamente, incrementó ($p < 0.05$) su digestibilidad en 4 %, cuando se incluyeron dosis de 1.45 y 2.90 g de proteína de la enzima de *B.*

licheniformis kg⁻¹ MS y solamente existió respuesta con 2.90 g de proteína kg⁻¹ MS de la glucoamilasas *A. niger*.

La menor respuesta obtenida con la glucoamilasa proveniente del hongo de *A. niger* se explica porque es una enzima acídica y su máxima capacidad para degradar almidón se expresa a pH 4.5, a una temperatura de 50 °C.

Los efectos positivos del uso de las enzimas amilolíticas fueron demostrados por Rojo *et al.* (2005), quienes en estudios "*in vivo*" con borregos alimentados con una dieta a base de sorgo (70 %) tratado con estas enzimas produjeron una disminución en el consumo de materia seca, materia orgánica y almidón por efecto de *B. licheniformis* (Tabla 3). Esta respuesta se asoció con el incremento en la digestión ruminal del almidón en los granos tratados. También, esta respuesta dependerá del tiempo de vida media que pudieran tener las enzimas amilíticas exógenas en el rumen, ya que existe la posibilidad de que las proteasas ruminales las inactiven al hidrolizarlas. Sin embargo, existen técnicas biotecnológicas (Klibanov 1983) que puede alterar la configuración de las enzimas y así intentar aumentar la resistencia a su degradación por acción de las proteasas ruminales.

Además, la tecnología para inmovilizar las enzimas existe, ya sea por medio de adsorción, enlaces covalentes, captura física con membranas de celulosa, y otros procesos, que permitirían incorporarlas a condiciones de uso práctico en el procesamiento de alimentos balanceados. Gutiérrez *et al.* (2005b) registraron estabilidad de alfa-amilasas por períodos de hasta 60 días al estar mezclada con granos. Estos

Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados del consumo, digestibilidad y fermentación ruminal de borregos alimentados con dietas basadas en grano de sorgo tratado con alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* (^a Efecto lineal del nivel de enzima, ^b Efecto cuadrático del nivel de enzima. Fuente: Rojo et al. (2005)
Table 3. Least square means of feed intake, digestibility and ruminal fermentation of lambs fed with diets based on sorghum grain treated with alpha amilase of *Bacillus licheniformis* (^a Lineal effect of the enzyme level, ^b Quadratic effect of the enzyme level). Source: Rojo et al. (2005).

Variable	Nivel de enzima (g kg ⁻¹)			EE	Contrastes	
	0	1.45	2.90		Lineal ^a	Cuadrático ^b
Consumo, g d ⁻¹						
Materia seca	1408	1341	1333	19.1	0.04	0.12
Materia orgánica	1339	1275	1259	18.2	0.04	0.07
Almidón	700	667	663	32.9	0.81	0.33
Digestión ruminal, %						
Materia seca	39.6	32.9	41.1	4.1	0.78	0.66
Materia orgánica	43.6	42.7	46.1	3.9	0.87	0.55
Almidón	62.1	70.9	82.1	5.0	0.26	0.04
Digestión total						
Materia seca	68.5	69.4	72.1	0.9	0.52	0.03
Materia orgánica	70.7	71.8	74.4	0.9	0.45	0.04
Almidón	95.0	95.6	97.5	0.8	0.65	0.07
AGV totales mM	74.8	59.2	59.3	2.5	0.01	0.01
Acetato, %	57.3	56.4	56.9	0.7	0.36	0.98
Propionato, %	26.5	33.3	24.2	0.5	0.01	0.01
Butirato, %	16.0	10.2	18.8	0.5	0.01	0.01
Lactato, mM	0.16	0.22	0.15	0.01	0.02	0.09
pH ruminal	6.15	6.36	6.36	0.05	0.01	0.11
N-NH ₃ mg dL ⁻¹	10.88	8.91	5.03	0.97	0.15	0.01
Protozoarios × 10 ³ mL ⁻¹	490	373	250	18	0.01	0.01

estudios indicaron que las enzimas de *B. licheniformis* y *A. niger* pueden estar glucosiladas, lo cual redujo su degradación por parte de las proteasas ruminales y las hicieron aditivos viables en los sistemas de producción bovina intensiva de leche o de carne (Gutiérrez et al. 2005b).

DISCUSIÓN

Ante la creciente demanda de alimentos de origen animal por la población humana, debido al incremento demográfico esperado (Delgado et al. 1999), las diversas alternativas propuestas en distintas investigaciones para incrementar la productividad animal han dado diversos resultados. Cuando se trata de sistemas de producción donde la base de la alimentación son los granos, la digestión del almidón resulta de suma importancia, ya que más del 70 % del peso seco de los cereales lo representa este polisacárido (Huntington 1997). Desde los estudios publicados por Owens et al. (1986) se trató de maximizar el transporte de la glucosa a nivel de intestino delgado, y dado que de manera natural

existen límites biológicos para aprovechar al máximo la energía a nivel de tracto posterior, se marcó la pauta para pensar en manipular la digestión ruminal del almidón en rumen (Britton & Stock 1986). Entre los procesos más estudiados para controlar la tasa y extensión de la degradación ruminal del almidón están el manejo del consumo de alimento, procesamiento de los granos y más recientemente el uso de aditivos alimenticios. Sin embargo, es necesario considerar que el grado de aprovechamiento del almidón de los granos para obtener el máximo de energía de los mismos, está determinada por la relación intrínseca de varios factores nutricionales; dentro de los que se encuentran el tipo o fuente de la dieta del almidón, composición química y nutritiva de la dieta, la cantidad de alimento consumido por unidad de tiempo, alteraciones mecánicas (grado de procesamiento y masticación) y fisicoquímicas (grado de hidratación y gelatinización) y finalmente el grado de adaptación de los microorganismo ruminales al sustrato que encuentran en el rumen para degradarlo. En este sentido, cuando se menciona la posibilidad de mejorar la digestión ruminal

del almidón, además de contemplar todos los factores anteriormente descritos; es conveniente analizar la capacidad que tienen los microbios del rumen para aprovechar de manera eficiente la energía contenida en los granos, ya que se ha demostrado que las bacterias constituyeron los principales microorganismos responsables de la degradación ruminal del almidón (Mendoza *et al.* 1993). La degradación ruminal limitada del almidón de los granos, particularmente en el sorgo se ha explicado por la interacción entre las propiedades del almidón (tipo de grano) y las enzimas amilolíticas bacterianas (Stock *et al.* 1987), lo cual marca la posibilidad de usar diferentes tipos de tratamientos, especialmente el enzimático, para mejorar la degradación ruminal del almidón. En México, el sorgo forma parte importante de las dietas de los diversos animales de interés zootécnico y que precisamente este grano presenta una gran variabilidad de la disponibilidad de la energía contenida en el almidón con un intervalo desde 50 a 80 % de digestión ruminal (Durán *et al.* datos no publicados). En este sentido la utilización de enzimas exógenas del tipo de las fibrolíticas y amilolíticas constituyen una

alternativa viable en el corto plazo para incrementar el aprovechamiento de la energía contenida en los granos y forrajes en la alimentación de rumiantes. Los antecedentes planteados aquí, demuestran el potencial de la utilización de enzimas amilolíticas termoestables con aplicaciones en la alimentación animal, En un futuro, con el estudio de otras enzimas, se pueden considerar los tratamientos de los desechos lignocelulósicos, mediante la degradación aeróbica de la lignina, entre otros. El conocimiento básico de los mecanismos de acción de las enzimas así como los factores que modifican su actividad, resulta ser clave para obtener mayor cantidad de energía de los alimentos que actualmente se utilizan en la alimentación animal y a través de su utilización incrementar la producción de alimentos de origen animal para satisfacer su actual y futura demanda. Seguramente, en pocos años, cuando el conocimiento bioquímico tanto de los sustratos como el de las enzimas sea mayor, la formulación de raciones se basará en dosis enzima-sustrato, donde se considere la relación costo beneficio y un mayor aprovechamiento de los recursos alimenticios.

LITERATURA CITADA

- Bañuelos OT, Mendoza MGD, Rodríguez OJL, Muñoz OA (1995) Evaluación forrajera de 18 variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Montecillo, México. Rev. Fac. Agron. (KUZ). 12: 71-79.
- Beauchemin KA, Rode LM, Swalt VJH (1995) Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. Can. J. Anim. Sci. 75: 641-644.
- Beauchemin KA, Yang WZ, Rode LM (1998) Effects of fibrolytic enzyme additive on extent of digestion and milk production of lactating cows. J. Dairy Sci. 81 (Suppl. 1): 358.
- Bose K, Das D (1996) Thermoestable alpha-amylase production using *Bacillus licheniformis*. NRRL B14368. Indian J. Exp. 34: 1279-1282.
- Britton RA, Stock RA (1986) Acidosis, rate of starch digestion and intake. En: Agricultural Experiment Station Oklahoma State University. Symposium Proceedings: Feed Intake by Beef Cattle: 125-136.
- Buendía RG, Mendoza MGD, Bárcena GJR, Ortega CME, Hernández SJ, Lara BA (2003) Efecto de la glucoamilasa de *Aspergillus niger* en la digestibilidad "in vitro" de maíz y sorgo. Agrobiencia 37: 317-322.
- Castro GR, Méndez BS, Sineriz F (1993a) Amylolytic enzymes produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. MIR-41 in batch and continuous culture. J. Chem. Tech. Biotech. 56: 289-294.
- Castro GR, Ferrero MA, Mendez BS, Sineriz F (1993b) Screening and selection of bacteria with amylolytic activity. Acta Biotechnologica 13: 197-201.
- Coleman GS (1986) The amylase activity of 14 species of entodiniomorphid protozoa and the distribution of amylase in rumen digesta fractions of sheep containing no protozoa or one of seven different protozoa populations. J. Agric. Sci. (Camb.) 107: 709-721.
- Cotta MR (1988) Amylolytic activity of selected of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 54: 772-776.

- Dawson KA, Tricarico JM (1999) The exogenous fibrolytic enzymes to enhance microbial activities in the rumen and the performance of ruminant animals. En: Lyond TP, Jacques KA (eds) Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the Fifteenth Annual Symposium. Nottingham University Press, Loughborough: 303-312.
- Declerk N, Machius M, Chambert R, Wiegand G, Huber R, Gallardi C (1997) Hyperthermostable mutants of *Bacillus licheniformis* alpha-amylase: thermodynamic studies and structural interpretation. Protein Engineering 10: 541-549.
- Delgado C, Rosegrant M, Steinfeld H, Ehui S, Courbois C (1999) Livestock to 2020; The next food revolution. Food agriculture and environment discussion. International food policy research Institute. Washington DC. 28 pp.
- Dobrova E, Ivanova V, Emanuilova E (1994) Effect of temperature on some characteristics of the thermostable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis*. World J. Microb. Biotech. 10: 547-550.
- Feng P, Hunt CW, Protchard GT, Julien WE (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. Anim. Sci. 74: 1349-1357.
- Feng P, Hunt CW, Julien WE, Hacnny S, Pritchard GT (1992a) Effect of enzyme additives to cool-season grass forage on voluntary intake and digestive function in mature beef steers. J. Anim Sci. 70 (Suppl. 1): 310.
- Feng P, Hunt CW, Julien WE, Dickinson E, Moen T (1992b) Effect of enzyme additives on “*in situ*” and “*in vitro*” degradation of mature cool-season grass forage. J. Anim. Sci. 70 (Suppl. 1): 309.
- Gutiérrez CLC, Mendoza MGD, Ricalde R, Melgoza LM, Plata F (2005a) Effects of exogenous amylases or glucoamylase dose on *in situ* ruminal digestion of corn and sorghum. J. Appl. Anim. Res. 27: 7-10.
- Gutiérrez CLC, Mendoza MGD, Pinos RJM, Ricalde R, Aranda E, Miranda LA (2005b) Effects of storage time and processing temperature of grains with added amylolytic enzymes on *in situ* ruminal starch digestion. J. Appl. Anim. Res. 27: 39-44.
- Harris B (1998) The emerging role of enzymes in ruminant's diets: at long last, a breakthrough. Udder Information. Dr. Harris' Guide to maximizing dairy performance. www.alltech-bio.com/udder98.htm:1-13.
- Helbert W, Schulein M, Henrissat B (1996) Electron microscopic investigation of the diffusion of *Bacillus licheniformis* alpha-amylases into corn starch granules. Intl. J. Biol. Macromol. 19: 165-169.
- Huntington G (1997) Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. J. Anim. Sci. 75: 852-867.
- Ingle MR, Erickson RJ (1978) Bacterial alpha-amylases. Adv. Appl. Microbiol. 24: 257-278.
- Klibanov AM (1983) Stabilization of enzymes against thermal inactivation. Adv. Appl. Microbiol. 39: 1-28.
- Lewis GE, Hunt CW, Sanchez WK, Treacher R, Pritchard GT, Feng P (1996) Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diets fed to beef steers. J. Anim. Sci. 74: 3020-3028.
- Martínez-Avalos AMM, Mendoza GD, Cobos MA, González S, García-Bojalil CM, Bárcena R (1998) Nutritional evaluation of cattle manure silage with molasses for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 70: 257-264.
- Martínez SJ, Coronel RU, Ortega CME, Mendoza MG (1995) Efecto del crecimiento del hongo comestible *Pleurotus* en paja de cebada sobre la digestibilidad *in situ* de la fibra. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, México, D. F. 280.
- Mendoza MG, Ricalde VR (1993a) Alimentación de ganado bovino con dietas altas en granos. Libro de texto. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Distrito Federal. 97 pp.
- Mendoza MG, Ricalde VR (1993b) Manual técnico de alimentación de bovinos en clima templado. Libro de texto. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Distrito Federal. 76 p.
- Mendoza MGD, Britton RA, Stock RA (1993) Influence of Ruminal Protozoa on Site and Extent of Starch Digestion and Ruminal Fermentation. J. Anim. Sci. 71: 1572-1578.

- Mendoza MGD, Britton RA, Stock RA (1995) Effect of protozoa and urea level on "in vitro" starch disappearance and amylolytic activity of ruminal microorganism. Anim. Feed Sci. Technol. 54:315-325.
- Mendoza MGD, Britton RA, Stock RA (1998) Ruminal fermentation and *in situ* starch digestion with high moisture corn, dry rolled grain sorghum or a mixture of these grains. Anim. Feed Sci. Technol. 74: 329-335.
- Miranda RLA, Mendoza MGD, Bárcena-Gama R, González MSS, Ferrara R, Ortega CME, Cobos PMA (1996) Effect of *Saccharomyces cerevisiae* or *Aspergillus oryzae* cultures and NDF level on parameters of ruminal fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 63: 289-296.
- Montañez O, Ortega CM, Cobos PM, A Larque, García MJE (2004) Efecto de la alimentación con paja de trigo tratada con *Pleurotus florida* en la flora ruminal de ovinos. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 38: 249-257.
- Mora JG, Bárcena GJR, Mendoza MGD, González MSS, Herrera HJF (2002) Respuesta productiva y fermentación ruminal en borregos alimentados con grano de sorgo tratado con amilasas. Agrociencia 36: 31-92.
- Noziere P, Michalet-Doreau B (1997) Effects of amount and availability on amylolytic activity of ruminal solid-associated microorganism. J. Sci. Food Agri. 73: 473-476.
- Ortega CME, Carranco ME, Mendoza G, 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.
- Owens FN, Zinn RA, Kim YK (1986) Limits of starch digestion in the ruminat small intestine. J. Anim. Sci. 63: 1634-1647.
- Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR (1997) The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. J. Anim. Sci. 75: 1681-1685.
- Pinos-Rodríguez JM, González SS (2001) Uso de enzimas fibrolíticas glucosiladas en la alimentación de rumiantes. En: Gutiérrez ML, Hoyos LG (eds) Biotecnología en la Industria de la Alimentación Animal. Volumen VIII. Alltech, México. D.F: 57-73.
- Pinos-Rodríguez JM, González S, Mendoza G, Bárcena R, Cobos M (2001) Efecto de enzimas fibrolíticas glucosiladas en la digestibilidad *in vitro* de MS y MO de alfalfa (*Medicago sativa*) y ballico (*Lolium perenne*). Revista Científica, FCV-LUZ. 11(6): 505-509.
- Pinos-Rodríguez JM, González MSS, Mendoza MGD, Bárcena GR, Cobos PM (2002a) 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.
- Pinos-Rodríguez JM, González MSS, Mendoza MGD, Bárcena GR, Cobos PMA, Hernández GA, Ortega CME (2002b) Effect of exogenous fibrolityc enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lams. J. Anim. Sci. 80: 3016-3020.
- Ramos JA, Mendoza MGD, Aranda IE, García-Bojalil C, Bárcena GR, Alanís RJ (1998) Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. Anim. Feed Sci. Technol. 70: 257-264.
- Rojo RR (2005) Effects of exogenous amylases from *Bacillus lecheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124: 655-665.
- Rojo RR, Mendoza MGD, Crosby GMM (2001) Uso de la amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* en la digestibilidad "in vitro" del almidón de sorgo y maíz. Agrociencia 35: 423-427.
- Shariati P, Mitchell W, Boyd A, Priest FG (1995) Anaerobic metabolism in *Bacillus licheniformis*. Microbiol. 141: 117-1124.
- Schingoethe DJ, Stegeman GA, Treacher RJ (1999) Response of lactating dairy cows to a cellulase and xilanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. J. Dairy Sci. 82: 996-1003.
- Stock RA, Brink D, Britton R, Goedeken F, Sindt M, Kreikmeir K, Bauer M, Smith K (1987) Feeding combinations of high moisture corn and dry rolled grain sorghum to finishing steers. J. Anim. Sci. 65: 290-302

- Titi HHR, Richardson CR, Cobb CW (1998) Effects of fibrolytic enzyme treatment on forage dry matter and organic matter disappearance. *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 1): 293.
- Tricarico JM, Dawson KA, Newman KE (1998) Effects of a microbial enzyme preparation (Fibrozyme) on ruminal digestion of fescue hay. *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 1): 286.
- Yang WZ, Rode LM, Beauchemin KA (1998) Effects of fibrolytic enzyme additives on milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 (Suppl. 1): 320.
- Zinn RA, Salinas J (1999) Influence of Fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78 % concentrate growing diet. En: Lyons TP, Jacques KA (eds) *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the Fifteenth Annual Symposium.* Nottingham University Press. Loughborough: 313-319.