



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC**

**LICENCIATURA INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

**RESPUESTA PRODUCTIVA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE DE  
CABRAS ALPINO FRANCES, SUPLEMENTADAS CON ENZIMAS  
FIBROLÍTICAS EXÓGENAS**

**T É S I S**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**DANIELA GARCÍA REBOLLAR**

**DIRECTOR**

**DR. ROLANDO ROJO RUBÍO**

**ASESOR:**

**DR. ABDEL FATTHA Z. MOHAMED SALEM**

**DR. JOSÉ FERNANDO VAZQUEZ ARMIJO**



**TEMASCALTEPEC, MÉXICO, ABRIL DEL 2017**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme la oportunidad de vivir y concluir una carrera profesional

A mis padres por su gran esfuerzo ya que sin su apoyo, todo esto no hubiera sido posible

A mi director de tesis Dr. Rolando Rojo Rubio porque gracias a su ayuda y paciencia logre terminar el presente trabajo

A mis asesores Dr. Abdel Fattha Z. Mohamed Salem y Dr. José Vazquez Armijo, por la gran ayuda que me brindaron en este trabajo

## **DEDICATORIAS**

A mis padres:

Con todo mi cariño y amor a ustedes que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome, a ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento

A mis hermanos:

Que con sus consejos me han ayudado afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de la vida

A mis hijos:

Quienes han sido mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar hacer un ejemplo para ellos

A esas personas importantes:

Que en mi vida, siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda y que ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado, con todo mi cariño

## CONTENIDO

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN.....	viii
1. Introducción.....	1
2. Objetivo general.....	4
3. Hipótesis.....	5
4. Justificación.....	6
5. Revisión de literatura.....	8
5.1. Carbohidratos estructurales y su utilización por rumiante.....	8
5.2. La fracción indigestible de la fibra insoluble en detergente neutro.....	11
5.3. Uso de enzimas fibrolíticas en rumiantes.....	14
5.4. Las enzimas fibrolíticas y los gases de la fermentación.....	17
5.5. Mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas.....	20
5.6. Actividad enzimática.....	21
5.7. Desarrollo de nuevas enzimas.....	22
5.8. Empleo de enzimas en rumiantes.....	23
5.9. Factores que afectan la calidad de leche.....	24
5.9.1. Sistemas de producción.....	24
5.9.2. Etapa de la lactancia.....	25
5.9.3. Paridad.....	26
5.9.4. Tamaño de la camada.....	26
5.9.5. Época del año.....	27
5.9.6. Frecuencia de ordeña y amamantamiento.....	28
5.9.7. Genotipo.....	29
5.9.8.- Higiene.....	30
5.9.9.- Infecciones intramamarias.....	31
6. Materiales y métodos.....	37
6.1. Ubicación de estudio.....	37

6.2. Animales, alojamiento, alimentación.....	38
6.3 Tratamientos.....	40
6.4. Análisis de laboratorio.....	41
6.5. Variables de respuesta.....	41
6.6. Diseño experimental.....	43
6.7. Análisis estadístico.....	44
7. Resultados y discusión.....	45
7.1. Consumo de materia seca.....	45
7.2. Contenido de energía de la leche.....	47
7.3. Composición química de la leche.....	47
7.4. La producción y composición de la leche.....	47
8. Conclusión.....	49
9. Literatura citada.....	50

## Indice de cuadros

1. Ingredientes de la dieta basal, que se ofreció a las cabras lecheras Alpino Francés durante el primer tercio de la lactancia.....	38
2. Composición química de la ración totalmente mezclada, proporcionada a las cabras lecheras Alpino Francés durante el periodo experimental.....	41
3. La producción y composición de leche de cabras lecheras Alpino Francés alimentadas con la dieta basal (CTRL) o presencia de (CELL) enzima (2 mL / kg MS) durante el primer tercio de la lactancia (60 días) (n = 12 por tratamiento).....	46

## Índice de figuras

1. Localización geográfica del área metabólica y laboratorio de nutrición animal, Centro Universitario UAEM Temascaltepec.....	37
2. Cabras en periodo de adaptación a las jaulas individuales .....	39
3. Preparación manual de la ración totalmente mezclada proporcionada a las cabras durante el periodo experimental .....	40
4. Suministro oral de la enzima a las cabras, durante el periodo experimental .....	40
5. Pesaje de los cabritos, antes y después de mamar, para cuantificar la producción de leche ( $\text{kg cabra}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) .....	42
6. Determinación de la composición química de la leche de las cabras, durante el periodo experimental .....	42
7. Consumo de materia seca y producción de leche ( $\text{kg d}^{-1}$ ) de cabras alpino francés suplementadas con enzimas fibrolíticas exógenas .....	45

## Resumen

El presente trabajo se realizó en el municipio de Temascaltepec, Estado de México, específicamente en el área metabólica y laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Se utilizaron veinticuatro cabras lecheras Alpino Francés de primer parto ( $39 \pm 2.0$  kg de PV y 9 meses de edad), las cuales fueron alojadas en corraletas individuales bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA), para evaluar dos tratamientos; **T1**: control (dieta basal) y **T2**: dieta basal + enzima (Celulasas,  $2 \text{ mL kg}^{-1}$  MS ingerida). La alimentación se ofreció tres veces (07:00, 13:00 y 19:00 h); la enzima, cuya presentación fue líquida, se dosificó por las mañanas antes de ofrecer la primera frecuencia del día. Antes de inicio de la fase experimental, se tuvieron 10 días en adaptación y posteriormente un periodo experimental de 60 días. El consumo de materia seca se determinó diariamente mediante la sustracción de alimento ofrecido menos el rechazo, la producción de leche a través del pesaje del cabrito antes y después de mamar, se tomaron muestras de leche cada diez días, para determinar la composición química mediante la ayuda de un milkscan (Milk analyzer, 605), las otras variables reportadas fueron calculadas de acuerdo a diferentes fórmulas. La información se analizó mediante el DCA, con el Proc GLM del SAS y la comparación de medias con la prueba de Tukey. T2, consumió 400 g más ( $P = 0.049$ ) de alimento que T1, efecto reflejado en una mayor producción de leche para el mismo grupo de cabras (T2,  $P = 0.042$ ). El contenido de energía de la leche fue más alto ( $P < 0.01$ ) en T2. En la composición química de la leche, los sólidos totales ( $P = 0.008$ ), grasa ( $P = 0.016$ ), proteína ( $P = 0.003$ ), y lactosa ( $P = 0.05$ ) fueron mayores en T2. Se concluye que bajo las condiciones que se desarrolló el experimento, la adición de enzimas celulolíticas exógenas a la dieta de cabras lecheras alpino Francés mejora el consumo de alimento, producción y composición de la leche.

**Palabras clave:** Cabras alpino frances, enzimas celulolíticas exógenas, producción y calidad de leche.

## **1. Introducción**

Los caprinos, fueron introducidos a México por los españoles, probablemente la mayoría de los animales fueron embarcados en las Islas Canarias, los estudios genotípicos y fenotípicos, indican una mayor influencia Navarra y Andaluza de las cabras originarias que llegaron a nuestro país, habiéndose adaptado desde entonces en gran parte al territorio nacional, demostrando ser aptos para una producción pecuaria rentable, pero particularmente una especie muy resistente a la sequía y escasos forrajes, por lo que se ha desarrollado como una fuente de ahorro de muchas familias marginadas. Desde principios de siglo, en nuestro país, han constituido una fuente de trabajo familiar, además de haber demostrado con la producción y transformación de la leche, capacidad empresarial de la especie, en diferentes regiones del país (Mayén, 1989). Los sistemas productivos que predominan, son los de escaso uso de tecnología (extensivos) aunque debido a los costos de tierra están en franco retroceso, desapareciendo las grandes unidades colectivas de pastoreo. El uso de suplementación en épocas de sequía, es el elemento fundamental para medir el uso de tecnología que se refleja en los índices de productividad. Estos sistemas utilizan tierras muy poco productivas, en donde la caprinocultura es la actividad más viable para aprovechar la baja producción de materia vegetal. Como consecuencia de esa aptitud competitiva en condiciones precarias, se ha asociado a la ganadería caprina con la pobreza, aunque existan suficientes ejemplos de la falacia de esa idea. Existen, experiencias en la Comarca Lagunera y el Bajío en donde la ganadería caprina tradicional se ha ido transformando en una importante actividad bien integrada, con buenos indicadores productivos y económicos (FIRA, 1999). Un gran problema en los sistemas de pastoreo extensivos, es en muchos casos el grave deterioro de los recursos vegetales que ha ocurrido en ellos debido a su deficiente manejo. No se ha resuelto la forma de administrar adecuadamente las tierras comunales, pues de la manera en que se explotan actualmente, se contraponen el beneficio inmediato de cada productor individual con la preservación o mejoramiento del recurso. Por otra parte, los cambios ocurridos en la vida moderna han hecho cada vez menos aceptable el estilo de vida pastoril tradicional, y esta falta de adaptación es otra de las limitaciones de los sistemas extensivos. Es una necesidad imperativa la solución de estos problemas, si se desea mantener a la caprinocultura como alternativa de desarrollo en las regiones en donde tradicionalmente ha existido, múltiples trabajos de innovación tecnológica para mejorar estos sistemas han sido

desarrollados en México (Galina et al., 1993; 1995b; 1995c; 1998a; 1998b; 2000). Por otro lado, la importancia de la leche de ovino y caprino desde el punto de vista nutricional, radica en su contenido de grasa, la cual es rica en triglicéridos de cadena media (TCM), principalmente ácidos caproico (C6: 0), caprílico (C8: 0) y cáprico (C10: 0), estos ácidos grasos forman hasta un 15-18% de la leche de cabra, pero sólo 5-9% de la leche de vaca (Boza y Sanz Sampelayo, 1997; Chilliard et al., 2006). Estos TCM, a diferencia de los triglicéridos de cadena larga (TCL), su digestión comienza en el estómago, gracias a la lipasa gástrica, la cual no tiene prácticamente ningún efecto sobre los TCL, de esta manera, la hidrólisis de los TCM comienza prácticamente en el estómago y luego es completada por la lipasa pancreática, a una velocidad cinco veces mayor que la hidrólisis de los TCL (Haenlein 1996; García 1996; Boza y Sanz Sampelayo, 1997). En cuanto a los ácidos grasos se refiere, el aspecto más novedoso en relación a la composición de la grasa en la leche de los rumiantes tiene que ver con su contenido de ácido linoleico conjugado (ALC). Estos son una serie de isómeros geométricos del ácido linoleico (18:2(9,12) (ácido cis, cis-9,12). El isómero cis 9, trans11-ALC es el que predomina naturalmente en los alimentos obtenidos de rumiantes (AbuGhazaleh et al., 2003). El ácido linoleico es el principal ácido graso precursor de la síntesis de cis 9, trans11-ALC, como consecuencia de la biohidrogenación que tiene lugar en el rumen, debido a la acción de *Butyrivibrio fibrisolvens*, fenómeno que fue descrito por primera vez por Kepler y Tove (1967), según Dhiman et al. (1999) esta biohidrogenación depende directamente de la cantidad y origen de grasa en la dieta, la relación forraje-concentrado y de su contenido de nitrógeno. Por otra parte, se han buscado alternativas para mejorar el aprovechamiento del contenido de la fibra de las raciones de los rumiantes, con el objetivo de mejorar la digestibilidad del componente fibroso, entre los métodos biológicos el uso de enzimas fibrolíticas comerciales podría ser una alternativa para mejorar la calidad de los forrajes y diferentes estudios han demostrado que estos aditivos pueden incrementar el valor nutritivo de henos y silajes y por ende la respuesta animal. El mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas incluye también mejoras en la palatabilidad de la ración cambios en la viscosidad intestinal y cambios en el sitio de digestión. Las enzimas son proteínas globulares que catalizan reacciones químicas específicas en sistemas biológicos, las enzimas digestivas están involucradas en la transformación de macromoléculas complejas (celulosas, hemicelulosa, almidones, proteínas, etc.) presentes en las dietas en moléculas más simples (azúcares,

péptidos, aminoácidos, etc.) y son esenciales para el animal (Kung, 2001). El mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas es a través de la hidrólisis de algunos componentes de las plantas que impiden la digestión, incrementando por tanto el valor nutritivo de la ración (Beauchemin et al., 2003). Las enzimas fibrolíticas exógenas pueden interactuar no solo con la digesta si no también con los microorganismos ruminales (Morgavi et al., 2000). Se han demostrado que estos productos mejoran la colonización de las partículas del alimento por parte de los microorganismos ruminales, incrementando la tasa de degradación ruminal (Yang et al., 1999). Las principales limitaciones para digestión de los componentes de la pared celular en el rumen pueden ser debido a cantidades insuficientes de las diferentes enzimas producidas por los microorganismos ruminales o por la inhabilidad de las enzimas para interactuar con los sustratos a ser degradados, o debido a condiciones inapropiadas en el rumen (ej. Acidosis ruminal) para optimizar las actividades hidrolíticas (McAllister et al., 2001). Las enzimas digestivas no se han usado tradicionalmente en dietas para rumiantes y la principal razón para esto es debido al hecho de que las enzimas son moléculas proteicas y pueden estar sujetas a degradación por las proteasas microbiales en el rumen o a inactivación por proteasas en el intestino delgado (Kung, 2001) la estabilidad en el rumen es un factor crítico que determina la efectividad de las enzimas, ya que estas funcionan a pH y temperaturas óptimas. Los resultados presentados han demostrado que la efectividad de las enzimas fibrolíticas exógenas sigue siendo controversial, por lo tanto es necesario evaluar nuevos productos comerciales y en diferentes condiciones usando animales bajo stress nutricional y/o con diferentes sustratos.

Por lo cual en el presente trabajo de investigación evaluó el efecto de la adición de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de la cabra lechera alpino francés en el consumo de materia, producción y composición química de la leche, bajo condiciones de producción intensiva.

## **2. Objetivo general**

Evaluar la respuesta productiva y composición química de la leche en cabras alpinas, recibiendo enzimas fibrolíticas exógenas en su dieta

### 2.1. Objetivos específicos

- Cuantificar el consumo de alimento y producción de leche en cabras alpina, recibiendo enzimas fibrolíticas exógenas en la dieta
- Determinar la composición química de la leche de cabras alpina, recibiendo enzimas fibrolíticas exógenas en la dieta
- Calcular el contenido de energía de la leche

### **3. Hipótesis**

La adición de enzimas fibrolíticas exógenas en la dieta de cabras alpina francés, mejora la respuesta productiva y composición química de la leche

#### **4. Justificación**

Debido a que la producción de lácteos en el territorio nacional ha tenido un crecimiento anual de 1.46 por ciento en los últimos 12 años, México produjo en el 2014 aproximadamente 11 mil 30 millones de litros de leche y consume apenas 132 litros per cápita, de este alimento al año.

En comparación la leche de cabra representa el 2% de la leche producida a nivel mundial, para los países de oriente y del mediterráneo, México produce 19 kilos por cabra con una población de 8.9 millones de cabezas, para los países de América Latina, el consumo se da de forma mixta, líquida y en forma de quesos y en México además en forma de dulces y cajeta. México se encuentra ubicado en el sexto lugar y aporta el 3.3% de la producción mundial.

Para ello la alimentación dentro de un sistema de producción pecuaria resulta ser el de mayor rubro económico, por lo que se han empleado diversas tecnologías para mejorar la utilización de los nutrientes, principalmente de los carbohidratos estructurales de la fibra, por ello la adición de enzimas fibrolíticas en alimentos para rumiantes puede estimular la ganancia diaria de peso y la producción láctea.

Esto se explica debido al el efecto positivo que ejercen las enzimas exógenas sobre la hidrólisis de los carbohidratos de la pared celular, favoreciendo un aumento en la cantidad de sustrato disponible para los microorganismos ruminales.

En la última década el desarrollo biotecnológico de preparaciones comerciales de enzimas fibrolíticas y su reducción en costos de obtención han demostrado ser una posible herramienta para mejorar económicamente procesos digestivos en los rumiantes. Factores tales como especificidad enzima sustrato, concentración, pH, temperatura, humedad y tiempo requerido para que las enzimas interactúen con el alimento estarían afectando la óptima respuesta celulítica.

Los forrajes representan el ingrediente más económico en la alimentación de los rumiantes, la elevada concentración de fibra de los forrajes tropicales afecta negativamente su valor nutritivo, constituyendo la mayor limitante nutricional de los rebaños. Se han utilizado diferentes estrategias para tratar de mejorar la calidad de dichos forrajes, a través de mejoramientos genéticos y a través de la aplicación de diferentes tratamientos químicos o biológicos.

El principal objetivo en la aplicación de dichos tratamientos es tratar de mejorar la digestibilidad del componente fibroso. Entre los métodos biológicos, el uso de enzimas fibrolíticas comerciales podría ser una alternativa para mejorar la calidad de los forrajes y diferentes estudios han demostrado que estos aditivos pueden incrementar el valor nutritivo de henos y silos y por ende la respuesta animal.

Estos productos son efectivos para mejorar la utilización de las dietas, debido a que aumentan la digestibilidad de las fracciones fibrosas y del consumo voluntario; las enzimas fibrolíticas además de incrementar la hidrólisis de la fibra pueden mejorar la colonización de la digesta al aumentar el número de microorganismos fibrolíticos del rúmen, y por esta vía actuar sinérgicamente para incrementar la tasa de degradación ruminal de la digesta.

El mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas incluye también mejoras en la palatabilidad de la ración, cambios en la viscosidad intestinal y cambios en el sitio de digestión.

Para ello el uso de enzimas en la alimentación animal 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.

## 5. Revisión de literatura

### 5.1. Carbohidratos estructurales y su utilización por rumiantes

La transformación de los pastos y otros alimentos en nutrientes de alta calidad, por parte de los rumiantes, es de gran importancia para su sustento y también es de gran significación económica. Este proceso ocurre gracias a que poseen un estómago especializado, donde habitan diversos microorganismos; cuya acción simbiótica hace posible la digestión de las paredes celulares de las plantas (Ramírez et al., 2000); los cuales constituyen del 35 al 80 % de la materia orgánica de los tejidos vegetales aproximadamente (Ramírez et al., 2002).

A diferencia de los animales, las plantas no poseen un sistema esquelético de sostén para resistir a la fuerza de gravedad; en su lugar, hacen uso de la fuerza que se acumula en las paredes que rodean a cada una de sus células, la cual puede ser tan fuerte como para sostener un árbol, pero al mismo tiempo flexible para permitir la tensión y compresión que ocurre, por ejemplo, cuando hay viento. Las paredes celulares de las plantas, incluyendo los forrajes, están compuestas por celulosa, hemicelulosa y lignina, en proporciones variables dependiendo de su función y del estado fenológico (Burton et al., 2010), aunque en promedio se encuentran en un rango de 35-50, 20-35, y 10-25%, respectivamente.

La celulosa se encuentra casi de manera exclusiva en las paredes celulares de las plantas, aunque también es sintetizada por algunos animales como los tunicados que producen una sustancia llamada tunicina, presente en su cubierta o túnica, el cual es un carbohidrato muy parecido a la celulosa (Lynd et al., 2002; Gállego, 2006) y en bacterias de los géneros *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Rhodobacter* y *Sarcina*. Cabe resaltar que la celulosa producida por microorganismos generalmente posee propiedades diferentes a las de la biomasa vegetal, por lo que sus aplicaciones también son diferentes (Lin et al., 2013).

La celulosa es un homoglucano lineal insolubles en agua, compuesta de más de 15 mil residuos de D-anhidroglucopiranosos unidos por un enlace  $\beta(1-4)$ . Posee dos regiones: la amorfa y la cristalina, la segunda con mayor organización que la primera (Paloheimo et al.,

2010). La celulosa es hidrolizada por varias enzimas celulolíticas como: endoglucanasas, exoglucanasas y  $\beta$ -glucosidasas. Las endoglucanasas, hidrolizan las cadenas de celulosa de forma aleatoria para producir oligómeros de celulosa; las exoglucanasas producen celobiosa al hidrolizar las cadenas de celulosa en su último enlace no reductor y las  $\beta$ -glucosidasas liberan glucosa a partir de la celobiosa (Beauchemin et al., 2004).

De forma experimental, la celulosa purificada se ha evaluado en varios estudios de hidrólisis y utilización microbiana; sin embargo, la biomasa celulósica es más compleja que la celulosa purificada debido a que forman complejos con hemicelulosa y lignina. Además, existen diferencias entre los tejidos vegetales; por ejemplo, el mesofílico posee paredes celulares delgadas poco lignificadas que son fácilmente degradadas por las enzimas fibrolíticas mientras que el esclerénquima tiene paredes más gruesas altamente lignificadas (Lynd et al., 2002).

La hemicelulosa es un grupo heterogéneo de polisacáridos, los cuales se caracterizan por tener enlaces  $\beta(1-4)$  en una configuración ecuatorial, dentro de los que se incluyen xiloglucanos y glucuronoxilanos (presente en dicotiledóneas), glucuroarabinosilanos (en pastos y coníferas), glucomananos (en dicotiledóneas y pastos) y galactoglucomananos (en coníferas) (Scheller y Ulvskov, 2010).

El xilano es el principal componente de la hemicelulosa, el cual es, después de la celulosa, el polisacárido más abundante de la naturaleza, constituyendo 30-35% de la pared celular de los pastos y cereales, por lo que se considera de importancia en la alimentación animal (Paloheimo et al., 2010). La hemicelulosa se sintetiza en el aparato de Golgi de las células vegetales por acción de varias glicosiltransferasas entre las que se encuentran la  $\beta(1-4)$ -glucanosintasa,  $\beta(1-4)$  xilanosintasa y  $\beta(1-4)$  mananosintasa (Scheller y Ulvskov, 2010).

La lignina es un polímero ramificado formada por cuatro alcoholes: coniferil, hidroxiconiferil, cumaril y sinapil, provenientes de la vía fenilpropanoide de las plantas, dando lugar a diferentes formas de lignina: guaiacil, 5-hidroxiacil, p-hidroxifenol y siringil lignina, depositándose en las paredes celulares como parte del proceso de maduración de las plantas después de que termina el crecimiento celular.

La proporción entre ellas en la naturaleza varía dependiendo de la especie de planta, el órgano vegetal y las capas de la pared celular. La lignina de tipo guaiacil abarca el 95% de la lignina que se encuentra en las plantas gimnospermas; mientras que en las angiospermas, se encuentran cantidades importantes de lignina de los tipos guaiacil y siringil.

La lignina del tipo hidroxifenol se encuentra en la mayoría de las plantas en pequeñas cantidades y la del tipo hidroxiguaiacil solo se encuentra en una variedad de maíz (bm<sub>3</sub>). La biosíntesis de lignina empieza con la fenilalanina, aunque la tirosina es el segundo precursor a través de la tirosina amonialiasa para formar ácido cumárico. Otras enzimas involucradas en la síntesis de lignina son la fenilalanina amonialiasa, cinamato 4-hydroxylasa, 4-cumaroyl hidroxilasa, O-metiltransferasa, ferulato 5-hidroxilasa, 4-cumarato-CoA ligasa, 4-cumaroil-CoA hidroxilasa, Cafeoil-CoA O-metiltransferasa, cinamoil-CoA reductasa, cinamil alcohol deshidrogenasa y peroxidasa (Moore y Jung, 2001). La lignina tiene un peso molecular elevado lo cual le proporciona rigidez a la pared celular de la planta, limitando la disponibilidad de los carbohidratos estructurales a los microorganismos ruminales (Van Soest, 1994), afectando su digestibilidad y por consiguiente; la del forraje en general (Jung y Allen, 1995).

Además de su papel estructural, las paredes celulares representan una fuente de energía para la misma planta. Por ejemplo, los granos de muchos cereales económicamente importantes, como el maíz, trigo y arroz, contienen un endospermo predominantemente constituido de almidón, pero la pared celular de la cascarilla sirve como fuente de energía durante el proceso de germinación, a tal grado que se estima que hasta el 18% de la glucosa de los granos germinados de cebada se libera a partir de (1,3; 1,4)-β-D-glucanos de paredes celulares (Burton et al., 2010).

## 5.2. La fracción indigestible de la fibra insoluble en detergente neutro

El valor nutritivo de un forraje no se limita a su composición química; la digestibilidad y consumo son dos aspectos sumamente importantes que definen la calidad de un alimento (Rodríguez et al., 2007). La fibra detergente neutro (FDN) contenida en los forrajes posee

tres fracciones clasificadas de acuerdo a su velocidad de digestión: la digestible, la potencialmente digestible y la indigestible. La fracción potencialmente digestible desaparece del rumen tanto por pasaje como por digestión; la fracción indigestible desaparece sólo por pasaje y aparece en las heces (Waldo et al., 1972), por lo que no aporta energía al rumiante y afecta negativamente la digestibilidad de la materia orgánica (Nousiainen et al., 2004).

Esta fracción se puede estimar con incubaciones in situ o in vitro por más de 96 horas (Mertens, 1993). Teóricamente, las incubaciones in situ son más reales debido a que la digestión se hace directamente en el rumen del animal con el uso de bolsas de nailon; sin embargo, tienen desventajas. Una de ellas es que el poro de la bolsa sea tan cerrado que limite el ingreso de algunos protozoarios ruminales; o bien, que sea demasiado grande y existan pérdidas del forraje en estudio o entrada de digesta del contenido ruminal, por lo que se corre el riesgo de subestimar o sobrestimar la digestibilidad del forraje en estudio (Carro et al., 1995; Huhtanen et al., 1998). Nousiainen et al. (2004) reportaron que la fracción indigestible de la FDN de ensilados de diferentes pastos fue de 8.7% de la materia seca (MS) al incubarlos in situ por 12 días (para asegurar una digestión completa), en bolsas con poros de menos de 20  $\mu\text{m}$  (para evitar pérdidas).

En forrajes frescos y henificados, la fracción indigestible varió dependiendo la especie: por ejemplo, *Lolium perenne*, 12.8%; *Dactylis glomerata*, 28.9%; *Paspalum notatum*, entre 21.0 a 33.0%; *Megathyrus maximus*, 35.2%; paja de avena (*Avena sativa*), entre 21 a 36%; *Cynodon dactylon*, 43.9%; paja de trigo (*Triticum* sp.), de 39.6 a 49.0% y bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), 76.8% (Mertens y Loften, 1980; Amjed et al., 1992; Van Soest, 1994). En términos generales, los forrajes de menor calidad, como los esquilmos o bagazos, tienen una mayor fracción indigestible, por lo que la adición de enzimas exógenas tendrá una fracción menor donde actuar. En forma contraria, los forrajes de mayor calidad, como el ryegrass o el pasto ovinillo, potencialmente tienen una fracción mayor para que la enzima exógena actúe.

La fracción indigestible de la FDN está relacionada con la lignina (Darcy y Belyea, 1980) y se ha demostrado que la cantidad de lignina está negativamente relacionada con la

digestibilidad de los forrajes (Jung y Vogel, 1986; Moore y Jung, 2001). La palabra lignina proviene del latín “lignum” que significa madera, está presente en angiospermas y gimnospermas y es la responsable de dar resistencia a los tejidos de las plantas siendo un mecanismo de defensa contra los microorganismos (Rodríguez et al., 2007).

Se han realizado estudios utilizando diversas técnicas para determinar el contenido de lignina de los forrajes (Jung et al., 1997; Traxler et al., 1998), aunque algunos métodos tienden a subestimar el contenido de lignina, más en pastos que en leguminosas. Debido a que el proceso de lignificación es regulado genéticamente, existen diferencias tanto entre especies vegetales, como entre genotipos de la misma especie (Moore y Jung, 2001).

Para mejorar su digestibilidad, se han desarrollado forrajes genéticamente modificados. Guo et al. (2001) desarrollaron un método para disminuir la cantidad de lignina e incrementar la digestibilidad de la alfalfa a través de manipulación genética. La alfalfa es una angiosperma que contiene principalmente unidades de guaiacil y siringil lignina. Al disminuir la expresión de genes que codifican para las enzimas ácido cafeico 3-O-metiltransferasa, disminuye el contenido de lignina perdiendo totalmente la siringil lignina (la cual se incrementa con la madurez del forraje) y disminuye la cafeoilCoA 3-O-metiltransferasa que reduce la cantidad de guaiacil lignina sin reducir el contenido de la siringil lignina. De este modo, se ha logrado incrementar la digestibilidad verdadera in vitro y la digestibilidad in situ de la alfalfa desde 1 hasta 5%, y de 2.8 hasta 6%, respectivamente, al disminuir el contenido de lignina hasta en 50% con las líneas de alfalfa con menor actividad enzimática de cafeoilCoA 3-O-metiltransferasa.

Por su parte, Baucher et al. (1999) crearon varias líneas de alfalfa modificada genéticamente para disminuir la actividad de la cinamil alcohol deshidrogenasa, enzima que cataliza el último paso de la síntesis de lignina en las plantas, de tal manera que algunas líneas redujeron hasta 16 y 56% la cantidad de guaiacil y siringil lignina, respectivamente, permitiendo incrementar de 15 a 23% la digestibilidad in situ de la materia seca.

Otros factores que influyen en la digestibilidad de la FDN de los forrajes son los enlaces de lignina con otros carbohidratos, creando una “barrera” que impide que las enzimas de los microorganismos actúen sobre otros polisacáridos (Moore y Jung, 2001), los cuales, además, son resistentes a la hidrólisis ácida y alcalina del tubo gastrointestinal (Rodríguez et al., 2007), la madurez del forraje, la cantidad de cortes, la latitud, el clima (Van Soest et al., 1978), las características morfológicas de la planta y la cristalinidad de la celulosa (Van Soest, 1994; Mertens, 1993). Una manera de alterar la digestibilidad de la FDN de los forrajes de baja calidad es a través tratamientos químicos como el método Beckmann de tratamiento con álcalis.

Dicho método consiste en remojar paja en una solución diluida de un álcali, como el hidróxido de sodio (NaOH), durante 24 horas, logrando incrementar entre 40 y 70% su digestibilidad debido al rompimiento de la pared celular disolviendo los enlaces que existen entre las fracciones de hemicelulosa y lignina. Sin embargo, con este método se corre el riesgo de eliminar parte de los nutrientes que son solubilizados durante el lavado (Jackson, 1977). Al respecto Ololade et al. (1970) reportaron incrementos hasta del 100% en la digestibilidad de la MS de alfalfa, paja de cebada y rastrojo de maíz con la adición de 8% de NaOH; sin embargo, a pesar de los beneficios para mejorar la digestibilidad de los forrajes, es importante remarcar que dicha técnica tiene algunas desventajas entre las cuales se encuentran las grandes cantidades de agua para eliminar el álcali del forraje una vez tratado, misma que es altamente contaminante y caustica, por lo que es necesario que las personas que manipulen el producto lo hagan con la protección adecuada.

Debido a lo anterior, en ocasiones se recomienda sólo esparcir la solución de NaOH sobre el forraje lo que lo hace menos efectivo. Sin embargo, Wilson y Pidgen (1964) reportaron un aumento lineal en la digestibilidad in vitro de la MS de paja de trigo asperjada con niveles del 1 y hasta 9% de NaOH; arriba de este nivel ya no hubo respuesta. Otros álcalis usados para aumentar la digestibilidad de los forrajes son el cloro, amonio y peróxidos, los cuales son efectivos pero más caros y más difíciles de aplicar que el NaOH (Jackson, 1977). Por lo anterior, es necesario buscar otras alternativas que permitan incrementar la digestibilidad de los forrajes usados en la alimentación de los rumiantes.

### 5.3. Uso de enzimas fibrolíticas en rumiantes

Las enzimas fibrolíticas ( $\beta$ -glucanasas y xilanasas) se utilizaron inicialmente sólo en ganado porcino y en aves de corral (Ponte et al., 2004; Mourão et al., 2006; Fang et al., 2007; Hajati, 2010; Paloheimo et al., 2010; Mendes et al., 2013) con el objetivo de eliminar algunos factores antinutricionales y para degradar la capa exterior (pericarpio) que cubre el endospermo de los granos, la cual está formado de  $\beta$ -glucanos, xilanos y celulosa, compuestos indigestibles para los no rumiantes (Bedford y Schulze, 1998; Bhat, 2000). Estas enzimas no se usaban en rumiantes porque se pensaba que serían rápidamente destruidas por las proteasas de los microorganismos ruminales, aunado a que los rumiantes poseen capacidad para degradar sustratos fibrosos por acción de las enzimas ruminales (Beauchemin et al., 1995).

No obstante, los estudios indican que la digestibilidad ruminal de la FDN no es completa; siendo, en la mayoría de los forrajes, de alrededor del 50% (Beauchemin y Holtshausen, 2010) o incluso menor cuando las condiciones del rumen no son favorables para una adecuada actividad fibrolítica, tal como sucede con dietas altas en granos (Beauchemin et al., 2001), por ello, con la adición de enzimas en la dieta de los rumiantes se podría incrementar la digestibilidad de los alimentos fibrosos disminuyendo los costos de alimentación al disminuir el uso de granos y pastas de oleaginosas, ampliamente utilizados en su alimentación y de este modo mejorar la productividad y la conversión alimenticia. Al respecto, varios estudios mostraron que las enzimas fibrolíticas exógenas incrementan la digestibilidad de la MS, FDN y fibra detergente ácido (FDA) (Rodrigues et al., 2008; Wang et al., 2012; Salem et al., 2013).

A pesar del potencial de degradación, los estudios con enzimas exógenas no arrojan resultados consistentes. En el caso de ganado bovino de leche, la mayoría de los estudios han sido con forrajes de alta calidad en donde predominan dietas con alfalfa, ensilaje de maíz (Moreno et al., 2007), en los cuales hay resultados positivos, particularmente por el uso de forrajes de buena calidad (Pinos et al., 2005). En este sentido, Oba y Allen (1999) indican que al incrementar una unidad porcentual la digestibilidad in vitro de la FDN con enzimas fibrolíticas, el consumo de MS y la producción de leche corregida al 4% de grasa,

se incrementan 0.17 y 0.25 kg/d respectivamente; mientras que Gado et al. (2009), por su parte, reportan incrementos aún más significativos en el consumo de MS y en la producción de leche, del 13 y 23%, respectivamente.

Sin embargo, algunos otros reportes no indican cambios ni en consumo de MS ni en producción (Dhiman et al., 2002; Elwakeel et al., 2007; Miller et al., 2008; Dean et al., 2013), y algunos otros no reportan cambios en la producción pero sí una disminución en el consumo de MS. Al respecto, Arriola et al. (2011) y Holtshausen et al. (2011), no reportaron cambios en producción pero sí una disminución significativa en el consumo de MS (del 7 y 8%, respectivamente). Un aspecto relevante del uso de enzimas en la alimentación de rumiantes es que se puede reducir el nivel de grano en la ración (Schingoethe et al., 1999).

Algunas evaluaciones realizadas en México con ganado lechero (durante 114 días), muestran un incremento de producción de 1.5 kg/d, pero el costo de las enzimas fue de US\$ 0.39/dosis/vaca, lo cual deja una utilidad de US\$ 0.09/vaca/día. Lo anterior se convierte en un problema debido a que es una inversión muy fuerte para el productor, y si por calidad de forraje no hubiera respuesta, las pérdidas podrían ser muy altas (Mendoza et al., 2013).

También, se ha reportado que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas mejora el estatus energético de las vacas debido a que disminuyen las concentraciones plasmáticas de  $\beta$ -hidroxibutirato, lo cual indica que se reduce la movilización de grasa del tejido adiposo, tanto al inicio de la lactancia (Holtshausen et al., 2011) como en la parte media de la lactancia (Dean et al., 2013), aunque en este último estudio el efecto de las enzimas sólo fue significativo ( $p < 0.05$ ) cuando las enzimas se agregaron a la ración totalmente mezclada, sin que hubiera cambios cuando se adicionaron al forraje, concentrado o ensilado.

Por otro lado, existe un estudio que indica que las enzimas exógenas incrementan la síntesis de proteína microbiana, un indicativo de que, probablemente, se incrementa la población bacteriana del rumen (Gado et al., 2009); no obstante, en otros estudios no hay

cambios en el tamaño de la población (Bowman et al., 2002; Baah et al., 2005). Los resultados de estos autores indican que el uso de enzimas puede promover un mayor flujo de carbono para la síntesis de ácidos grasos volátiles y/o a la síntesis de proteína microbiana, pero debe de elucidarse bajo qué condiciones se favorece la ruta.

En relación con el ganado bovino de carne, los resultados son aún más inconsistentes. Salem et al. (2013) reportaron incrementos del 16% en ganancia de peso y mejora del 9% en la conversión alimenticia, sin embargo, Eun et al. (2009) mencionan que la suplementación con enzimas exógenas comerciales no afectó la ganancia de peso en novillos, mientras que Pinos et al. (2008) no encontraron efectos en la fermentación ruminal a pesar de los cambios en la cinética ruminal de la MS. La falta de respuesta a las enzimas fibrolíticas en la ganancia de peso se ha reportado repetidamente (ZoBell et al., 2000; Ware et al., 2005; Miller et al., 2008), aun cuando en algunos casos se mencionan incrementos en el consumo de MS (Krueger et al., 2008). Lo anterior, en conjunto con el elevado costo de los productos enzimáticos (comparado con el de los ionóforos, implantes y antibióticos), han sido las limitantes para que la industria productora de carne adopte esta tecnología (Beauchemin et al., 2003).

El uso de enzimas fibrolíticas en ganado en pastoreo en el trópico no es común; no obstante, existen evidencias experimentales en estudios in vitro con caña de azúcar que mostraron incrementos en la digestibilidad y en la síntesis de proteína microbiana en ese forraje (Aranda et al., 2010). Gómez et al. (2003; 2011) indican que los animales responden en forma lineal a la dosis de enzima en la ganancia de peso y la digestibilidad; al incrementar la dosis del producto con enzimas fibrolíticas de 15 a 30 g/d, se incrementó la ganancia hasta en un 65% debido a una mayor digestibilidad en pastos tropicales. A pesar de ello, el análisis económico de los dos experimentos (80 días), mostró que la dosis de 30 g/d no es rentable, pero si la de 15 g/d con una utilidad de US\$ 0.1 a 0.17/animal/día y una inversión diaria de US\$ 0.59/día/animal (Mendoza et al., 2013).

Nuevamente, es una inversión muy alta para cualquier productor, más aún cuando existe un reporte donde no hubo respuesta a las enzimas (Cano et al., 2003). Algunos estudios en corrales de engorda donde se usan esquilmos muestran respuestas positivas con dosis muy

altas (Torrentera et al., 2005) que no son rentables, mientras que en otros estudios no hay respuesta aún con dosis altas (Vargas et al., 2013). Por otro lado, las enzimas fibrolíticas exógenas pueden mejorar las características de la canal. Eun et al. (2009) mencionan que el grosor de la grasa en la 12<sup>a</sup> costilla se reduce (en 8.8%) en los bovinos suplementados con un aditivo enzimático comercial, mientras que Vargas et al. (2013) indican que se mejora el rendimiento de la canal caliente (hasta 6.7%) y se reduce la fuerza de corte (hasta 11.4%). No obstante, se requieren más estudios que confirmen estos resultados y evaluar si estos cambios, en producción y en la canal, compensan el costo de las enzimas.

En el caso del ganado ovino de carne, existe un reporte donde hubo respuesta positiva en la ganancia de peso en ovinos a la adición de enzimas comerciales (Tirado et al., 2011). En otro estudio, sin embargo, no hubo respuesta (Hernández et al., 2011b). No obstante, en el estudio donde hubo respuesta la utilidad diaria en uno de los tratamientos fue de US\$ 0.11 con una inversión de US\$ 0.04/animal/día, mientras que en el otro tratamiento se perdían US\$ 0.22/animal/día. En el otro experimento se estiman pérdidas diarias de US\$ 0.33/día/animal (Mendoza et al., 2013). Es importante considerar que en algunos casos las preparaciones comerciales de enzimas fibrolíticas pueden presentar variaciones entre lotes, lo que podría explicar la variabilidad en la respuesta, por lo que es aconsejable que se reporten pruebas de estabilidad y calidad en los productos comerciales cuando se realicen estudios de aplicación (Meraz et al., 2012).

#### 5.4. Las enzimas fibrolíticas y los gases de la fermentación

El uso de las enzimas fibrolíticas en rumiantes también se puede relacionar con las emisiones de gases de efecto invernadero. A nivel mundial, el ganado contribuye con el 18% de las emisiones de gases de efecto invernadero (O'Mara, 2011), normalmente los animales más productivos consumen más alimento, generan más excremento y emiten mayores cantidades absolutas de gases de efecto invernadero que los animales menos productivos; sin embargo, cuando dichas cantidades se convierten por unidad de producto animal, los animales más productivos generan considerablemente menos gases de efecto invernadero que los menos productivos (Hristov et al., 2013).

En el 2005, los países de Europa, Norteamérica y los correspondientes a la ex Unión Soviética produjeron el 46% de la leche y carne de rumiante emitiendo solo el 25.5% del CH<sub>4</sub>; mientras que Asia, África y Latinoamérica aportaron el 69% de las emisiones entéricas produciendo casi la misma cantidad de carne y leche (47.1%) (O'Mara, 2011). Flachowsky (2011) estimó que una vaca que produce 40 kg/d de leche emite 50% menos CO<sub>2</sub> por kilogramo de leche producida que una vaca que produce 10 kg/d, mientras que un becerro que gana 1.5 kg/d de peso emite 70% menos CO<sub>2</sub> que uno que gana 1 kg/d.

Una manera de incrementar la productividad animal es mejorando la calidad de los alimentos, ya que en muchos países subdesarrollados es común que los rumiantes se alimenten con residuos de cosecha o pastos de baja calidad, por lo que las enzimas, específicamente las de origen fúngico, podrían mejorar la calidad de estos alimentos debido a que mejoran su digestibilidad al romper la estructura de la pared celular de los forrajes, permitiendo que la celulosa y hemicelulosa queden disponibles para el ataque microbiano en el rumen (Owen et al., 2012). Arriola et al. (2011) reportaron menor producción de metano (<11%) en vacas suplementadas con enzimas fibrolíticas en dietas con 48% de concentrado, pero no cuando la dieta contenía solo 33% de concentrado, indicando que, en este caso, las enzimas fibrolíticas contribuyeron a reducir los gases de efecto invernadero; efecto atribuido a la disminución de acetato sin afectar la cantidad de propionato producido.

Existen varios reportes que indican que el uso de enzimas incrementa la producción de gas in vitro. Yang et al. (2011) reportaron incrementos en la producción de gas al analizar varios aditivos enzimáticos aplicados en alfalfa, encontrando que el producto con mayor actividad proteolítica y amilolítica produjo más gas que aquel con actividad xilanolítica, el cual fue estadísticamente igual al tratamiento testigo; Tang et al. (2008) reportan incrementos en la producción de gas in vitro usando diversos sustratos altamente fibrosos (rastrojo de maíz, paja de arroz y de trigo) por efecto de las enzimas fibrolíticas; aunque ninguno de estos estudios evaluó la producción de CH<sub>4</sub>. Soltan et al. (2013) indican que el uso de enzimas exógenas, específicamente celulasas, incrementa la producción de gas in vitro sin modificar la producción de CH<sub>4</sub> (aunque no evalúa otros gases), argumentando que existe interacción forraje - enzima.

El incremento en la producción de gas, por acción de las enzimas exógenas, puede atribuirse a una mayor degradación de los sustratos en el rumen, lo cual podría afectar el ambiente microbiano; no obstante, cabe destacar que los estudios anteriores no determinaron N microbiano, el cual es un indicativo de la síntesis bacteriana en el rumen. Para explicar lo anterior, es importante hacer referencia a la revisión de Leng (1993), quien indica que al mejorar las condiciones del rumen, aumenta la síntesis bacteriana (y por ende, la cantidad de proteína microbiana disponible para el rumiante) y disminuye la producción de CH<sub>4</sub>, lo cual coincide con Gado et al. (2009) quienes mencionan que el uso de enzimas exógenas incrementa la cantidad de bacterias ruminales debido a que se mejora la digestibilidad de la fibra; sin embargo, es importante señalar que no existen estudios con enzimas fibrolíticas que determinen la producción de CH<sub>4</sub> y síntesis de proteína microbiana que permitan explicar más certeramente su efecto en el rumen.

Por otro lado, existen estudios que no reportan cambios en la producción de gas in vitro (Bowman et al., 2002; Baah et al., 2005), mencionan que la producción de gas y de ácidos grasos volátiles (AGV) no se afectó por la utilización de enzimas, mientras que Yang et al. (2000) tampoco reportan que la producción de gas o la proporción de acetato, propionato y butirato se afecten por acción de las enzimas exógenas, aunque la concentración final de AGV sí incrementó en casi 9%. Además, en ese estudio la fase lag fue más corta cuando las enzimas se suministraron en el concentrado (con base de cebada) en contraste a las que se administraron en la ración integral (ensilado de maíz, heno de alfalfa y concentrado) (0.14 vs 0.82 h, respectivamente), lo que sugiere que la adición de enzimas en el concentrado mejora el inicio de la digestión. Sin embargo, la inconsistencia en los resultados indica que se requieren más estudios que permitan concluir sobre los efectos de las enzimas fibrolíticas exógenas en la producción de gas in vitro, así como en la síntesis bacteriana.

#### 5.5. Mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas

El incremento en la producción de leche o carne por efecto de las enzimas exógenas se debe, primordialmente, al aumento en la digestión de los componentes fibrosos del

alimento (FDN, FDA), lo cual ya se ha reportado previamente en varios estudios in vitro (Elwakeel et al., 2007; Moreno et al., 2007; Rodrigues et al., 2008; Yang et al., 2011; Bhasker et al., 2012) e in vivo (Krueger et al., 2008; Gado et al., 2009; Salem et al., 2013), siendo más efectivas cuando se aplican en el alimento poco antes de ser consumido (Beauchemin et al., 2003).

La respuesta de las enzimas exógenas en rumiantes varía dependiendo del origen de la enzima y el tipo de forrajes en donde se utilicen, a lo que muchos investigadores solo se limitan a referir que hay interacción enzima - forraje, sin dar explicaciones del por qué se tiene o no respuesta a estos aditivos (Pinos et al., 2001; 2002b; 2008; Márquez et al., 2009). Beauchemin et al. (1995) ha postulado que no está claro si el efecto de las enzimas es resultado de su acción en el forraje o en el rumen, sin embargo no existen condiciones de pH, temperatura, contacto enzima sustrato fuera del rumen para que actúen las enzimas exógenas. Además, se ha reportado sinergismo entre diferentes enzimas lo cual abre la posibilidad de combinar enzimas de distintos microorganismos para desarrollar productos con mayor actividad.

Al respecto, Yang et al. (2011) mencionan una mayor digestibilidad in vitro de la MS cuando se aplican dos productos enzimáticos juntos, aunque este efecto fue sólo en el heno de alfalfa (forraje de mejor calidad) mientras que en la paja de arroz no hubo efecto ni en conjunto ni por separado. Lo anterior es un indicativo de que si las condiciones permiten la acción de la enzima, entonces los factores de calidad del forraje pueden ser determinantes en la respuesta a la adición de estos aditivos.

En cuando a las condiciones del sustrato, las enzimas exógenas actúan más efectivamente en alimentos húmedos que secos, debido a que el agua facilita la difusión de estas enzimas y es fundamental para llevar a cabo reacciones de hidrólisis de los polímeros de la fibra para liberar azúcares solubles (Beauchemin et al., 2003). En cuanto al tipo de forraje, es importante aclarar que la actividad de las enzimas exógenas hemicelulolíticas puede afectarse negativamente cuando se usan con ensilados, a pesar de su elevado contenido de humedad y pH favorable para la actividad enzimática, debido a la presencia de componentes inhibitorios característicos de los alimentos fermentados que disminuyen

hasta en 50%, la actividad de la enzima  $\beta$ -1,4-xilanasa. En contraste, las enzimas celulolíticas no se afectan (Nsereko et al., 2000).

#### 5.6. Actividad enzimática

El tipo de celulasas y hemicelulasas, así como su actividad, depende de los productos enzimáticos comerciales actualmente disponibles, lo cual impacta directamente en su capacidad para degradar los componentes de la pared celular de los forrajes (Beauchemin et al., 2003). La actividad enzimática depende de varios factores entre ellos su origen del microorganismo (hongos o bacterias), el tipo y estabilidad de la enzima, la especie y fin zootécnico del animal en la que se use y particularmente del pH, temperatura y condiciones de solución del tracto gastrointestinal, de la dosis, del sustrato, de la degradación en tracto (rumen, estómago, ácido, inhibidores), de las condiciones de manejo incluyendo el método de aplicación (Rojo et al., 2007; Meraz et al., 2012).

Por ejemplo, en relación al tipo de microorganismo, Márquez et al. (2007) reportaron que *Fomes* sp. EUM1 (anteriormente clasificado antes como *Trametes* sp.) tenía 5 y 7 veces más actividad xilanolítica, con 10 y 8 veces más actividad celulolítica que *Aspergillus niger* y *Pleurotus ostreatus*, respectivamente. En cuanto al pH, Ramírez et al. (2005) analizaron la actividad de tres enzimas comerciales y en todas observaron mayor actividad a un pH de 6.5 que 5.5. En cuanto al tipo de sustrato, Arce-Cervantes et al. (2013) observaron que la actividad xilanolítica de *Fomes* sp. EUM1 incrementó 136% cuando al sustrato (rastroy de maíz) se le agregó 20% de salvado de trigo; mientras que la actividad celulolítica no se afectó. Por lo anterior, las condiciones de cultivo modifican los niveles y tipo de enzimas producidas, lo que a su vez afectará la acción de las enzimas, aunado a que los factores de calidad del forraje son determinantes en la respuesta a la adición de estos aditivos.

Debido a su heterogeneidad, la pared celular no puede utilizarse como sustrato para evaluar la actividad enzimática; en su lugar se usan sustratos purificados: carboximetilcelulosa para endo- $\beta$ -1,4-glucanasas, avicel para exoglucanasas y xilano (de avena o abedul) para xilanasas (Beauchemin et al., 2004). Para poder evaluar una enzima o una mezcla de

enzimas comerciales, es importante medir la actividad enzimática en unidades internacionales (UI), en donde una UI se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 µg de azúcares reductores (xilosa o glucosa). Además, es necesario conocer la estabilidad o degradación de la enzima en condiciones ruminales (Meraz et al., 2012), por lo que en algunos casos las enzimas comerciales son glicosiladas, lo cual evita la degradación de los microorganismos ruminales, mostrando mejores resultados *in vitro* e *in vivo* (Pinos et al., 2001; 2002ab; 2008). Al comparar la actividad de los productos comerciales con la producida por los microorganismos ruminales, se ha encontrado que la actividad celulolítica es 40 a 50 veces mayor y la xilanolítica hasta 200 veces mayor (Márquez et al., 2007; Ramírez et al., 2005).

### 5.7. Desarrollo de nuevas enzimas

Una alternativa para promover el uso de enzimas es desarrollar productos más económicos. En su elaboración deben utilizarse materiales baratos, ampliamente disponibles en cualquier época del año y que no sean tóxicos. Es posible que sea necesario eliminar algunos constituyentes no deseados, como las proteasas, usando compuestos de boro con glicerol y propilenglicol, así como utilizar algunos estabilizantes (NaCl, glicerol, propilenglicol) y preservativos (benzoato de sodio, sorbato de potasio), especialmente en preparaciones líquidas; las preparaciones en polvo pueden “protegerse” para controlar el polvo y mantener la actividad enzimática. Otro punto importante es el desarrollo de enzimas termoestables que resistan la temperatura que alcanza el proceso de peletización, así como enzimas resistentes a los inhibidores naturales de los granos (Paloheimo et al., 2010); sin embargo, lo mencionado anteriormente incrementará el costo del producto.

Por otro lado, se deben desarrollar y probar enzimas en condiciones similares a las del rumen, el cual tiene un pH de 6.0 a 6.7 y 39°C, ya que en ocasiones, los productos enzimáticos se prueban a 60°C y a un pH entre 4 y 5 sobre estimando los resultados (Beauchemin et al., 2004; Meraz et al., 2012). La mayoría de los estudios en la literatura son con enzimas comerciales, las cuales son caras y no siempre tienen resultados positivos; sin embargo, existe una gran diversidad de bacterias y hongos que no han sido explorados aún, con potencial para producir enzimas. Algunos hongos con capacidad fibrolítica que

podrían estudiarse son *Fomesfomentarius*, *Trametesversicolor*, *Bjerkandera adusta*, *Pleurotusostreatus*, *Fomes* sp. EUM1 (Márquez et al., 2007; Marquez et al., 2009; Ordaz et al., 2009), o bien, la bacteria *Cellulomonasflavigena* (Hernández et al., 2011a).

#### 5.8. Empleo de enzimas en rumiantes

En rumiantes, los primeros trabajos de investigación sobre el empleo de enzimas exógenas proceden de la década de los 60 (Burroughs et al., 1960; Rovics y Ely, 1962; Rust et al., 1965); la variabilidad de los resultados obtenidos, unido al elevado costo de las enzimas, hicieron desistir en su empleo.

En la actualidad, la reducción en los costos de producción y la existencia de preparados enzimáticos de actividad mejor definida, han vuelto a plantear el interés por el estudio del papel de las enzimas fibrolíticas en la alimentación de los rumiantes (Chen et al., 1995; Beauchemin et al., 1997; Mc Allister et al., 1999). Así algunos trabajos han demostrado que la suplementación con enzimas exógenas (celulasas y xilanasas) puede mejorar la digestibilidad ruminal y aumentar la producción de leche o el crecimiento de rumiantes (Yang et al., 1999). Estos resultados llegan a ser sorprendentes para algunos autores al considerar el extenso potencial de las enzimas fibrolíticas endógenas de la microflora del rumen. Entre las razones que justifican el empleo de enzimas en rumiantes, destacan (Beauchemin y Rode, 1996; Hristov et al., 1996):

a.- La digestibilidad de la materia orgánica en rumiantes raramente supera el 90% y resulta con frecuencia considerablemente menor.

b.- Actualmente se dispone de nuevos alimentos para rumiantes, muchos de ellos subproductos de baja calidad, en los que las enzimas pueden ser de especial utilidad para mejorar sus posibilidades digestivas.

## 5.9. Factores que afectan la calidad de leche

### 5.9.1. Sistemas de producción

Sin duda alguna el sistema de producción afecta en gran medida la calidad de la leche así como los productos derivados de la misma, cuando los animales alimentados en sistemas extensivos es decir la base de su alimentación es el pastoreo, la calidad de la leche diferirá en comparación de animales confinados cuya alimentación por lo general son dietas integrales. La producción de leche de cabra y su contenido de grasa pueden aumentar cuando el forraje está en una fase temprana de crecimiento. Al igual que en las vacas, cuando el forraje verde influye fuertemente en el contenido de ácidos grasos de la leche mediante el aumento de AGPI y porcentajes de CLA. Cuando los animales son alimentados en sistemas extensivos de producción y cuya base de alimentación son pastos cultivados, el tipo de especies forrajeras, el escenario de vegetación, la estación y la carga animal puede modificar la composición y la calidad de la leche. Cuando las cabras son alimentadas con pastos nativos producen leche rica en grasas y en micro- componentes, que son benéficos para la salud humana como los ácidos grasos y las vitaminas, además de los componentes volátiles responsables de las características sensoriales (Morand et. al. 2006).

Cuando el uso de los concentrados en la dieta aumenta a 60 % de la ingesta total de materia seca, el contenido de grasa puede disminuir lentamente y linealmente, pero si el consumo de concentrado alcanza el 60-80 %, el contenido de grasa puede disminuir rápidamente debido a un bajo porcentaje de fibra en la dieta. Los estudios confirman que el contenido de grasa de la leche influye en el contenido de grasa del queso, así como las cualidades sensoriales. Ledesma et. al. 2007, observaron un efecto de la dieta en la composición mineral de la leche de forma que las muestras de leche obtenida de cabras alimentadas con forraje mostraron mayores concentraciones medias de Ca, Zn, Cu, K y Se que las muestras obtenidas de animales alimentados con una ración rica en concentrados.

En relación a cualidades sensoriales de los quesos elaborados con leche de cabra, Galina et. al. (2007), encontró diferencias significativas en la composición de quesos de pasta blanda elaborados con leche proveniente de cabras en pastoreo en comparación de cabras en

confinamiento. De igual manera Soryal et. al. (2004), encontró un puntaje más alto en el sabor del queso Domiati elaborado con leche de cabras alpinas en pastoreo sin suplementación en comparación con cabras en confinamiento con suplementación y con heno de alfalfa como fuente de forraje.

#### 5.9.2. Etapa de la lactancia

Un estudio durante el 2007 en los Estados Unidos reveló que la mayoría de la producción de leche se da entre febrero-marzo y noviembre-diciembre (Zeng et. al., 2008). En este estudio los porcentajes de grasa y proteína al inicio de la lactancia eran muy altos (5.1 y 4.5 respectivamente) esto debido muy probablemente a la baja producción de leche (2.8 kg/día). En el pico de la lactancia, la producción aumento y alcanzó su máximo con 3.6 kg/día sin embargo los porcentajes de grasa y proteína comenzaron a disminuir. Conforme la etapa de la lactancia avanzaba, la producción de leche comenzó a declinar y los porcentajes de grasa y proteína se incrementaron nuevamente.

Zahraddeen et. al. (2007) reportaron un porcentaje menor del contenido de proteína en la leche de cabra en la mitad de la lactancia y este porcentaje se incrementó gradualmente a medida que la lactancia avanzaba, por el contrario el contenido de la lactosa disminuyo en la misma relación.

El contenido de células somáticas (SCC) en leche de cabra se incrementa a medida de que avanza la lactancia. Gomes et. al. (2006) reportaron que el SCC se incrementó de  $2.6 \times 10^5$  /ml en el primer mes de ordeña a  $6.5 \times 10^5$  en el octavo mes de ordeña. Igual manera Paape et. al. (2007) encontraron 2.5 a 4 veces más el SCC en la leche de cabra a los 15 días postparto que a los 285 días de ordeña, sin embargo este alto contenido de células somáticas a los 15 días postparto podría haber sido resultado del SCC residual del calostro ya que estaba tan cerca del parto. Zeng et. al. (1999) observaron un alto SCC en leche de cabra almacenada en tanques de enfriamiento a granel (n=2582) durante los últimos meses de ordeña, aunque estos resultados pudieran estar influenciados por el tipo de ordeña.

### 5.9.3. Paridad

Los porcentajes de de grasa de la leche y las concentraciones de proteína están influenciados por el número de partos de las cabras, así como el rendimiento y el conteo de células somáticas (Goetsch et. al. 2011). Zeng et. al. (1995) concluyen que la producción de leche es menor en cabras primíparas que en cabras multíparas y el mayor rendimiento se presenta entre el tercer y cuarto parto. De la misma manera Zaharaddeen et. al. (2009) trabajando con Red Sokoto, Sahel y cabras enanas del África Occidental encontraron un incremento en el rendimiento diario de leche al comparar cabras al primer parto vs cabras con el tercer parto. Zeng et. al. (2008) encontraron que las concentraciones de grasa y proteína fueron muy similares en los primeros cinco partos pero en el parto 6 disminuyeron considerablemente.

En relación al conteo de células somáticas Wilson et. al.(1995), Contreras et. al. (1999), Salama et. al. (2003), Paape et. al. (2007) y Zeng et. al. (2008) coinciden en que el SCC se incrementa en medida que los partos aumentan. Boscos et. al. (1996) en contraron niveles más bajos de SCC  $3,0 \times 10^5$  / ml en la leche de cabra de la raza Saanen y griegas autóctonas de primer parto en comparación con cabras en el 6 parto que tuvieron un SCC d  $6,0 \times 10^5$  / ml, este aumento de SCC en función con el aumento de la paridad se debe a una mayor presencia de bacterias y estrés acumulativo de la glándula mamaria. Paape et. al. (2007) llegaron a la conclusión de que el aumento en el SCC en gran mayoría es debido a factores no infecciosos, aunque conforme aumenta el número de partos la frecuencia de infecciones intramamarias también aumenta.

### 5.9.4. Tamaño de la camada

Un gran número de investigadores concuerdan en que la producción de leche de cabras puede verse afectada por la prolificidad ([Browning et al. 1995], [Carnicella et. al. 2008] y [Delgado-Pertiñez et. al. 2009]). Delgado-Pertiñez et. al. (2009) observaron un mayor rendimiento en cabras lecheras Payoya autóctonas del sur de España este incremento en la producción se registró durante la semana 1 y 5 de lactancia y se dio cabras con partos gemelares vs parto sencillo, independientemente del método de ordeño. Posteriormente durante el periodo post-destete de la semana 6 a la 30, la producción de leche fue similar

entre los dos rebaños. Lo anterior nos permite concluir que las diferencias fisiológicas como el desarrollo de la glándula mamaria durante la gestación debido al nivel de lactógeno placentario, tienen un mayor impacto sobre la producción de leche que el efecto que tiene la estimulación de la lactancia por efecto del amamantamiento (Browning et. al. 1995). De igual manera Carnicella et. al. (2008) observó que la producción diaria de leche en cabras maltesas autóctonas del sur de Italia, no hubo diferencia significativa en rebaños con parto sencillo y parto gemelar, en un periodo de lactancia post-destete de 250 días.

Peris et. al (1997) concluyen que las diferencias en la producción de leche de cabra por efecto del tamaño de la camada se harán más notables al inicio de la lactancia y estas diferencias disminuirán en el periodo de la lactancia post-destete.

#### 5.9.5. Época del año

El mayor número de partos en los EE.UU. se dan el mes de marzo y abril con lactancias de entre 270 y 300 días post-parto, por lo que las cabras se secan entre noviembre y diciembre (Zeng et. al. 2008). Durante el año 2007 tanto la grasa como la proteína de la leche de cabra en los EE. UU. Registraban promedios muy altos en los meses de enero (5.1 y 4.5% respectivamente) sin embargo la producción de leche en ese periodo era baja (2,8 kg/día). Con los días de la lactancia aumentaban, la producción de leche se incrementó hasta alcanzar su punto máximo en el mes de abril (3,6 kg/día), por otro lado; manera mientras que los niveles de producción aumentaban conforme avanzaba la lactancia, los porcentajes de grasa y proteína disminuían registrando los niveles más bajos en los meses de junio y julio. Cuando la producción de leche a declinar, las concentraciones de grasa y proteína aumentaron de nuevo.

En un estudio realizado por Kondyli et. al. (2011) en el cual evaluaron las características químicas y microbiológicas de la leche de oveja de la razas Boutsiko y Karamaniko así como la raza griega indígena (Capra Prisca), encontraron que los contenidos de grasa y lactosa fueron afectados por efecto de la temporada (primavera vs verano), para el resto de los parámetros (proteína, nitrógeno total, caseína, sólidos no grasos y sólidos totales) no hubo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Delgado-Pertiñez et. al. (2003) reportaron que el efecto de la temporada del año influyo sobre el SCC, en un estudio con 28 granjas de cabras lecheras en la Sierra Norte de Sevilla y Cádiz las concentraciones más bajas se registraron durante los meses de diciembre y marzo ( $1.51 \times 10^6$  / ml) y las más altas en agosto y septiembre ( $3.79 \times 10^6$  / ml), sin embargo este SCC probablemente se debió a la etapa de la lactancia, la cual durante este último periodo estaba por terminar.

#### 5.9.6. Frecuencia de ordeña y amamantamiento.

Las cabras difieren de las vacas lecheras en el reflejo neuroendocrino de la eyección de la leche debido a que tienen una mayor capacidad de almacenamiento de la leche en la cisterna de la ubre (Silanikove et. al 2010), esto limita el beneficio potencial en la producción de leche del efecto del amamantamiento en comparación con una ordeña con máquina. Sin embargo si se han observado diferencias en la producción de leche entre estos dos sistemas existiendo considerables variaciones debido a las mismas condiciones del experimento o sistemas de producción.

Tradicionalmente, las cabras han sido ordeñadas dos veces al día, pero esto implica un incremento en los costos de producción por concepto de mano de obra, esto conlleva a un creciente interés por la transición de ordeña 1 vez al día con la finalidad de disminuir costos. El efecto en el rendimiento en la producción de leche por causa de la frecuencia de ordeño varia por múltiples factores, uno de los cuales es la raza, cabras genéticamente altas productoras tendrán un efecto mucho más marcado en comparación con cabras con bajo potencial de producción y de igual manera esta tendencia se verá reflejada con la calidad de la dieta, cabras con alto potencial y una dieta con baja calidad no será posible obtener buenos rendimientos de leche. Sin embargo, la reducción en la producción de leche en términos generales es de alrededor del 20% en comparación con dos ordeñas al día (Komara et. al., 2009).

Del mismo modo, el efecto de la frecuencia de ordeño es mayor en el primero y segundo tercio de la lactancia cuando el rendimiento es mayor que al final de la lactancia (Silanikove et. al., 2010). Por otro lado Salama et. al. (2003) mencionan que cuando se

tiene una ordeña al día el pico de la lactancia dura menos días en comparación con dos ordeñas. Debido al aumento en la capacidad de la cisterna, a medida que el número de partos se incrementa, la diferencia en la producción de leche comparando una ordeña y dos ordeñas al día, disminuye.

Salama et. al. (2003) observaron en cabras de la raza Murciano-Granadina que la reducción en la producción de leche comparando una ordeña versus dos ordeñas al día, era mayor durante los tres primeros partos disminuyendo esta diferencia en los partos subsecuentes. También se observó una interacción correspondiente entre la paridad y la frecuencia de ordeño en la concentración de grasa de la leche. Komara et. al. (2009) llegaron a la conclusión de que el tamaño de la ubre, no parece ser un buen indicador para tomar la decisión de pasar de dos ordeñas al día a una sola con la finalidad de bajar costos de producción sin que los rendimientos de leche se vean afectados considerablemente.

#### 5.9.7. Genotipo.

Las diferencias genéticas están dadas por las características que existen entre razas, por ejemplo Gipson y Grossman (1987) mencionan que las razas suizas (Saanen, Alpinas y Toggenburg) tienen una mayor producción de leche que las Nubias o La Manchas. En un estudio realizado en México por Montaldo et. al. (1997), se comparó el rendimiento lácteo de dos grupos genéticos, el primero grupo con cruza de Cabras Granadina y Nubia X autóctonas mexicanas y un segundo grupo con cruza de cabras Alpinas, Saanen y Toggenburg X autóctonas mexicanas, este segundo grupo registro una mayor producción diaria de leche, lactancias más extendidas y por lo tanto una mayor producción total de leche. En Italia, el efecto del hato-año fue el factor principal que determina la producción de leche (Crepaldi et. al. 1999), sin embargo los rendimientos también pueden estar influenciados por los sistemas de producción, la calidad de la dieta y el sistema de ordeña.

Montaldo et. al. (2010) informaron que las correlaciones genéticas y ambientales entre la producción de leche en primer parto y el intervalo entre partos fue desfavorables para cabras Alpino, La Mancha, Saanen y Toggenburg, esto es similar a las relaciones que se

presentan en el ganado lechero. Por lo tanto, el bajo desempeño reproductivo puede ir acompañado de un alto potencial productivo.

Zeng et. al. (2008) analizaron un extenso conjunto de datos de cabras lecheras del programa de mejoramiento genético de los EE. UU. En este estudio encontraron que las cabras enanas nigerianas tenían el más alto porcentaje de grasa en la leche (6.4%), que fue prácticamente más del doble que el registrado por las cabras Sable (3.0%). Entre las seis principales razas lecheras, la leche de las cabras Nubias fue la que registro el más alto contenido de grasa, mientras que el más bajo nivel lo registro la leche de las cabras Toggenburg. Las cabras Enanas y Pigmeas nigerianas registraron los más altos niveles de proteína en la leche (4.4%). En cuanto a la producción de leche las cabras Sable fueron las más productivas (3.9 kg/día) mientras que las cabras enanas y pigmeas fueron las menos productivas. Mientras que la producción de leche de mayor a menor, de las seis principales razas lecheras se presentó de la siguiente manera: Alpina, Sannen, Oberhasli, La Mancha, Toggenburg y Nubia. Estas diferencias en la producción de leche influye de manera parcial sobre el contenido de grasa y proteína en leche debido al “factor de concentración”, las diferencias entre razas son menos marcadas que las diferencias por el nivel de producción. Con respecto a las diferencias entre razas en relación al SCC, Zeng et. al. (2008) encontraron niveles más altos razas Toggenburg y Nubia ( $5,7$  y  $5,3 \times 10^5$  / ml, respectivamente). Sin embargo estos niveles se encuentran por debajo de los niveles reglamentarios de  $1,5 \times 10^6$  / ml para el grado “A” de la leche de cabra de los EE. UU.

Paape et. al. (2007) estudiaron el efecto de la raza de cabra durante un periodo de 5 años y también encontró concentraciones altas de SCC ( $6,5 \times 10^5$  / ml) en la leche de Toggenburg en comparación con cabras Alpinas, Nubias y Saanen.

#### 5.9.8.- Higiene

En un estudio realizado por Delgado-Pertiñez et. al. (2003) documentaron mediante el muestreo 14 granjas de cabras lecheras en el la Sierra Norte de Sevilla en donde la ordeña es a mano y otras 14 granjas en la sierra Norte de Cádiz donde se ordeña con maquina las diferencias que se pueden presentar mediante un adecuado manejo de la higiene al

momento de la ordeña; en ambos casos en las granjas que se implementaron mejora en las prácticas de manejo y ordeño hubo una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) tanto en el recuento bacteriano (165000 bacterias / ml frente a 379000 bacterias / ml del tanque de enfriamiento) como en el SCC (1.564 millones de células / ml frente a 2.564 millones de células / ml). La principal fuente de contaminación bacteriana de la leche fue su manejo al momento de salir de la ubre (65000 bacterias / ml) hasta llegar al tanque de refrigeración (en el caso de máquina de ordeña con 362000 bacterias / ml) o el tanque de la cooperativa (en el caso de ordeña a mano con 262000 bacterias por ml). Concluyeron que el establecimiento de las condiciones adecuadas de manejo higiénico-sanitario las granjas, mejoró la calidad bacteriológica y el SCC al caer por debajo de los límites recomendados. Estas mejoras incluyeron el saneamiento de la granja y sala de ordeño, lavado de ubres antes de la ordeña y sellado al finalizar, mantenimiento de equipo de ordeño y un rápido transporte después del ordeño a los tanques de enfriamiento (ordeña con maquina) y a los tanques de almacenamiento de la cooperativa (ordeña a mano).

#### 5.9.9.- Infecciones intramamarias

Existe una serie de bacterias que son de suma importancia en salud pública, por ser causantes de enfermedades en el ser humano, transmitidas a través de la leche. La leche es un excelente medio de cultivo y protector para ciertos microorganismos, en especial bacterias patógenas, provenientes del animal, el hombre o el medio ambiente. Estas pueden ser excretadas directamente por la glándula mamaria a la leche o estar originadas en la piel o mucosa del animal o del ordeñador y contaminar la leche. Una fuente importante de contaminación láctea suele ser el agua contaminada que se usa en el establecimiento.

Numerosas epidemias del pasado fueron erradicadas o disminuyeron en forma importante en su prevalencia, tal es el caso del ántrax, pasteurelisis, tuberculosis y brucelosis. Sumado al control de enfermedades que se realiza en el ganado, la leche es sujeta a tratamiento térmico adecuado, con el fin de eliminar bacterias patógenas, por lo cual los brotes epidémicos originados en la leche pertenecen al pasado. Sin embargo, durante los últimos años, problemas higiénico-sanitarios debidos a bacterias patógenas en la leche, perjudicaron a la industria lechera. En muchos de estos casos, la leche fresca fue la fuente de

contaminación, como el caso de *Listeria*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Staphylococcus aureus*.

Las principales bacterias presentes en la leche fresca que son consideradas peligrosas para la salud humana son:

a. *Listeria monocytogenes*.

*Listeria monocytogenes* ha sido aislada de pescados, vegetales, agua, caños de desagüe, animales salvajes, insectos y en una variedad de alimentos. El microorganismo ha adquirido importancia en la industria láctea ya que ésta debe asegurarse de producir alimentos libres de *L. monocytogenes*.

La bacteria es el agente etiológico de una serie de enfermedades en los animales y el hombre. En bovinos y ovinos causa aborto, muerte neonatal, encefalitis (enfermedad del torneo). Asimismo, puede ser agente etiológico de mastitis, pudiendo transformarse en mastitis crónica; la bacteria se excreta durante un tiempo prolongado mientras no sea tratado con antibióticos el animal.

b. *Campylobacter jejuni*.

Esta bacteria, según varios trabajos, puede infectar la glándula mamaria sin ocasionar síntomas de mastitis; el consumo de leche cruda puede provocar diarrea en el ser humano. El principal síntoma que se detecta en el ser humano que padece una infección por esta bacteria es enteritis con la consiguiente diarrea.

c. *Yersinia enterocolitica*.

Esta bacteria es la principal dentro de las siete especies que incluyen el género *Yersenia*, siendo la más importante en el campo de higiene de los alimentos. La inoculación de esta bacteria en la ubre causa aumento de las células somáticas, sin llegar a aparición de síntomas clínicos. En el ser humano puede causar enteritis, diarrea, artritis, pudiendo llegar a una septicemia. Los casos registrados en el pasado eran fruto de la contaminación de productos lácteos luego de la pasterización.

d. *Salmonella sp.*

La salmonelosis es ocasionada por la ingestión de bacterias vivas. Si bien está asociada al consumo de huevos o subproductos contaminados, la ingestión de la leche y sus derivados también han sido responsables de la enfermedad en varias ocasiones. Las enfermedades gastroentericas se observan con mucha frecuencia, con aparición de diarrea causad por la toxina bacteriana. Si bien la presencia de *Salmonella* en la leche cruda ha sido registrada en diversos casos, la leche pasteurizada y sus subproductos también fueron responsables de la enfermedad. No es que el proceso de la pasterización no haya sido eficiente, sino que ocurrió la contaminación de los productos después del proceso térmico. Entre los síntomas generados por la enfermedad se destacan la diarrea, dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal y vómitos.

e. *Staphylococcus aureus.*

*S. aureus* es un importante agente causante de mastitis. Sumado a esto se puede destacar su papel en intoxicaciones alimenticio. Este tipo de intoxicaciones ocurre por una serie de enterotoxinas (denominadas así por afectar el aparato gastrointestinal). Se ha informado que un 10 a 30% de las cepas de *S aureus* cusantes de mastitis producen enterotoxinas (exotoxinas).

Cuando el consumo de leche fresca o sus subproductos es responsable de la intoxicación por *S aureus*, dos puntos deben tomarse en cuenta. Primero el origen de la contaminación que puede ser a partir de ubres infectadas, fuente humana o el medio ambiente. En segundo lugar, problemas de almacenamiento que resultan en la multiplicación de la bacteria. Los síntomas de esta toxicoinfección son vómitos diarreas y dolor de cabeza y abdominal, todo de aparición rápida (en 2 a 4 horas) porque es la toxina la que actúa cuando y está presente en el alimento contaminado.

f. *Mycobacterium bovis.*

La enfermedad causada por el *M. bovis* se caracteriza por un progresivo desarrollo de tubérculos en diversos órganos del animal y también del hombre. La enfermedad es importante por razones de la salud pública, así como por los daños económicos para la producción animal. La tuberculosis es una enfermedad que se difunde en el animal

enfermo donde el bacilo llega a la ubre y de ahí a la secreción láctea, o también debido a una contaminación posterior de la leche por personas o animales enfermos.

Las células somáticas en la leche de cabra se componen de diferentes tipos leucocitos (Dulin et. al., 1982). En un estudio de 71 rebaños de cabras, la leche producida era recolectada en tanques de enfriamiento colectivos, las muestras fueron tomadas directamente de los tanques, en dichas muestras se encontró una distribución de 87% de neutrófilos, 9.9% de macrófagos, 2.8% de linfocitos con un SCC promedio de  $1.3 \times 10^6$  / ml (Droke et. al., 1993).

Cuando se presentaron infecciones intramamarias en las cabras los niveles de neutrófilos se incrementaron considerablemente de 40 a 79%, los macrófagos también aumentaron pasando de un 15 a un 38%, y de igual manera los neutrófilos y SCC también se incrementaron con la infección.

Es común encontrar altos porcentajes de neutrófilos polimorfo-nucleares aun teniendo bajos SCC ( $<5 \times 10^5$  / ml), sin embargo estos niveles tienden a aumentar conforme la etapa de la lactancia avanza así como la edad de las cabras mientras que los niveles de linfocitos y macrófagos disminuyeron.

En un estudio realizado en Grecia con cabras lecheras, se encontró que las infecciones por estreptococos son muy raras, lo que no sucede con vacas lecheras (Kalogridou-Vassiliadou, 1991). Tras un análisis de muestras de leche de cabra se lograron identificar los principales patógenos relacionados con la mastitis, estos patógenos se encontraron distribuidos de la siguiente manera: 59% de Estafilococos spp., 30% de Bacillus spp., 4% Coliformes, 3% de Micrococos spp., 2% de Estreptococos., 1% de Corynebacterium spp., y 1% de Pseudomonas spp.

En un estudio francés, se infectaron parcialmente la ubres con Estafilococos aureus, estafilococos coagulosa negativos, y el 75% no estaba infectado (Lerondelle et. al., 1992). La infección por S. aureus causó un alto SCC ( $7.9 \times 10^6$  / ml), mientras que los

estafilococos coagulosa negativos tuvo  $1.0 \times 10^6$  / ml de SCC y finalmente las ubres no infectadas fueron de  $5,2 \times 10^5$  / ml.

Contreras et. al. (1996) estudiando el umbral fisiológico de SCC en cabras españolas Murciano-Granadina, encontraron que el 18% de las ubres fueron infectadas y los patógenos prevalentes fueron 70% Estafilococos coagulosa negativos el 1% Estafilococos coagulosa positivos. Tres años más tarde, Contreras et. al. (1999) reportaron una distribución diferente a la reportada en España, trabajaron con un rebaño de 138 cabras en los EE. UU. Donde se tuvo una incidencia de infecciones intramamarias del 34%, la mayoría de los patógenos involucrados eran Estafilococos (96%) de los cuales S. epidermidis fue la especie predominante (67%). El SCC fue ligeramente mayor en la leche de las ubres con infección subclínica de S. epidermidis ( $1.84 \times 10^6$  / ml) que en la leche con otras infecciones de Estafilococos ( $1.552 \times 10^6$  / ml).

En un estudio con 30 cabras en los EE. UU. Se tomaron muestras de leche para realizar cultivos e identificar patógenos haciendo comparaciones de manera mensual del SCC (Wilson et. al., 1995). Más del 90% de la diferencia en SCC no estaban relacionadas con infecciones intramamarias. En los cultivos que resultaron positivos, se pudo determinar que se incrementaron los días de ordeña, hubo una disminución en la producción de leche, aumentaron el número de partos y se determinó que el muestreo coincidía con los meses de invierno que corresponde al final de la lactancia, todo esto explica el 23% de la variación total de SCC.

Zeng y Escobar (1995) realizaron cortes histológicos para hacer pruebas patológicas sobre los tejidos de la ubre utilizando para ello cabras con bajo ( $950.000$  / ml) medio ( $1,5$  millones / ml) y alto SCC ( $3,3$  millones / ml), se reportó que en ninguno de los tres niveles revelaron cambios en las glándulas mamarias y otras pruebas de mastitis, lo que indica que las cabras lecheras sanas con ubres sanas pueden producir leche con  $>1,0 \times 10^6$  / ml sobre todo al final de la lactancia sin que esto represente una infección intramamaria

En un seguimiento de evaluación a gran escala, White y Hinckley (1999) observaron una prevalencia del 36% de infecciones intramamarias (tanto clínica como subclínica), además

informaron que un SCC elevado por sí solo no representa un indicador válido para una infección intramamaria en cabras lecheras.

## 6. Materiales y métodos

Todos los procedimientos involucrados en el manejo de los animales durante el periodo experimental se llevaron a cabo de acuerdo con las normas oficiales mexicanas del cuidado de los animales (NOM, 1995).

### 6.1. Ubicación de estudio

El experimento fue realizado en el área metabólica de la granja, y el laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec (Figura 1), Universidad Autónoma del Estado de México (19°02'04"N, 100°02'14"W, 1720 metros sobre el nivel del mar). El clima es moderadamente húmedo con lluvias en verano, una temperatura promedio de 15-18°C y precipitación pluvial 950 a los 1000 milímetros (García, 1987).



Figura 1. Localización geográfica del área metabólica y laboratorio de nutrición animal, Centro Universitario UAEM Temascaltepec.

## 6.2. Animales, alojamiento, alimentación

Después del parto, veinticuatro cabras lecheras Alpino Francés de primer parto ( $39\pm 2.0$  kg de peso vivo y 9 meses) fueron alojadas en corraletas individuales, para que durante 10 días se adaptaron al manejo (Figura 2) y la ingestión de una dieta basal (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ingredientes de la dieta basal, se ofreció a las cabras lecheras Francés Alpinos durante el primer tercio de la lactancia.

Ingrediente	%	Proteína cruda	Energía metabolizable
Granos Sorgo	17.1	1.88	0.51
Grano de Maíz	17.1	1.53	0.54
Salvado de Trigo	9.0	1.53	0.22
Harina de Soya	9.0	4.41	0.27
Urea	1.2	3.45	
Melaza	4.8	0.28	0.12
Minerales y Vitaminas	1.8	-	
Rastrojo de Maíz	8.0	0.20	0.4
Heno de Alfalfa	32.0	5.76	0.67

\* Premezcla de minerales y vitaminas conteniendo: vitamina A (12 000 000 IU), vitamina D3 (2 500 000 UI), vitamina E (15 000 UI), vitamina K (2,0 g), vitamina B1 (2,25 mg), vitamina B2 (7.5), vitamina B6 (3,5 g), vitamina B12 (20 mg), ácido pantoténico (12,5 g), ácido fólico (1,5 g), biotina (125 mg), niacina (45 g), hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0,30 g), selenio (200 mg), cobalto (0,20 g).

Después de ésta fase, se desarrolló un periodo experimental de 60 días. Todas las cabras fueron inyectadas con 3 mL animal<sup>-1</sup> de vitaminas liposolubles (A, D, E; Vigantol, Bayer,

Ciudad de México, México) y se trataron con 1.0 mL de Ivermectina animal<sup>-1</sup> (Laboratorio Sanfer, Ciudad de México, México) eliminar los parásitos internos y externos.



Figura 2. Cabras en periodo de adaptación a las jaulas individuales.

Durante todo el periodo experimental, se estuvo monitoreando el estado de salud de los animales. Una semana antes del inicio del experimento, las cabras se pesaron individualmente y fueron asignados aleatoriamente a dos tratamientos (12 cabras por tratamiento) bajo un diseño completamente al azar (Steel y Torrie, 1987).

El suministro de la dieta basal (ración totalmente mezclada; RTM) fue balanceada para cubrir los requerimientos nutricionales de cabras lecheras alpino francés, durante el primer tercio de la lactación (NRC, 1981). A las cabras se les ofreció la RTM, en tres frecuencias de alimentación (07: 00, 13:00 y 19:00 h).

Durante todo el período experimental, la cantidad de alimento ofrecido fue registrado, se recogió diariamente el rechazo y se pesó para la determinación de consumo diario de alimento. Además, se tomaron muestras semanalmente, para obtener una muestra compuesta durante todo el periodo experimental. Todas estas submuestras fueron secadas a 60 °C hasta obtener un peso constante y así almacenarlas para su análisis químico proximal.



Figura 3. Preparación manual de la ración totalmente mezclada proporcionada a las cabras durante el periodo experimental.

### 6.3 Tratamientos

Los tratamientos fueron: **CTRL**: dieta basal sin adición de celulasa; **Enzima**: dieta basal + Celulasas (Dyadic® Plus, Dyadic International, Inc., Jupiter, FL, EE.UU.) a razón de 2 mL kg<sup>-1</sup> de materia seca (MS) de alimento consumido (Figura 4). La actividad de la enzima exógena de la enzima celulasa fue de 30 000 a 36 000 unidades de celulasa g<sup>-1</sup> y 7500-10 000 unidades de beta-glucanasa g<sup>-1</sup>.

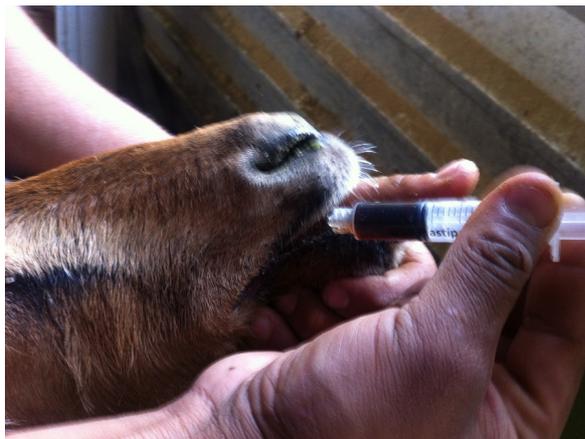


Figura 4. Suministro oral de la enzima a las cabras, durante el periodo experimental.

#### 6.4. Análisis de laboratorio

Las muestras compuestas previamente secadas, fueron molidas en un molino Wiley (molino Wiley, Modelo 4, científico Thomas, Swedesboro, NJ, USA.) equipado con una criba de 1 mm de diámetro, para determinarles: Materia seca (Método 930.15), ceniza (Método 942.05), extracto de éter (Método 945.16) y proteína cruda (CP; Método 984.13), según la AOAC (1997). Para la determinación de las paredes celulares, la fibra neutro detergente (FND) y fibra detergente ácido (FDA) se utilizó la metodología propuesta por Van Soest et al. (1991), utilizando una unidad ANKOM200 Fiber Analyzer (ANKOM Technology Corporation, Macedonia, NY, USA.) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición química de la ración totalmente mezclada, proporcionada a las cabras Alpino Francés durante el periodo experimental.

<i>Nutriente</i>	<i>(% kg<sup>-1</sup> de MS)</i>
Materia Seca	86.5
Materia Orgánica	92.6
Proteína Cruda	14.6
Extracto Etéreo	9.7
Fibra Detergente Neutro	35.6
Fibra Detergente Ácido	30.7

#### 6.5. Variables de respuesta

**Consumo de materia seca.** Se cuantifico diariamente mediante la sustracción de alimento ofrecido menos el rechazo.

**Producción de leche y composición química:** La cuantificación de la producción de leche se realizó mediante la técnica de pesar al cabrito antes y después de mamar (Figura 5), esta práctica se realizó a las 7:00 h y 16:00 h de cada día, de tal forma que la producción diaria

fue la suma de ambos datos. Esta variable se expresó en kg (balanza electrónica; OHAUS Mod. 5603, Ciudad de México, México.).



Figura 5. Pesaje de los cabritos, antes y después de mamar, para cuantificar la producción de leche ( $\text{kg cabra}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ).

Semanalmente se tomaron 50 mL leche para determinar su composición química (grasa, proteína, lactosa, densidad, sólidos totales; todos en ellos en unidades de  $\text{g kg}^{-1}$ ) mediante la ayuda de un Lactoscan (Milkanalyzer, 605).



Figura 6. Determinación de la composición química de la leche de las cabras, durante el periodo experimental.

**Producción promedio de grasa, proteína cruda y lactosa (g d<sup>-1</sup>):** Se calcularon multiplicando la producción de leche por el contenido de grasa, proteína cruda (g kg<sup>-1</sup>) de la leche de cada cabra

**La concentración de energía bruta en la leche:** fue calculada de acuerdo a Tyrell y Reid (1965) como se describe en Kholif et al. (2015) como:

**Energía bruta en la leche (MJ kg<sup>-1</sup>)** = 4.184 x 2.204 x [(41,63 x grasa (g kg<sup>-1</sup>) + 24.13 x proteínas (g kg<sup>-1</sup>) + 21.60 x lactosa (g kg<sup>-1</sup>) – 117.2]/10000

Para que de ésta forma se pudiera utilizar la siguiente ecuación:

**Energía de la leche se calculó como la producción de energía de la leche (MJ kg<sup>-1</sup>)** = energía de leche (MJ / kg) x rendimiento de leche (kg / día).

**Leche corregida en energía (LCE) se calculó de acuerdo con Sjaunja et al. (1991) como:**

LCE (kg día<sup>-1</sup>) = leche (kg día<sup>-1</sup>) x [38,3 x grasa (g kg<sup>-1</sup>) + 24,2 x proteínas (g kg<sup>-1</sup>) + 16,54 x lactosa (g kg<sup>-1</sup>) + 20,7] / 3140

## 6.6. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó en el experimento, fue un completamente al azar (dos tratamientos, 12 repeticiones verdaderas).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = j-ésima variable respuesta en el i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental (0,  $\sigma^2$ )

## 6.7. Análisis estadístico

Los datos de consumo de materia seca, producción de leche y composición se analizaron con el procedimiento PROC GLM (Procedimiento General de Modelos Lineales) de SAS (SAS Institute 2006) bajo un diseño completamente al azar. Cuando se encontraron diferencia entre tratamientos, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey a  $P < 0.05$  (Steel y Torrie, 1980).

## 7. Resultados y discusion

### 7.1. Consumo de materia seca

Las cabras que se les proporcionó las enzimas exógenas consumieron 400 g más ( $P = 0.049$ ) de alimento respecto al grupo control, este efecto se vio reflejado en una mayor producción de leche para el mismo grupo de cabras ( $P = 0.042$ ) (Figura 7). Las cabras complementadas con celulasa consumieron alrededor de 11% más de materia seca que las del grupo control, este resultado podría explicarse por un incremento en la digestibilidad de los nutrientes, principalmente con fracción de fibra, que es donde actúan las enzimas celulolíticas, estos resultados coinciden con los reportados por estudios previos (Salem et al., 2013; Gado et al., 2009) quienes al adicionar enzimas celulolíticas exógenas a la dieta de vacas lecheras el consumo de materia seca se incrementó en 13%.

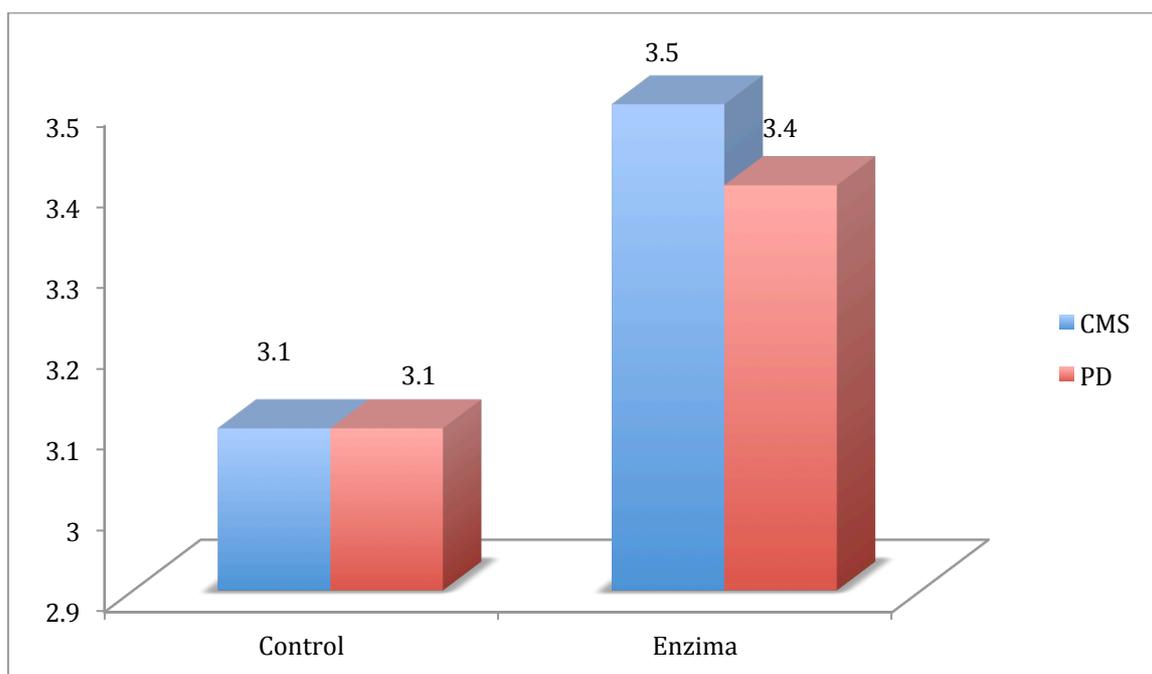


Figura 7. Consumo de materia seca y producción de leche ( $\text{kg d}^{-1}$ ) de cabras alpino francés suplementadas con enzimas fibrolíticas exógenas.

En el siguiente cuadro se presenta la información sobre contenido de energía de la leche, composición química, rendimiento de los componentes de la leche y eficiencia.

Cuadro 3. La producción y composición de la leche cabras alpino Francés alimentadas con la dieta basal (CTRL) o presencia de enzimas (2 ml / kg MSI) durante el primer tercio de la lactancia (60 días) (n = 12 por tratamiento).

Variable	Tratamientos			
	Control	Enzima	EEM	P
Leche corregida Energía (LCE, kg d <sup>-1</sup> )	2.6	3.3	0.12	0.001
Contenido de energía de la leche (MJ kg <sup>-1</sup> )	2.8	3.1	0.18	0.008
La producción de energía de la leche (MJ d <sup>-1</sup> )	8.3	10.5	0.37	0.001
Densidad (g mL <sup>-1</sup> )	1.026	1.028	0.0012	0.003
Composición de la leche (g kg <sup>-1</sup> )				
Sólidos totales	104	114	2.6	0.008
Grasa	34	40	1.5	0.016
Proteína	29	31	1.4	0.003
Lactosa	41	44	2.0	0.050
Rendimiento de los componentes de la leche (kg d <sup>-1</sup> )				
Sólidos totales	315	392	13.3	0.001
Grasa	103	136	5.9	0.001
Proteína	87	105	3.4	0.001
Lactosa	125	151	5.1	0.002
Eficiencia de la alimentación				
Leche (leche / CMS)	0.99	1.01	0.053	0.772
Leche corregida energía (CEL/CMS)	0.84	0.96	0.044	0.066

EEM= error estandar de la media. P= probabilidad (P<0.05) Tukey's.

## 7.2. Contenido de energía de la leche

El grupo de cabras que recibieron la complementación de 1 ml de enzimas kg<sup>-1</sup> de MS ingerida mejoró ( $P < 0.01$ ) leche corregida en energía (LCE, kg d<sup>-1</sup>), contenido de energía (MJ kg<sup>-1</sup>) y producción de energía de la leche (MJ d<sup>-1</sup>).

## 7.3. Composición química de la leche

Los sólidos totales ( $P = 0,008$ ), grasa ( $P = 0,016$ ), proteína ( $P = 0,003$ ), y lactosa ( $P = 0,05$ ) fueron mayores para las cabras complementadas con enzimas que para las cabras del grupo control. Se observaron las mismas tendencias de ( $P = 0,002$ ) de rendimiento sólidos totales ( $P = 0,001$ ), grasa ( $P = 0,001$ ), proteína ( $P = 0,001$ ) y la lactosa.

La eficiencia alimenticia se expresa como CEL/CMS tendió a ser mayor ( $P = 0,066$ ) para las cabras que recibieron enzima que para las cabras CTRL; Sin embargo, cuando se expresa como la producción de leche/CMS, no hubo diferencias (Cuadro 3).

## 7.4. La producción y composición de la leche

Cabras suplementadas con enzimas presentaron mayor producción de leche 13% (3,44 v. 3.05 kg / día) en comparación con las cabras del grupo control. Se observó la misma tendencia para energía corregida en leche, que fue de 26% mayor (3.29 vs 2.61 kg / día) para las cabras adicionadas con enzimas que para las del grupo control. Además, el contenido de energía de la leche y la producción de energía de la leche fueron mayores para las cabras que tuvieron la enzima celulítica exógena en su dieta.

La mayor producción de leche, podría ser el reflejo del mayor consumo de alimento, digestibilidad de los nutrientes y las actividades de fermentación ruminal debido a la adición de las enzimas (Gado et al 2009; Khattab et al 2011). Gado et al. (2009) informaron de 23% mayor producción de leche en vacas lecheras alimentadas con una ración totalmente mezclada suplementado con enzimas a 40 g / vaca / día durante 12 semanas. Por otra parte, habría de esperarse una mayor producción del ácido graso

propiónico por efecto de la adición de enzimas celulolíticas exógenas, respecto al grupo control. Y si se considera que el ácido propiónico es el precursor de la glucosa y la lactosa, estudios sugieren que el aumento de precursores glucogénicos resultaron una mayor producción de leche y proteína de la leche (Rigout et al. 2003). Esto es porque el propiónico (Yang et al. 1999). Adicionalmente al mejorar el consumo de materia seca por efecto de la adición de las enzimas celulolíticas exógenas, se podría pensar también que se estaría incrementando la concentración de ácido acético en el líquido ruminal y es la razón principal para el contenido de grasa mayor de leche (Gado et al. 2009).

También, el mayor contenido de grasa de la leche para cabras con enzimas, también podría estar relacionado con la mayor digestibilidad de NDF de esta dieta (Kholif et al. 2014). Uno de los resultados más sorprendentes fue el mayor contenido de lactosa de la leche cuando es típicamente muy constante y cambios sólo ligeramente (Elwakeel et al. 2007). El acetato ruminal, es la fuente principal para la síntesis de ácidos grasos de cadena corta en la leche, evitando de ese modo la proteína y el aumento de grasa de leche y el contenido de proteína (Fuller 2004). Kholif et al. (2014) demostraron que el contenido elevado de proteína láctea se relacionó con mayor consumo de materia seca, materia orgánica y digestibilidad de la fibra. En contraste, Dean et al. (2013) no informó ninguna diferencia en la producción de leche y los rendimientos de los componentes de la administración de suplementos de enzimas de la dieta de vacas lecheras.

## **8. Conclusión**

La inclusión de enzimas celulolíticas exógenas en alimentación de cabras lecheras alpino francés, mejora el consumo de alimento, producción y composición química de la leche.

## 9. Literatura citada

- AbuGhazaleh, A.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., (2003). Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *Journal Dairy Science*. 86, 944–953.
- Amjed M., H.G. Jung and J. D. Donker. 1992. Effect of alkaline hydrogen peroxide treatment on cell wall composition and digestion kinetics of sugarcane residues and wheat straw. *J. Anim. Sci.* 90:2877-2884.
- AOAC (1997). Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Vol. 1, 16th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Aranda I.E.M., G.D. Mendoza M., J.A. Ramos J., I. Cláudio da Silva B. e A.C. Vitti. 2010. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a degradação microbiana ruminal da fibra de cana-de-açúcar. *Ciencia Animal Brasileira* 11: 488-495.
- Arriola K.G., S.C.Kim, C.R. Staples, and A.T. Adesogan. 2011. Effect of fibrolytic application to low-and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 94: 832-841.
- Baah J., J.A. Shelford, A.N. Hristov, T.A. McAllister and K-J. Cheng. 2005. Effects of tween 80 and fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of feeds in Holstein cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 18: 816-824.
- Beauchemin K.A. and L. Holtshausen. 2010. Xylanases and cellulases as feed additives. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, 2<sup>nd</sup> edition. *In*: M.R. Bedford and G.G. Partridge (editors). CAB International. UK. pp: 206-230.
- Beauchemin K.A. D. Colombatto, D.P. Morgavi, and W.Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, 18(E. Suppl. 2): E37-E47.
- Beauchemin K.A., D. Colombatto, and D.P. Morgavi. 2004. A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 84: 23-36.
- Beauchemin K.A., D.P. Morgavi, T.A. McAllister, Z.W. Yang, and L.M. Rode. 2001. Effects of barley grain processing on the site and extend of digestion of beef feedlot finishing diets. *Journal of Animal Science*, 79: 1925-1936.
- Beauchemin KA, Colombatto D, Morgavi DP, Yang WZ. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J Anim Sci* 81: E37-E47.
- Beauchemin, K. A., L. M. Rode, and V.J.H. Sewalt. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. *Canadian Journal of Animal Science*, 75: 641–644.
- Beauchemin, K.A., Jones, S.D., Rode, L.M., y Sewalt, V.J.H. 1997. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 77:641-644.
- Beauchemin, K.A., y Rode, L.M. 1996. Use of feed enzymes in ruminant nutrition. *En: Animal Science Research Development. Meeting Future Challenges. Proceedings of the Canadian Society of Animal Science Meeting*. Ed. L.M. Rode. Lethbridge, Alberta, pp. 103-130.
- Bedford M.R. and H. Schulze. 1998. Exogenous enzyme for pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews*, 11: 91-114.

- Bhasker T.V., D. Nagalakshmi, and D.S. Rao. 2012. Fibrolytic enzymes on *in vitro* digestibility of sorghum stover. *Indian Journal of Dairy Science*, 65: 324-328.
- Bhat. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18: 355-383.
- Boscós C., Stefanakis A., Alexopoulos C., Samartzi F. (1996). Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter counter counts and California mastitis test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. *Small Ruminant Research*. 21, pp 139-147.
- Bowman G.R., K.A. Beauchemin and J.A. Shelford. 2002. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestibility by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 3420-3429.
- Boza J., Sanz Sampelayo M.R., (1997). Nutritional aspects of goat milk. *An Academia de Ciencias Veterinarias. Andalucía Oriental*. 10, 109-139.
- Browning R., Leite-Browning M.L., Sahlú T. (1995). Factors affecting standardized milk and fat yields in Alpine goats. *Small Ruminant Research*. 13, pp 173- 178.
- Burroughs, W., Woods, W., Ewing, S.A., Greig, J., y Theurer, B. 1960. Enzyme additions to fattening cattle rations. *J. Anim. Sci.*, 19:458-464.
- Burton R.A., M.J. Gidley, and G.B. Fincher. 2010. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nature Chemical Biology*, 6: 724-732.
- Cano A.L., E. Aranda, G.D. Mendoza, J. Pérez and J. Ramos. 2003. Comportamiento de toros en pastos tropicales suplementados con caña de azúcar y enzimas fibrolíticas. *Técnica Pecuaria México* 41:153-164.
- Carnicella D., Darío M., Ayres M.C. C., Laudadio V., Darío C. (2008). The effect of diet, parity, year and number of kids on milk yield and milk composition in Maltese goat. *Small Ruminant Research.*, 77, pp 71-74.
- Carro M.D., P. Lebzien, and K. Rohr. 1995. Effects of pore size of nylon bags and dilution rate on fermentation parameters in a semi-continuous artificial rumen. *Small Ruminant Research*, 15: 113-119.
- Chen, K.H., Huber, J.T., Simas, J., Theurer, C.B., Yu, P., Chan, S.C., Santos, F., Wu, Z., y Swingle, R.S. 1995. Effects of enzyme treatment or steam-flaking of sorghum grain on lactation and digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78:17211727.
- Chilliard Y, Rouel J, Ferlay A, Bernard L, Gaborit P, Raynal-Ljutovac K, Lauret A, Leroux C (2006) Optimising goat milk and cheese fatty acid composition: effects of genotype, feeding factors and dairy technology. In: Willians, C., Buttriss, J. (Eds.). "Improving the fat content of foods" Woodhead Publishing Ltd. pp. 281-312.
- Contreras A., Paape M.J., Miller R.H. (1999). Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. *Small Ruminant Research*, 31, pp 203-208.
- Contreras A., Sierra D., Corrales J. C., Sánchez A., Marco J. (1996). Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. *Small Ruminant Research*, 21, pp 259-264.
- Crepaldi P., Corti M., Cicogna M. (1999). Factors affecting milk production and prolificacy of Alpine goats in Lombardy (Italy). *Small Ruminant Research.*, 32, pp 83-88.
- Darcy B.K. and R.L. Belyea. 1980. Effect of delignification upon *in vitro* digestion of forage cellulose. *J Anim Sci.* 1980 51(4):798-803.

- Dean, D.B., Staples, C.R., Littell, R.C., Kim, S. & Adesogan, A.T. (2013). Effect of method of adding a fibrolytic enzyme to dairy cow diet on feed intake, digestibility, milk production, ruminal fermentation, and blood metabolites. *Animal Nutrition and Feed Technology* 13, 337-353.
- Delgado-Pertinhez M., Guzmán-Guerrero J.L., Caravaca F.P., Castel J.M., Ruiz F.A., González-Redondo P., Alcalde M.J. (2009). Effect of artificial vs. natural rearing on milk yield, kid growth and cost in Payoya autochthonous dairy goats. *Small Rumin. Res.*, 84 (2009), pp. 108–115.
- Delgado-Pertinhez M., Alcalde M. J., Guzmán-Guerrero J. L., Castel J. M., Mena Y., Caravaca F. (2003). Effect of hygiene-sanitary management on goat milk quality in semi-extensive systems in Spain. *Small Ruminant Research*, 47, pp 51-61.
- Dhiman T.R., Anand G.R., Satter L.D., Pariza M.W., (1999). Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal Dairy Science*. 82, 2136–2156.
- Dhiman T.R., M.S. Zaman, R.R. Gimenez, J.L. Walters, and R. Treacher. 2002. Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzymes prior to feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 101: 115-125.
- Droke E. A., Paape M. J., Di Carlo A. L. (1993). Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk *Journal Dairy Science*, 76 (1993), pp. 1035–1039.
- Dulin A. M., Paape M. J., Wergin W. P. (1982). Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. *Journal Food Prot.*, 45, pp. 435–439.
- Elwakeel, E.A., Titgemeyer, E.C., Johnson, B.J., Armendariz, C. K. & Shirley, J.E. (2007). Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 90, 5226-5236.
- Eun J.S., D.R. ZoBell, C.M. Dschaak, D.E. Diaz, and J.M. Tricarico. 2009. Case Study: Effects of supplementing a fibrolytic feed enzyme on the growth performance and carcass characteristics of beef steers. *The professional Animal Scientist*, 25: 382-387.
- Fang Z.F., Peng J., Liu Z.L. and Liu Y.G. 2007. Responses of non-starch polysaccharide-degrading enzymes on digestibility and performance of growing pigs fed a diet based on corn, soya bean meal and Chinese double-low rapeseed meal. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 91: 361-368.
- FIRA. (1999): “Oportunidades de Desarrollo en la Industria de la Leche y Carne de Cabra en México”, Boletín Informativo Número 13, Volumen 32 Noviembre FIRA, México.
- Flachowsky 2011. Carbon-footprints for food of animal origin, reduction potentials and research need. *Journal of Applied Animal Research*, 39: 2-14.
- Fuller, M.F. (2004). *The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Gado, H.M., Salem, A.Z.M., Robinson, P.H. & Hassan, M. (2009). Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 154, 36-46.
- Galina M. A., Osnaya F., Cuchillo C. M., Haenlein G. F. W. (2007). Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats. *Small Ruminant Research*. pp 264-272.

- Galina, M. (2002), "Los productores de queso de cabra en México. Fortalezas y Debilidades", Simposio Internacional sobre Caprinocultura. IGA y URG Querétaro. Querétaro.
- Galina, M.; Guerrero, M.; Serrano, G.; Morales, R. and Haenlein, G. (2000), "Effect of complex catalytic supplementation with non protein nitrogen on ruminal ecosystem of growing goats pasturing shrub land in Mexico", *Small Rum. Res.* 36:33-42.
- Galina, M.; Morales, R.; Jimenez, S. y Haenlein, G. (1998b), "Performance of dairy goats pasturing shrub land in Mexico supplemented with urea molasses mineral block", *Adv. Agric. Res.* 27 (1) 19-23.
- Galina, M.; Pacheco, D.; Silva, E.; Palma, J. and Hummel, J. (1995c), "Fattening goats with sugar cane sprouts, corn stubble, protein concentrate, molasses and urea", *Small Rum. Res.* 3:227-233.
- Galina, M.; Palma, J.M.; Morales, R.; Hummel, J. y Aguilar, A. (1993): "Manejo nutricional de la cabra lechera en un sistema de pastoreo en agostadero y sobre esquilmos agrícolas con suplementación", XVIII Congreso Nacional de Buitría. México, D.F. pp 325-327.
- Galina, M.; Palma, G.; Pacheco, D. and Morales, R. (1995b), "Effect of goats milk, cows milk, calves replacement and partial substitution with whey of the replacement mixture in artificial feeding of lactating female kids", *Small Rum. Res.* (2)153-158.
- Galina, M.; Puga, D.; Hernández, A. and Haenlein, G. (1998a), "Biodiverse and growing goats pasturing shrub land in Mexico", *Small Rum. Res.* (36):33-42.
- Gállego C.L. 2006. Los cordados. Origen y diversificación. Editorial Club Universitario. España.
- García UM (1996) Therapeutic utility of the medium-chain triglycerides. Ketogenic diets in the infantile epilepsy. *Nutrition Clinic* 16:7-35.
- García, E., 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 246 p.
- Gipson T. A., Grossman M. (1987). Lactation curves in dairy goats. *Proc. de la IV Int.. Conf. en cabras*, Embrapa, Brasilia, Brasil (1987), pp 1448-1449.
- Goetsch A. L., Zeng S. S., Gipson T. A. (2011). Factors affecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research*. Volume 101, pp 55-63.
- Gomes, A.M. Melville P. D. L., M. Paiva, K.M., Madureira, Araujo W. P. (2006). Effect of the stage of lactation on somatic cell counts in healthy goats (*Caprae hircus*) breed in Brazil. *Small Ruminant Research.*, 64, pp 30-34.
- Gómez V.A., G.D. Mendoza, E. Aranda, J. Pérez, A. Hernández, J. M. Pinos-Rodríguez. 2011. Influence of fibrolytic enzymes on growth performance and digestion in steers grazing stargrass and supplemented with fermented sugarcane. *Journal of Applied Animal Research* 39:77-79.
- Gómez V.A., J. Pérez, G.D. Mendoza, E. Aranda and A. Hernández. 2003. Fibrolytic enzymes improve performance in steers fed sugar cane and stargrass. *Livestock Production Science* 82:249-254.
- Ha YL, Storkson J, Pariza MW. (1990). Inhibition of benzo (a) pyrene-induce mouse forestomach neoplasia by conjugated derivatives of linoleic acid. *Cancer Research*, 50: 1097-10101.
- Haenlein G.F.W., (1996). Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. In: *Proceedings of the, IDF/CIRVAL, Seminar Production, Utilization of Ewe, Goat, Milk*, vol. 9603, Internat. Dairy Fed. Publ., Brussels, Belgium, pp. 159-179.

- Haenlein GFW, (1996) Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. In: Proceedings of the, IDF/CIRVAL, Seminar Production, Utilization of Ewe, Goat, Milk, vol. 9603, International. Dairy Fed. Publication, Brussels, Belgium, pp. 159–179.
- Hajati, H., 2010. Effects of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics, carcass composition and some blood parameters of broiler chicken. *American Journal of Animal and Veterinary Science*. 5: 221-227.
- Hernandez P.A., R. Barcena, G.D. Mendoza, C.S. Montes, S. Gonzalez and R. and Rojo. 2011. Xylanase activity from *Celluomonas flavigena* extracts as affected by temperature and its degradation under in vitro ruminal conditions. *African Journal of Microbiology Research* 5:961-964.
- Holtshausen L., Y.H. Chung, H. Gerardo-Cuervo, M. Oba, and K.A. Beauchemin. 2011. Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive. *Journal of Dairy Science*, 94: 899-907.
- Hristov A.N., T. Ott, J. Tricarico, A. Rotz, G. Waghorn, A.A. Adesogan, J. Dijkstra, F. Montes, J. Oh, E. Kebreab, S.J. Oosting, P.J. Gerber, B. Henderson, H.P.S. Makkar, and J.L. Firkins. 2013. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: III. A review of animal management mitigations options. *Journal of Animal Science*, 91: 5095-5113.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., y Cheng, K.-J. 1996. Exogenous enzymes for ruminants: Modes of action and potential applications. Proceedings 17th Western Nutrition Conference, Edmonton, Alberta.
- Huhtanen P., A. Vanhatalo, and TuomoVarvikko. 1998. Enzyme activities of rumen particles and feed samples incubated in situ with differing types of cloth. *British Journal of Nutrition*, 79: 161-168.
- Jackson M.G. 1977. Review article: the alkali treatment of straws. *Animal Feed Science and Technology*, 2: 105-130.
- Jung H.G. and K.P. Vogel. 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *Journal of Animal Science*, 62: 1703-1712.
- Jung, H. and M. Allen. 1995. Characteristics of plants cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science* 73:2774-2790.
- Kalogridou-Vassiliadou D. (1991). Mastitis-related pathogens in goat milk. *Small Ruminant Research*, 4, pp 203-212.
- Kepler C.R., Tove S.B. 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. Purification and properties of a linoleate delta-12-cis, delta-11-trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry* 242:5686-5692.
- Khattab, H.M., Gado, H.M., A.E., Mansour, A.M. & Kholif, A.M. (2011). The potential of feeding goats sundried rumen contents with or without bacteria inoculums as replacement for berseem clover and the effects on milk production and animal health. *International Journal of Dairy Science* 6, 267-277.
- Kholif, A.E., Khattaf, H.M., El Shewy, A.A., Salem, A.Z.M., Kholif, A.M., El Sayed, M.M., Gado, H.M. & Mariezcurrena, A.M. (2014). Nutrient digestibility, ruminal fermentation activities, serum parameters and milk production and composition of lactating goats fed diets containing rice Straw treated with *Pleurotus ostreatus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27, 357-364.
- Kholif, A.F., Gouda, G.A., Morsy, T.A., Salem, A.Z.M., Lopez, S. & Kholif, A.M. (2015). *Moringa oleifera* leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids

- profile. *Small Ruminant Research* 129, 129-137.
- Komara M., Boutinaud M., Ben Chedly., Guinard-Flament J., Marnet P. G. (2009). Once-daily milking effects in high-yielding Alpine dairy goats. *Journal Dairy Science.*, 92 (2009), pp desde 5447 hasta 5455.
- Kondyli E., Svarnas C., Samelis J., Katsiari M. C. (2011). Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research*. In Press.
- Krueger N.A., A.T. Adesogan, C.R. Staples, W.K. Krueger, S.C. Kim, R.C. Littell, and L.E. Sollenberger. 2008. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermudagrass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. *Journal of Animal Science*, 86: 882-889.
- KungLJr, Ranjit NJ.2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J Dairy Sci* 84: 1149-1155.
- Ledesma L., Fresno M., Álvarez S., Darias J., Rodríguez E. Díaz C. (2007). Cambios de la composición mineral de quesos de cabra en función de la dieta y el cuajo usado. *Archivos de Zootecnia*, Diciembre, año/vol. 56, Suplemento1 Universidad de Córdoba España Córdoba, España pp. 719-723.
- Leng R.A. 1993. Quantitative ruminant nutrition – A green science. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44: 363-380.
- Lin S.P., I. Loira, J.M. Cathmark, J.R. Liu, A. Demirci, and K.C. Cheng. 2013. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, 20: 2191-2219.
- Lynd L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl, and I.S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66: 506-577.
- Lynd L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl, and I.S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66: 506-577.
- Márquez A., G.D. Mendoza, J.M. Pinos-Rodríguez, H. Zavaleta, S. González, S. Buntinx, O. Loera and M. Meneses. 2009. Effect of fibrolytic enzymes and incubation pH on *in vitro* degradation of NDF extracts of alfalfa and orchardgrass. *Italian Journal of Animal Science* 8: 221-230.
- Márquez A.A., G.D. Mendoza, S. Gonzalez, S. Buntinx and O. Loera. 2007. Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes* sp. EuM1, *Pleurotus ostreatus* y *Aspergillus niger* AD96.4 en fermentación sólida. *Interciencia* 32:780-785.
- Mayen, M. (1989), “Explotación Caprina”. Ed, Trillas. México. pp 9 -15.
- McAllister, T.A., Oosting, S.J., Popp, J.D., Mir, Z., Yanke, L.J., Hristov, A.N., Treacher, R.J., y Cheng, K.-J. 1999. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 79:353-360.
- McAllisterTA, Hristov AN, Beauchemin KA, Rode LM, ChengK-J.2001. Enzymes in Ruminant Diets. In: *Enzymes in farm animal nutrition*. Eds. MR Bedford, GG Partridge. CABI International, UK. pp. 273-298.
- Mendes A.R., T. Ribeiro, B.A. Correia, P. Bule, B. Macãs, L. Falcão, J.P.B. Freire, L.M.A. Ferreira, C.M.G.A. Fontes, and M.M. Lordelo. 2013. Low doses of exogenous xylanases improve the nutritive value of triticale-based diets for broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 22: 92-99.

- Mendoza M.G.D., Hernández G.P.A., Plata P.F.X., Martínez G.J.A. 2013. Evaluación económica del uso de enzimas fibrolíticas en México usadas en rumiantes. XVI Congreso Bienal AMENA. Puerto Vallarta 22-25 octubre.
- Meraz R.E., O. Loera-Corral, G.D. Mendoza, M. Meneses, M. Cobos, D. Hernández, S. Angeles, L. Melgarejo and J.M. Pinos-Rodríguez. 2012. Efecto del pH y del líquido ruminal clarificado en la estabilidad de un producto enzimático fibrolítico. *Agrociencia*. 46: 347-358.
- Mertens D.M. 1993. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: Jung, H. G.; Buxton, D. R.; Hatfield, R. D.; Ralph, J. ASA-CSSA-SSSA, 677S. Forage cell wall structure and digestibility. Madison, USA: Segoe RD. p. 535-571.
- Mertens D.R. and J.R. Loften. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. *J. DairySci.*, 63: 1437-1446.
- Miller D.R., R. Elliott, and B.W. Norton. 2008. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2, on intake, digestion and utilization of sorghum and barley grain-based diets by beef steers. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 159-181.
- Miller D.R., R. Elliott, and B.W. Norton. 2008. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2, on intake, digestion and utilization of sorghum and barley grain-based diets by beef steers. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 159-181.
- Montaldo H., Almanza A., Juárez A. (1997). Genetic group, age and season effects on lactation curve shape in goats. *Small Ruminant Research.*, 24 pp 195- 202.
- Moore K.J. and H.J.G. Jung. 2001. Lignin and fiber digestion. *Journal of Range Management*, 54: 420-430.
- Morand-Fehr, P. 2006. Recent developments in goat nutrition and application: A review. *Small Rumin. Res.*, 60:25–43.
- Moreno R., J.M. Pinos, S. González, G. Alvarez, J.C. García, G. Mendoza and R. Bárcena. 2007. Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación ruminal *in vitro* de dietas para vacas lecheras. *Interciencia* 32:850-853.
- Morgavi DP, Nsereko VL, Rode LM, Beauchemin KA, McAllister TA, Wang Y. 2000. Effect of Trichoderma feed enzyme on growth and substrate degradation by Fibrobacter succinogens F85. *Reprod Nutr Dev* 40: 219.
- Mourão J.L., P.I.P. Ponte, J.A.M. Prates, M.S.J. Centeno, L.M.A. Ferreira, M.A.C. Soares, and C.M.G.A. Fontes. 2006. Use of  $\beta$ -glucanases and  $\beta$ -1,4-xylanases to supplement diets containing alfalfa and rye for laying hens: effects on bird performance and egg quality. *Journal of Applied Poultry Research*, 15: 256-265.
- NORMA Oficial Mexicana (1995). Trato Humanitario en la Movilización de Animales: NOM-051-ZOO-1995. *Diario Oficial de la Federación* 1998, 42 –67.
- Nousiainen J., S. Ahvenjärvi, M. Rinne, M. Hellämäki, and P. Huhtanen. 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 115: 295-311.
- Nsereko V.L., D.P. Morgavi, L.M. Rode, K.A. Beauchemin, and T.A. McAllister. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation on alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*. 88: 153-170.
- O'Mara. 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 7-15.
- Oba M., and M.S. Allen. 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy

- cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 589-596.
- Ololade B.G., D.N. Mowat, and J.E. Winch. 1970. Effect of processing methods on the *in vitro* digestibility of sodium hydroxide treated roughages. *Canadian Journal of Animal Science*, 50: 657-662.
- Ordaz H.A., E. Favela, G. Mendoza, M. Meneses and O. Loera. 2009. Respuesta enzimática de *Trametes*sp. EUM1 al estrés por temperatura en cultivo sólido. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y el VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras. 21-26 junio 2009, Acapulco, Gro.
- Owen E., T. Smith, and H.P.S. Makkar. 2012. Successes and failures with animal nutrition practices and technologies in developing countries: A synthesis of an FAO e-conference. *Animal Feed Science and Technology*. 174: 211-226.
- Paape M.J., Wiggans G., Bannerman D.D., Thomas D.L., Sanders A.H., Contreras A., Moroni P., Miller R. H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*., 68. pp 114-125.
- Paloheimo M. J. Piironen and J. Vehmaanperä. 2010. Xylanases and cellulases as feed additives. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, 2<sup>nd</sup> edition. *In*: M.R. Bedford and G.G. Partridge (editors). CAB International. UK. pp: 12-53.
- Peris S., Gaja G., Tal X., Casals R., Ferret A., Torre C. (1997). Influence of kid rearing systems on milk composition and yield of Murciano-Granadina dairy goats. *Journal Dairy Science*., 80, pp 3249-3255.
- Pinos J.M., S. González, G.D. Mendoza, J.C. García, L. Miranda, G. De la Cuz, V. De Lerma. 2005. Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas en la degradación *in vitro* de ingredientes alimenticios y en la producción de leche de vacas Holstein. *Interciencia* 30: 752-757.
- Pinos J.M., S. González, G.D. Mendoza, R. Bárcena G y M. Cobos. 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* 6:505-509.
- Pinos J.M., S. González, G.D. Mendoza, R. Bárcena y M. Cobos. 2002. Efecto de enzimas exógenas en la digestibilidad *in vitro* de la pared celular de heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o de Ballico (*Lolium perenne*). *Interciencia* 27:28-32.
- Pinos R.J.M., R. Moreno, S. González, P. Robinson, G.D. Mendoza, G. Álvarez. 2008. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of total mixed ration fed to lambs. *Animal Feed Science and Technology* 142:210-219.
- Pinos, M.J., S. González, G.D. Mendoza, R. Barcena, M.A. Cobos, A. Hernández and M.E. Ortega. 2002. Effects of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. *J. Anim. Sci* 80:3016-3020.
- Ponte P.I.P., L.M.A. Ferreira, M.A.C. Soares, M.A.N.M. Aguilar, J.P.C. Lemus, I. Mendes and C.M.G.A. Fontes. 2004. Use of cellulases and xylanases to supplement diet containing alfalfa for broilers chicks: effects on bird performance and skin color. *Journal of Applied Poultry Research*, 13: 412-420.
- Ramírez C.L., E. Aranda, G.D. Mendoza, L. Landois, L. Miranda, M. Crosby. 2005. Caracterización de productos fibrolíticos comerciales utilizados en la alimentación de rumiantes. *Veterinaria México* 31:1-9.

- Ramírez R, Neira R, Ledezma R, Garibaldi C. 2000. Ruminant digestion characteristics and effective degradability of cell wall of browse species from northeastern México. *Small Ruminant Research*. 36: 49.
- Ramírez R, Ramírez G, López F. 2002. Factores estructurales de la pared celular que afectan su digestibilidad. *CIENCIA UANL*. 5:180.
- Rigout, S., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Bach, A. & Rulquin, H. (2003). Lactation effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *Journal of Dairy Science* 86, 243-253.
- Rodrigues M.A.M., P. Pinto, R.M.F. Bezerra, A.A. Dias, C.V.M. Guedes, V.M.G. Cardoso, J.W. Cone, L.M.M. Ferreira, J. Colaço, and C.A. Sequeira. 2008. Effect of enzyme extracts isolated from White rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of wheat Straw. *Animal Feed Science and Technology*, 141: 326-338.
- Rodríguez N.M., Oliveira S.S.E., and Guimaraes-Júnior R. 2007. Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20: 518-525.
- Rojó R.R., G.D. Mendoza, O. Montañez, S. Rebollar, J. Cardoso, J. Hernandez, R. González. 2007. Enzimas amilolíticas en la alimentación de rumiantes. *Universidad y Ciencia* 23: 173-181.
- Rovics, J.J., y Ely, C.M. 1962. Response of beef cattle to enzyme supplement. *J. Anim. Sci.* 21:1012.
- Rust, J.W., Jacobsen, N.L., McGilliard, A.D., y Hotchkiss, D.K. 1965. Supplementation of dairy calf diets with enzymes. II. Effect on nutrient utilization and on composition of rumen fluid. *J. Anim. Sci.* 24:156-160.
- Salama A.A.K., Tal X., Caja G., Rovai M., Casals R., Albanell E., Marín M.P., Martí A. (2003). Effects of once versus twice daily milking throughout lactation on milk yield and milk composition in dairy goats. *Journal Dairy Science*. 86, pp 1673-1680.
- Salem, A.Z.M., Gado, H.M., Colombato, D. & Elghandour, M.M.Y. (2013). Effect of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beefsteers. *Livestock Science* 154, 69-73.
- SAS Institute (2006). *SAS User's Guide: Statistics, versión 9.0*. Cary, NC: SAS Institute.
- Scheller H.V. and P. Ulvskov. 2010. Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 263-289.
- Schingoethe D.J., G.A. Stegeman and J.R. Treacher. 1999. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *Journal of Dairy Science* 82:996-1003.
- Silanikove N., Leitner G., Merin U., Prosser C.G. (2010). Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*. 89, pp 110-124.
- Soltan Y.A., A.L. Abdalla, L.R.F. Silva, A.S. Natel, A.S. Morsy, H. Louvandini. 2013. Response to different tropical pasture grass species to treatment with fibrolytic enzymes in terms of in vitro ruminal nutrient degradation and methanogenesis. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 13: 551-568.
- Soryal K.A., Zeng S.S., Min B.R., Hart S.P. (2004). Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk Domiati cheese. *Small Ruminant Reserch*. pp 109-116.

- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. (1980). Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Tang S.X., G.O. Tayo, Z.L. Tan, Z.H. Sun, L.X. Shen, C.S. Zhou, W.J. Xiao, G.P. Ren, X.F. Han, and S.B. Shen. 2008. Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal Straw. *Journal of Animal Science*, 86: 1164-1172.
- Tirado E.G, G.D. Mendoza, J. M. Pinos, T. Quezada and F. Guevara. 2011. Effects of two fibrolytic enzyme mixtures on growth performance, digestion and ruminal fermentation in lambs fed corn stover based diets. *Journal of Applied Animal Research*. 39:158-160.
- Torrentera N., R.A. Ware and R.A. Zinn. 2005. Influence of maceration and fibrolytic enzymes on the feeding value of rice straw. *J. Anim. Vet. Adv.* 4: 387-392.
- TYRELL, H.F. & REID, J.T. (1965). Prediction of the energy value of cows' milk. *Journal of Dairy Science* 48, 1215–1223.
- Van Soest P J. Mertens D R and Deinum B. 1978. Preharvest factors influencing quality of conserved forages. *Journal of Animal Science* 47: 712-720.
- Van Soest P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminants. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca (USA) and London (UK).
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. & LEWIS, B.A. (1991). Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583–3597.
- Vargas J.M., G.D. Mendoza, M. de la Salud Rubio-Lozano and F.A. Castrejón. 2013. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on carcass characteristics and performance of grain-finished steers. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 13: 435-439.
- Waldo D.R., L.W. Smith and E.L. Cox. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. DairySci.* 55: 125–129.
- Wang Y. J.E. Ramírez-Bribiesca, J.Y. Yanke, A. Tsang and T.A. McAllister. 2012. Effect of exogenous fibrolytic enzyme application on the microbial attachment and digestion of barley straw in vitro. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 25: 66-74.
- Ware R.A., J.F. Calderon, L. Corona, and R.A. Zinn. 2005. Case study: comparative feeding value of rice straw in growing-finishing diets for calf-fed Holstein steers: fibrolytic enzyme supplementation. *The Professional Animal Scientist*, 21: 416-419.
- White E.C., Hinckley L.S. (1999). Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.*, 33 (1999), pp. 117–121.
- Wilson D.J., Stewart K.N., Sears P.M. (1995). Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Ruminant Research*. 16, pp 165-169.
- Wilson D.J., Stewart K.N., Sears P.M. (1995). Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Ruminant Research*. 16, pp 165-169.
- Wilson R.K. and W.J. Pigden. 1964. Effect of a sodium hydroxide treatment on the utilization of wheat straw and poplar wood by rumen microorganisms. *Canadian Journal of Animal Science*, 44: 122-123.
- Yang H.E., Y.S. Son, and K.A. Beauchemin. 2011. Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of alfalfa hay and rice straw. *Asia-Australasian Journal Animal Science*, 24:56-64.

- Yang W.Z., K.A. Beauchemin, and L.M. Rode. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cows diets. *Journal of Dairy Science*, 83: 2512-2550.
- Yang WZ, Beauchemin KA, Rode LM. 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 82: 391-403.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. &Rode, L.M. (1999). Effects of anenzyme feed additive on extent of digestión and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82, 391-403.
- Zahraddeen., Butswat., Mbap. (2007). Evaluation of some factors affecting milk compontion of indigenous goats in Nigeria. *Livestock Research for Rural Development* 19 (11).
- Zeng S.S., Escobar E.N. (1995). Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Rumin. Res.*, 17, pp. 269–274.
- Zeng S.S., Escobar E.N. (1995). Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Rumin. Res.*, 17, pp. 269–274.
- Zeng S.S., Popham T., Escobar E.N. (1999). Seasonal variation of somatic cell count and chemical composition in bulk tank goat milk. *Dairy Food Environ. Sanit.*, 19, pp. 685–689.
- Zeng S.S., Zhang L., Wiggans G.R., Clay J., La Croix R., Wang J.Z., Gipson T. (2008). Current status of composition and somatic cell count in milk of goats enrolled in Dairy Herd Improvement Program in the United States. *Research on Livestock Science and Dairy Farming* Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, US. pp. 129–144.
- Zeng S.S., Zhang L., Wiggans G.R., Clay J., La Croix R., Wang J.Z., Gipson T. (2008). Current status of composition and somatic cell count in milk of goats enrolled in Dairy Herd Improvement Program in the United States. *Research on Livestock Science and Dairy Farming* Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, US. pp. 129–144.
- ZoBell D.R., R.D. Wiedmeier, K.C. Olson, and R. Treacher. 2000. The effect of an exogenous enzyme treatment on production and carcass characteristics of growing and finishing steers. *Animal Feed Science and Technology*, 87: 279-285.