

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



Efecto de la adición de enzimas celulasas en dietas a base de nopal
sobre el comportamiento productivo de ovinos

POR:

MARCO POLO HERRERA AGUAYO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Octubre 2014

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a su madre María por cuidarme y guiarme por un buen camino de rectitud y firmeza, para poder culminar una de las etapas más importantes en mi vida que son mis estudios universitarios, de la misma manera por poner en mi caminar a muchas personas que siempre estuvieron a mi lado.

A mis padres. Dolores Aguayo Yáñez y Hipólito Herrera Venerozo por cada uno de los momentos de su vida que han sacrificado por mí y mis hermanos, ya que sin ellos jamás hubiese logrado culminar mis estudios y muchos logros más. Gracias Papas.

A mi novia Viviana Rosales Alemán por su cariño, apoyo y comprensión todos estos años, por brindarme un consejo cuando me sentí solo o con dudas. Gracias a ello pude culminar este proyecto.

Al M.C. Alberto Guerrero Rodríguez, por compartirme de sus conocimientos a través de sus consejos, observaciones y su apoyo en la realización de este proyecto de investigación.

A mis hermanos Hernán Herrera Aguayo y Fredy Herrera Aguayo por su apoyo y por ser motivo para estudiar mi carrera y poder ser ejemplo de ellos.

A mis amigos Ing. Javier Lombard Romero, Ing. Luis Adrian Calixtro Orozco, Ing. Claudio Leal Cantú y a mí amiga Rebeca González Dávila Treviño. Por estar siempre y en todo momento a lo largo de mi carrera los cuales fueron ejemplo con su actitud y desempeño en sus trabajos y estudios.

Al Ing. Antonio Flores Naveda por ser la persona que confió en mí y ayudarme abrir las puertas de mi alma mater, para poder continuar con mis estudios universitarios y llegar al culmen de este proyecto de vida.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Dolores Aguayo Yáñez y Hipólito Herrera Venerozo. Por los enormes sacrificios que realizaron a lo largo de su matrimonio, los cuales se ven reflejados en el resultado de este proyecto y por ser los mejores maestros que Dios me regalo ya que gracias a su ejemplo logre culminar esta etapa de mi vida.

A mis hermanos:

Montserrat Herrera Aguayo, Fredy Herrera Aguayo, Hernán Herrera Aguayo quienes me brindaron su cariño, comprensión y confianza para poder culminar este proyecto.

A mi novia:

Viviana Rosales Alemán por el gran amor y apoyo que me brindó a lo largo de mi carrera, que siempre estuvo a mi lado en los buenos momentos como en los malos, así como también en el proyecto final de mi carrera.

De manera tan especial a Dios nuestro Sr.

Por darme el don de la vida y la oportunidad de estudiar una carrera, para poder ser uno de sus tantos agrónomos en su viña y forjar el campo mexicano.

Clave o nombre del proyecto...

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación Internacional de Enzimas (Lehninger, 1993).....	5
Cuadro 2. Componentes y porcentajes utilizados en la preparación de la solución salina.....	21
Cuadro 3. Formula alimenticia para los diferentes tratamientos.....	23
Cuadro 4. Comportamiento productivo de ovinos alimentados con distintos extractos enzimáticos a base de celulasas.....	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestra los resultados del CMS de acuerdo al tratamiento utilizado..	11
Figura 2. Muestra los resultados de la GDP de acuerdo a la enzima utilizada...	27
Figura 3. Indica la variabilidad que hubo en CA entre los tratamientos ofrecidos.....	28

ÍNDICE

PORTADA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	ii
DEDICATORIA.....	xiv
ÍNDICE DE CUADROS.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xx
RESUMEN.....	1
I.- INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Antecedentes.....	2
1.2. Justificación.....	3
1.3. Hipótesis.....	3
1.4. Objetivo general.....	3
1.5. Objetivo específico.....	4
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Generalidades de las enzimas.....	4
2.2 Clasificación de las enzimas.....	5
2.3 Actividades enzimáticas involucradas en la digestión de la pared celular....	7
2.4 Enzimas en la nutrición animal.....	8
2.5 Acción de enzimas en rumiantes.....	9
2.6 Enzimas fibrolíticas en la alimentación del rumiante	10
2.7 Impacto de enzimas exógenas sobre la fermentación ruminal.....	10
2.8 Requisitos para el uso de enzimas.....	11
2.9 Nivel enzimático en la dieta del rumiante.....	12
2.2.1 Variabilidad en la respuesta animal.....	12
2.2.2 Especificidad de enzima en el alimento.....	13
2.2.3 Método para proporcionar la enzima en los animales.....	15
2.2.4 Nivel de productividad animal.....	17
2.2.5 Modo de acción.....	19
2.2.6 Implicaciones del uso de enzimas en la alimentación del rumiante.....	20

III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1 Descripción del área de estudio.....	20
3.2 Activación de la cepa VML-2 y obtención del inóculo.....	20
3.2.1 Material Biológico.....	20
3.3 Preparación de medio sólido y siembra de la cepa VML-2.....	20
3.4 Tinción de Gram y obtención del inóculo.....	21
3.5 Fermentación para la obtención de extracto enzimático.....	21
3.5.1 Preparación del medio líquido e incubación del inóculo.....	21
3.6 Prueba en animales.....	22
3.6.1 Tratamientos.....	22
3.6.2 Instalaciones y equipo.....	23
3.6.3 Adaptación de los animales.....	23
3.7 Prueba de alimentación.....	23
3.7.1 Variables determinadas en el experimento.....	24
3.7.2 Comportamiento productivo.....	24
3.7.3 Análisis estadístico.....	24
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1 Comportamiento productivo.....	25
4.2 Comportamiento productivo para la prueba completa.....	25
V.- CONCLUSIONES.....	29
VI.- LITERATURA CITADA.....	30
ANEXOS.....	40

RESUMEN

Al probar la hipótesis sometida en el experimento donde se probaría que el extracto enzimático producido a nivel laboratorio, produce igual o mayor rendimiento productivo, que un producto enzimático comercial. Se utilizaron 30 ovinos hembras criollas adquiridas con un productor de la región las cuales se sometieron a prueba durante 45 días. Para esto se usaron tres tratamientos a los cuales se les aplicó una enzima comercial celulasa (SIGMA) con una concentración mayor o igual a 700 unidades/g y el extracto enzimático producido en el laboratorio de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, cabe mencionar que la dieta que se ofreció a los ovinos fue la misma para todos los tratamientos, la única variación fue la enzima aplicada a la dieta y teniendo como ingrediente activo el nopal. Para llevar a cabo este trabajo se requirió de instalaciones de prueba las cuales se acondicionaron apropiadamente para tener una corraleta por hembra de aproximadamente 4x5 m construidas de maya electro soldada y tubo galvanizado, a las cuales se les colocaron de manera provisional comederos y bebederos. Los resultados que se obtuvieron de este trabajo no fueron significativos, pero si hubo cambios que si son representativos como se observa, claramente en el cuadro número 3 que el CDMS tiende a aumentar según la enzima aplicada, por ello se observa que con la enzima comercial nos da un nivel más elevado de aprovechamiento, teniendo en cuenta al testigo que solo tenía el ingrediente activo el nopal. Los pocos resultados obtenidos en este trabajo nos dejan una gran satisfacción al ver la reacción de los ovinos y ver que puede ser un buen trabajo a futuro y poder contribuir con el agro mexicano.

Palabras clave: ovinos, enzimas celulosas, nopal,

I.- INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

El creciente aumento en la población mundial y en consecuencia la mayor demanda de alimentos de origen animal, ha impulsado a diversas disciplinas científicas a evaluar distintas alternativas para hacer un uso más eficiente de los alimentos empleados en la nutrición animal particularmente de granos y forrajes. En la alimentación de rumiantes se han estado investigando desde hace tiempo diversas alternativas como selección de granos y forrajes de mayor valor nutricional (Bañuelos *et al.*, 1995), manipulación de microorganismos ruminales (Mendoza *et al.*, 1993), uso de aditivos que modifican el patrón de fermentación ruminal (Miranda *et al.*, 1996), reciclaje de excretas (Martines-Avalos *et al.*, 1998), empleo de alimentos no convencionales (Ortega *et al.*, 1998) uso de tratamientos químicos o biológicos en los alimentos (Montañez *et al.*, 2004) y más recientemente el uso de enzimas exógenas para incrementar la digestibilidad de las paredes celulares (Pinos-Rodríguez *et al.* 2002) y/o almidón (Mora *et al.*, 2002; Gutierrez *et al.*, 2005; Rojo *et al.*, 2005).

1.2 Justificación

Las enzimas manifiestan un papel importante en el sector de la nutrición animal, principalmente en la digestibilidad ruminal. En este sentido, la adición de enzimas fibrolíticas puede mejorar la acción fermentativa del microorganismo ruminal sobre el sustrato alimenticio principalmente de aquellos ingredientes utilizados como forrajes o bien alimentos con alto contenido de fibra (Beachemin *et al.*, 1998; Titi *et al.*, 1998; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2001). Ahora bien a pesar de que las enzimas pueden tener efectos positivos sobre la degradación animal generalmente las que existen comercialmente alcanzan precios elevados en el mercado por lo que generar extractos enzimáticos de menor costo es una alternativa de gran importancia que puede mejorar los rendimientos biológicos y económicos en los sistemas de producción animal.

1.3 Hipótesis

El extracto enzimático producido a nivel laboratorio en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro adicionado en dietas de ovinos a base de nopal produce igual o mayor rendimiento productivo que un producto enzimático comercial.

1.4 Objetivo general

Evaluar la efectividad de un extracto enzimático (celulasa) producido a nivel de laboratorio (U.A.A.A.N.) y compararla contra una celulasa comercial, utilizando como fuente de fibra el nopal forrajero en dietas integrales para ovinos.

1.5 Objetivos específicos

- Elaborar una dieta integral para ovinos utilizando nopal como fuente principal de forraje.
- Evaluar el rendimiento productivo en ovinos (consumo de materia seca, aumento diario de peso y conversión alimenticia) alimentados con dos productos enzimáticos distintos.
- Evaluar las tendencias en costos en el proceso productivo utilizando ambos productos enzimáticos.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de las enzimas

Las enzimas son sustancias orgánicas especializadas compuestas por polímeros de aminoácidos (proteínas) que actúan como catalizadores en el metabolismo de los seres vivos, con su acción regulan la velocidad de muchas reacciones químicas implicadas en este proceso. El nombre de *enzima*, que fue propuesto en 1867 por el fisiólogo alemán Wilhelm Kühne (1837-1900), deriva de la frase griega *en zymē*, que significa "en fermento".

2.2 Clasificación de las enzimas

Muchas enzimas se han nombrado añadiendo el sufijo "asa" al nombre del sustrato o a una palabra que describe su actividad. Así, la ureasa cataliza la hidrólisis de la urea y la DNA polimerasa cataliza la síntesis de DNA. Otras enzimas, tales como la pepsina y la tripsina tienen nombres que no se refieren a sus sustratos. Algunas veces la enzima tiene dos o más nombres o en algunos casos, dos enzimas diferentes pueden tener el mismo nombre.

Debido a tales ambigüedades y al número siempre creciente de enzimas descubiertas, se ha adoptado por acuerdo de la Unión internacional de Bioquímica un sistema de nomenclatura y clasificación de enzimas, el cual se menciona en el cuadro 2.1. Este sistema distribuye las enzimas en seis clases principales, cada una de ellas con diferentes subclases, según el tipo de reacción catalizada (Lehninger, 1993).

Cuadro 1. Clasificación Internacional de Enzimas (Lehninger, 1993).

N°	Clase	Tipo de reacción catalizada
1	Oxidoreductasas	Transferencia de electrones (iones hidruro o átomos de H)
2	Transferasas	Reacciones de transferencia de grupos
3	Hidrolasas	Reacción de Hidrólisis (transferencia de grupos funcionales al agua)
4	Liasas	Adición de grupos a dobles enlaces, o formación de dobles enlaces por eliminación de grupos
5	Isomerasas	Transferencia de grupos dentro de la molécula dando formas isoméricas
6	Ligasas	Formación de enlaces C – C, C-S, C-O y C-N; mediante reacciones de condensación acopladas a la rotura de ATP.

2.3 Actividades enzimáticas involucradas en la digestión de la pared celular

La celulosa y la hemicelulosa, son polisacáridos estructurales importantes en las plantas (Van Soest, 1994), se convierten en azúcares solubles mediante enzimas denominados colectivamente como celulasas y hemicelulasas. Los tipos de celulasas y hemicelulasas pueden diferir sustancialmente entre los productos enzimáticos comerciales y las diferencias en las proporciones relativas y las actividades de éstas enzimas individuales pueden tener un impacto sobre la eficacia de la degradación de la pared celular por estos productos. Adicionando la fibra- a enzimas degradantes, estos productos también tienen actividades enzimáticas secundarias en grupos de amilasas, proteasas de gases. (Van Soest, 1994)

La celulosa se hidroliza a través de un proceso complejo de celulasas y numerosas enzimas específicas que contribuyen a la actividad de celulasa. Las principales enzimas involucrados en la hidrólisis de celulosa son endocelulasa (endoglucanasa, endo- β -1,4-glucanasa, celulasa carboximetilo o β -1,4-glucano glucanohidrolasa), exocelulasa (exoglucanasa, exo- β -1,4-glucanasa, celulosa β -1,4-cellobiosidasa;), y β -glucosidasa (celobiasa o glucohidrolasa,). En general, las endoglucanasas hidrolizan la celulosa para producir oligómeros de celulosa de varios grados de polimerización; exoglucanasas hidrolizan la celulosa parcialmente en extremo, produciendo celobiosa y β -glucosidasas que hidrolizan oligómeros de celulosa y celobiosa en glucosa.

El sustrato más comúnmente utilizado para medir la actividad de la celulasa es carboximetil celulosa, que mide la endo- β -1,4-glucanasa (Wood y Bhat, 1988). Exoglucanasa actividad que puede medirse en *crystall* o preparaciones de celulosa, β -glucosidasa se determina midiendo en la liberación de glucosa a partir de celobiosa, o la liberación de *p*-nitrofenol a partir de *p*-nitrofenil- β -D-glucósido (Bhat y Hazlewood, 2001).

La actividad xilanasa es más comúnmente medida para determinar la liberación de reducción de azúcares de xilano preparado, tales como avena espelta o xilano de madera de abedul. Las xilanasas son específicas para la parte externa β -1,4 los gases con la cadena principal de xilano, se consideran generalmente endoxilanasas (Bhat y Hazlewood, 2001). Endoxilanasas puede ser considerado en base a su capacidad de liberación ósea en adición a hidrolización la capa de xilano. β -xilosidasa es una actividad que puede ser determinada por derivados de *p*-nitrofenil.

La medición de actividades enzimáticas debe llevarse a cabo bajo condiciones estrictamente, con respecto a la temperatura, pH, fuerza iónica, concentración de sustrato, y el tipo de sustrato, todos estos factores afectan a la actividad de una enzima.

Las actividades enzimáticas de los productos enzimáticos comerciales típicamente, se recomiendan a los fabricantes óptimos con una temperatura de aproximadamente 60 °C y un pH entre 4 y 5 en este rango se encuentran las condiciones óptimas para la mayoría de las enzimas comerciales (Coughlan, 1985). Sin embargo, la temperatura óptima y pH para evaluar la actividad enzimática, no son representativos de las condiciones en el rumen que son más cercanas a un pH de 6,0 a 6,7 y 39 ° C (Van Soest, 1994). Así, las actividades citadas para los productos enzimáticos comerciales son considerablemente más altos comparados con los que miden un pH y una temperatura similar a la del rumen. Además, debido a las condiciones de los ensayos y el método de expresar la actividad enzimática varía entre los fabricantes, es difícil comparar los productos enzimáticos o predecir la eficacia del producto.

2.4 Enzimas en la nutrición animal

El uso de enzimas como aditivos en dietas para rumiantes, ha tenido interés en los últimos años. Las enzimas exógenas se han utilizado ampliamente para eliminar los factores anti-nutricionales de los alimentos, para aumentar la digestibilidad de los nutrientes existentes y para complementar la actividad de las enzimas endógenas como por ejemplo las que se encuentran en las aves de corral (Classen *et al.*, 1991). En la década de 1960 se examinó el uso de enzimas exógenas en rumiantes (*Burroughs et al.*, 1960; *Rust et al.*, 1965).

Pero las respuestas fueron variables y no se hicieron esfuerzos para determinar el modo de acción de estos productos. Además, la producción de enzimas exógenas era costoso en el momento y no era económicamente viable para aplicase a estas preparaciones en las concentraciones necesarias para obtener una respuesta positiva de los animales. Recientes reducciones en los costos de la fermentación junto con más activos y bien definidos productos enzimáticos, han llevado a los investigadores a volver a examinar el papel de las enzimas exógenas en la producción de rumiantes (Chen *et al.*, 1995; Beauchemin

et al., 1997; McAllister *et al.*, 1999). Las enzimas exógenas podrían ejercer una serie de efectos, tanto en la microflora gastrointestinal y en los animales rumiantes en sí. Es muy probable que las respuestas fisiológicas a las enzimas exógenas son de origen multifactorial. Los resultados de algunas investigaciones sugieren que las enzimas fibrolíticas exógenas mejoran la degradación del alimento en el rumen (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2002) y en el tubo digestivo (Morgavi *et al.*, 2001), debido a un sinergismo con las enzimas de los microorganismos ruminales. Los factores más importantes que pueden afectar la acción de las enzimas están relacionados con la dosis y tipo de enzimas, características del sustrato y etapa fisiológica del animal (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2005). Entre los posibles mecanismos por los que estos productos pueden mejorar la utilización de nutrientes por los rumiantes.

2.5 Acción de enzimas en rumiantes

Diversos estudios han demostrado que algunas enzimas exógenas son resistentes a la degradación en el rumen (Hristov *et al.*, 1998) y por lo tanto tienen el potencial para aumentar la digestibilidad del alimento y posteriormente mejorar el rendimiento animal. La adición de enzimas fibrolíticas en la alimentación de rumiantes ha sido el tema de muchos estudios (Beauchemin *et al.*, 2003), ya que la digestión de la fibra se maximiza generalmente en el rumen. Aunque la digestión de almidón en el rumen no se piensa generalmente que sea limitante, hay alguna evidencia *in vitro* e *in vivo* que sugiere que la enzima amilasa también tiene el potencial de mejorar el rendimiento del animal. En una evaluación *in vitro* (Rojo-Rubio *et al.*, 2001) reportaron que una amilasa de *Bacillus licheniformis* incrementó la digestión ruminal del almidón de sorgo y maíz. En una digestión *in situ* de almidón en novillos (Mora y Jaimes *et al.*, 2002) reportaron mejoras en la digestión ruminal del almidón cuando el sorgo se trató con α -amilasa de *B. licheniformis* (82,85 digestión%) o glucoamilasa de *Aspergillus niger* (87.23%) en comparación con el alimento sin tratar (75.13 digestión%).

Por otra parte, el aditivo comercial con actividad amilasa (Amaize, Alltech Inc., Nicholasville, KY) ha sido evaluada en varios estudios. Tricarico *et al.* (2005) reportaron una respuesta cuadrática en la producción de leche cuando las vacas fueron alimentadas con este producto. En un estudio de campo (Harrison y Tricarico 2007) encontraron que en la alimentación utilizando este aditivo aumentó la producción de leche por 1 kg/d (Tricarico *et al.* 2007) también informó que el mismo aditivo mejoro.

2.6 Enzimas fibrolíticas en la alimentación del rumiante

Las enzimas fibrolíticas se han venido utilizando con el fin de aumentar la digestibilidad de la dieta y la producción, Beauchmin *et al.* (1999), Rode *et al.* (1999) demostraron que las enzimas mejoran significativamente la digestibilidad de la materia seca y de la fibra de las dietas en vacas lecheras. Feng *et al.* (1996) señalan que este tipo de enzimas mejoraron la digestibilidad de la MS tanto en estudios *in vitro* como *in situ*. Sin embargo, algunos investigadores no han logrado respuestas positivas cuando se adicionan enzimas fibrolíticas en los alimentos para rumiantes. (Higginbotham *et al.*, 1996 y ZoBell *et al.*, 2000). Beauchmin *et al.* (2003) informaron que muchos factores deben ser considerados cuando se utilizan enzimas fibrolíticas ya que su utilización puede en determinado caso no influir sobre el rendimiento animal, debido a factores como: preparación de la enzima, cantidad de enzima, pre incubación, contenido de humedad del sustrato, y la interacción de la enzima con el sustrato pueden generar variaciones en la eficiencia de la misma.

Diversos estudios recientes han examinado el uso de productos de enzimas exógenas en dietas con alto contenido de forraje (>60%)forraje. Bajo estas condiciones existe evidencia de que la adición de enzimas fibrolíticas aumenta la digestibilidad global de la dieta y por ende mejora el rendimiento productivo (Beauchemin *et al.*, 1995 yFeng *et al.*, 1996)

Ahora bien los resultados de la adición de enzimas fibrolíticas en dietas con alta cantidad de grano han sido de manera sorprendente más consistente que los de las dietas altas en forraje. La aplicación de un producto enzimático (xilanasa B, Biovance Technologies Inc., Omaha, NE) a una dieta 95% de cebada mejoró la eficiencia del alimento en un 6 a 12%, dependiendo del nivel de adición de la enzima (Beauchemin et al, 1997. ; 1999b ; Iwaasa et al, 1997.). El aumento de la eficiencia de alimentación se presentó según el autor debido a un aumento de la digestibilidad de la dieta (Iwaasa et al., 1997). De manera similar, Krause et al. (1998) reportó un aumento del 28% en la digestibilidad de la FDA utilizando un producto enzimático en una dieta alta en concentrado.

2.7 Impacto de enzimas exógenas sobre la fermentación ruminal

Los efectos de algunas enzimas fibrolíticas exógenas sobre la degradación de forraje son sustanciales, por lo tanto, se considera importante examinar los cambios en la formación de productos finales de la fermentación. El aumento de GP? y degradación de la MS se espera que conduzca a un incremento importante en la producción de AGV,. Sin embargo, los cambios en la porción molar de AGV pueden ser inconsistentes (Eun y Beauchemin. 2007. Los cambios pueden depender de las actividades enzimáticas suministradas por la enzima fibrolítica exógena y su impacto en la degradación ruminal de la fibra y forrajes en actividades microbianas.

2.8 Requisitos para el uso de enzimas

Es importante mencionar que para un uso comercial de enzimas exógenas, ellas deberán soportar los rigores del proceso de alimentos (temperatura, presión y humedad), junto con el medio ambiente adverso que representa el tracto digestivo mismo. No sólo deberán soportar las fluctuaciones de pH y ataque simultáneo de las enzimas proteolíticas sino que además deben ser capaces de realizar eficazmente su función digestora de sustratos (Bedford, 1996).

2.9 Nivel enzimático en la dieta del rumiante

Parte de la variabilidad asociada con el uso de productos de enzimas exógenas en las dietas de rumiantes es debido a la suplementación enzimática insuficiente o excesiva. Respuestas *in vivo* de la adición de enzima son típicamente no lineales (Beauchemin *et al*, 1995.; Kung *et al*, 2000) y es común el sobresuplemento. Por ejemplo, Kung *et al*. (2000) ofreció forraje (60% ensilaje de maíz y 40% de heno de alfalfa, en base seca) tratadas con niveles crecientes (0, 1, 2,5 ml / kg) de un producto enzimático (Finnfeeds Int.) para vacas lecheras. Las vacas alimentadas con el bajo nivel de la enzima tendió ($P < 0,10$) a producir más leche (39,5 kg / d) que los alimentados con la dieta control (37,0 kg / d) o aquellos alimentados con el alto nivel de enzima (36,2 kg / d). También se han reportado respuestas no lineales para ganado de carne en crecimiento (Beauchemin *et al.*, 1995). En ese estudio, se utilizó heno de alfalfa y el ganado alimentado aumentó en un 24 a 30% con menores niveles de enzima añadida (0,25 a 1 ml / kg de MS) como resultado del aumento de la ingesta, pero niveles más altos de enzima (2 y 4 ml / kg de MS) no fueron eficaces. Con heno timothy, un nivel alto (4 ml / kg de MS) de las enzimas exógenas se mejoró la GDP de ganado en un 36% como resultado de un aumento del 17% en la digestibilidad de la FDA y un aumento del 14% en el consumo de MS digestible.

Estos estudios demuestran que los altos niveles de adición de la enzima puede ser menos efectiva que los niveles bajos y el nivel óptimo de la suplementación enzimática puede depender de la dieta. La falta de respuesta a los bajos niveles de adición de la enzima puede indicar un suministro insuficiente de actividad de la enzima, sin embargo, la razón de reducción de la eficacia de las enzimas añadidas a altos niveles de incorporación no está claro. Nsereko *et al*. (2002) reportaron una respuesta cuadrática en el total del número de bacterias en el líquido ruminal con niveles crecientes de un producto enzimático de *Trichoderma longibrachiatum* combinado con una dieta en vacas lecheras.

Los autores especularon que la aplicación de un nivel moderado de la enzima para piensos en rumiantes causaron alguna perturbación beneficiosa de la estructura de la superficie de la alimentación, ya sea antes o después de la ingestión. Cuando el exceso de enzima que se aplicó, la interrupción benefició la estructura de superficie de alimentación, puede haber disminuido debido a que el exceso de enzima exógena unida al alimento pudo haber restringido la fijación microbiana y la digestión limitada de alimentos.

2.2.1 Variabilidad en la respuesta animal

En general, los resultados con ganado vacuno y vacas lecheras, indican una respuesta positiva a las enzimas, pero los resultados son variables. Aunque esta variabilidad puede ser vista como una indicación de que los aditivos enzimáticos no son una tecnología adecuada para rumiantes, se cree que gran parte de la variabilidad puede atribuirse a factores como el tipo de enzima, el nivel de suplementación, método de aplicación de enzima, la energía y equilibrio de los animales de ensayo. (Beauchemin. 2007).

2.2.2 Especificidad de enzima en el alimento

El conjunto de las actividades enzimáticas necesarias para mejorar la digestión de la fibra varía de acuerdo con la composición de la alimentación. El principio de especificidad de enzima en el alimento, se ilustra en un estudio realizado por D. Colombatto, Beauchemin KA, y Morgavi (1999) en el que fueron utilizados 26 productos de enzimas. Los productos se caracterizaron bioquímicamente, y luego evaluaron *in vitro* en presencia de fluido ruminal para poner a prueba su capacidad de influir en la degradación de la MS de heno de alfalfa o ensilaje de maíz a las 18 h de incubación. Los productos de enzimas que aumentaron efectivamente la degradación fueron diferentes para ambos forrajes. De los candidatos para el aumento de la degradación de alfalfa, sólo la

enzima fue eficaz para el ensilaje de maíz (en el puesto 10). Estos datos indican claramente la importancia de hacer coincidir el producto de enzima para el forraje.

La especificidad de la enzima en el alimento presenta un gran dilema para la formulación de nuevos productos de enzimas para piensos de rumiantes, debido a que las dietas de rumiantes más comerciales contienen varios tipos de forrajes y concentrados. Por lo tanto, para lograr el máximo beneficio, un número de diferentes fuentes de enzimas tendrían que ser utilizadas en una dieta típica. Un enfoque intermedio es utilizar una enzima que puede no ser la mejor en todos los forrajes, pero es relativamente adecuado para la mayoría de los alimentos. Este enfoque generalizado ha sido la toma en su mayor parte en el desarrollo de productos de enzimas para rumiantes. Hasta cierto punto, este enfoque ha limitado el ritmo de progreso en términos de la oferta de productos eficaces para el mercado. La eficacia de algunos productos no pueden ser altos en todas las situaciones, lo que contribuye a la variabilidad asociada a la tecnología de enzimas. Debido al costo relativamente elevado de enzimas para alimentación animal en comparación con otras tecnologías, los ganaderos esperan una respuesta igualmente elevado en la productividad animal. En el futuro, la "talla única para todos" puede ser reemplazado por un enfoque más específico en el que los productos de enzimas para la alimentación animal están formulados para varios tipos de alimentos. Aunque esta enzima diseñada tiene un enfoque específico, presenta un mayor grado de complejidad en el mercado, puede ser la mejor manera de asegurar la eficacia de la tecnología de enzimas para alimentación animal en la granja.

2.2.3 Método para proporcionar la enzima en los animales

La aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas en una forma líquida sobre el alimento antes de su consumo puede tener un efecto positivo en el rendimiento animal (Rode et al, 1999. Schingoethe et al 1999.; Kung et al 2000.; Yang et al, 2000). En contraste, la infusión de las enzimas en el rumen no ha sido eficaz (Lewis et al, 1996. ; McAllister et al, 1999. ; . Sutton et al, 2001). La estrecha asociación de enzimas con alimentación puede permitir alguna forma de ataque

pre digestible de las enzimas sobre la fibra de la planta y / o potenciar la unión de las enzimas a la alimentación, lo que aumenta la resistencia de las enzimas a la proteólisis en el rumen.

Aparentemente, hay poco o ningún requisito para una fase de reacción o tiempo de incubación entre el tratamiento y la alimentación de forrajes. Lewis et al. (1996) observaron un aumento en el total del tracto digestivo cuando una solución de enzimas se aplicó a heno antes de la alimentación, pero no había diferencia entre aplicar la enzima inmediatamente antes de la alimentación o en un período de incubación de 24-h. Los estudios *in vitro* han reportado resultados similares (Colombatto, 2000).

Las enzimas se han aplicado a tratamientos (higginbotham et al, 1996.; Beauchemin *et al* 1999;. Phipps et al, 2000b. ;. Yang et al, 2000), heno (Beauchemin et al, 1995. ;. Lewis et al, 1996 ; Yang et al, 1999.), forrajes ensilados (Beauchemin et al, 1995. ;. Phipps et al, 2000a), que se concentra (Rode et al, 1999. ; Phipps et al, 2000b. ; Yang et al, 2000.) en suplemento (Bowman, 2001) o premezcla (Bowman, 2001). Las enzimas exógenas puede esperar que sea más eficaz cuando se aplica a alimentos de alta humedad (por ejemplo, ensilajes) en comparación con los piensos secos, debido al mayor contenido de humedad. El requisito de agua en la hidrólisis de azúcares solubles a partir de polímeros complejos es un principio fundamental bioquímico. Además, los valores de pH de ensilaje son por lo general óptimos para la mayoría de las enzimas fúngicas. Sin embargo, en la práctica, algunas enzimas exógenas son más eficaces cuando se aplican en forma líquida al forraje seco en comparación con el forraje húmedo. Feng et al. (1996) aplica una solución de enzima directamente a la hierba y no observo ningún efecto cuando se añade a forraje fresco o marchito, sin embargo, cuando se aplicó a la hierba seca, las enzimas incrementaron la digestibilidad de MS y fibra. De manera similar, Yang et al. (2000) informaron mayor producción de leche y la digestibilidad de la dieta cuando las enzimas se añadieron a la porción de concentrado de una dieta de la vaca lechera, pero no cuando se añadieron directamente.

En contraste, Phipps et al. (2000b) informó que no hay ninguna diferencia entre la adición de un producto enzimático de concentración, pero el producto de enzima utilizada en este estudio no era eficaz. La reducción de la eficacia de las enzimas exógenas aplicadas a los alimentos ensilados puede ser debido a los compuestos inhibidores en el alimento fermentado. Nsereko et al. (2000) reportaron la presencia de compuestos en su totalidad-cosecha ensilaje de cebada que inhibe la endo-1,4- β -xilanas actividad de un producto enzimático de *T.longibrachiatum* por 23 a 50%, aunque no hubo ningún efecto sobre la actividad de celulasa. Además, la aplicación de enzimas exógenas para ensilajes pueden acelerar su deterioro aeróbico. El crecimiento de la microflora epifita se estimula por azúcares solubles liberados por tratamiento con enzimas, que podrían conducir a una disminución del valor de alimentación del ensilaje si el tiempo transcurrido entre la aplicación y el consumo de enzima es suficientemente largo (Wang et al., 2002).

Yang et al. (1999) no observaron ninguna diferencia entre la aplicación de un producto enzimático para forraje seco o en ambos forrajes seco y concentrado. Otros autores, también han encontrado que la adición de enzima debe concentrarse para ser eficaz (Beauchemin et al, 1997. ; Iwaasa et al, 1997. ; Rode et al, 1999. ; . Yang et al, 2000). Bowman (2001) examinaron los efectos de la adición de un producto enzimático (Promover NET, Agribands International, St. Louis, MO) a diferentes proporciones en un alimentado a las vacas lecheras. El producto de enzima se añadió a la porción de concentrado de l (45%), para el suplemento (4%), a la mezcla previa (0,2%). Las dietas con enzimas se sirvieron en la misma cantidad por vaca diariamente.

2.2.4 Nivel de productividad animal

La respuesta animal a las enzimas exógenas se espera que sea mayor en situaciones en las que se ve comprometida la digestión de fibra y cuando la energía es el nutriente limitante en la dieta. En las vacas de alta producción de leche y ganado en crecimiento, se requieren altos niveles de energía disponibles

para satisfacer las demandas de la producción de leche o carne. No es poco común para el consumo de alimento de las vacas lecheras a exceder cuatro veces el nivel de ingesta necesaria para el mantenimiento. En estas situaciones de alimentación comercial, la digestión de la fibra a menudo está comprometida al bajo pH ruminal y el tiempo de tránsito rápido a través del rumen. El NRC (1989) supone una reducción del 4% en la digestibilidad por cada aumento múltiple en el consumo de alimento durante el mantenimiento. Por lo tanto, una dieta de vacas lecheras con una digestibilidad potencial del 77% tendría una digestibilidad real del 68% cuando se alimenta a las vacas lecheras de alta producción. Más recientemente, la NRC (2001) reconoció que la disminución de la digestibilidad en niveles altos de consumo no es constante. Para dietas de alta calidad, la disminución de la digestibilidad es aún mayor de lo estimado previamente.

Las enzimas ayudan a cerrar la brecha entre el rendimiento potencial real del animal. Este concepto se ilustra en un estudio en el que las vacas lecheras y ovejas fueron alimentadas con una ración total con y sin enzimas exógenas (Yang et al., 2000). Cuando se mide en vacas lecheras, la digestibilidad total del tracto de la dieta el control fue de 63,9% para la degradación de materia seca y el 31,8% para la degradación de fibra. Como resultado del menor consumo como porcentaje del peso corporal, la digestibilidad de la dieta fue mayor en las ovejas, total-tracto digestivo con un 77,1% para DM y el 49,8% para DF. El uso de un producto de enzima mejora la digestibilidad de la dieta cuando se evaluó en las vacas lecheras, pero no en las ovejas. Estos resultados indican que las enzimas exógenas mejoran la digestión de la alimentación cuando la digestibilidad potencial de la dieta no es alcanzada, porque la digestión se ve afectada. Esta es la "pérdida" de la energía digestible que se capta con el uso de enzimas para alimentación animal.

La tecnología enzimática existente no es probable que beneficie a los rumiantes alimentados en mantenimiento, sino que la mayor respuesta será para rumiantes alimentados para la productividad máxima. De manera similar, la respuesta a las enzimas exógenas es mayor para las vacas lecheras en lactación temprana que para los de la lactación tardía (Nussio et al, 1997. ; . Schingoethe et al, 1999).

2.2.5 Modo de acción

Las enzimas exógenas en el rumen son generalmente más estables de lo que se pensaba anteriormente (Hristov et al, 1998. ; Morgavi et al, 2000b ,2001), particularmente cuando se aplica al alimento antes de la ingestión. La aplicación de enzimas en el alimento aumenta la unión de la enzima con el sustrato, lo que aumenta la resistencia de las enzimas a la proteólisis y prolonga su tiempo de residencia en el rumen. En el rumen, la estrecha relación entre las bacterias y las partículas de alimento digestivo y enzimas digestivas se concentra cerca de sustratos específicos. Sin embargo, algunos alimentos ensilados contienen compuestos que son inhibidores de las xilanasas (Nsereko et al, 2000.), por lo tanto, la aplicación de enzimas para piensos secos disminuye la variabilidad en la respuesta.

La aplicación de enzimas para la alimentación también proporciona un mecanismo de liberación lento para las enzimas en el rumen (Beauchemin et al., 1999a). Así, cuanto mayor es la proporción de la dieta tratada con enzimas, mayores serán las probabilidades de que las enzimas perduren en el rumen. Si es estable la alimentación en el complejo de enzimas, las enzimas se solubilizan en el fluido ruminal y rápidamente el flujo del rumen.

No hay evidencia de efectos en enzimas exógenas que causen la liberación de carbohidratos solubles (Hristov et al, 1996.), y en algunos casos, la solubilización parcial (Gwayumba y Christensen, 1997 ; . Krause et al,

1998). Nsereko et al. (2000) demostraron evidencia convincente de que la aplicación de enzimas para alimentar, causa cambios estructurales que se producen, con la alimentación más susceptible a la degradación de la pared celular en las ganancias del rumen de una manera erosiva (White et al., 1993), y es bien sabido que una limitación importante para la digestión es la colonización y penetración limitada de los microbios celulolíticos y sus enzimas hidrolíticas sobre las superficies expuestas de los piensos partículas.

Lo más probable es que la mayor parte de las respuestas de producción positivas resultantes de la utilización de aditivos enzimáticos es debido a los efectos ruminales. La adición de enzimas exógenas a la dieta aumenta la capacidad hidrolítica del rumen debido a que principalmente la unión bacteriana aumenta (Yang et al, 1999. ; ; Wang et al, 2001), la estimulación de las poblaciones microbianas del rumen (Wang et al, 2001. ; Nsereko et al, 2002.), y efectos sinérgicos con hidrolasas de los microorganismos ruminales (Morgavi et al, 2000). El efecto neto es el aumento de la actividad enzimática en el rumen, lo que mejora la digestibilidad de la dieta total ofrecida. Así, las mejoras en la digestibilidad no se limitan a los componentes de la dieta a la que las enzimas se aplican, lo que explica por qué enzimas fibrolíticas puede ser eficaces cuando se añade a la porción de concentrado de una dieta. El aumento de la capacidad hidrolítica del rumen también puede conducir a un aumento de la digestibilidad de la fracción de carbohidratos, además de aumentar la digestibilidad de los componentes de la fibra de la dieta, lo que explica por qué enzimas fibrolíticas puede ser eficaces en las dietas de alto concentrado.

Las enzimas exógenas parecen sobrevivir en el intestino delgado durante un tiempo suficiente para tener un efecto sobre sustratos (Morgavi et al., 2001). Sin embargo, los efectos pos ruminal de enzimas exógenas sobre la digestión son probablemente sólo un factor significativo cuando las enzimas se infunde en el rumen (Hristov et al., 2000) o se añade a los piensos en una manera que permite la solubilización fácil de alimentación y el paso rápido del

rumen (Beauchemin et al., 1999). Tal puede ser el caso cuando las enzimas se aplican a los piensos húmedos antes de la alimentación o cuando se ofrece como una premezcla concentrada. Además, los tiempos de retención son relativamente cortos a través del tracto gastrointestinal inferior, significa que, las enzimas son sólo probabilidades de ser eficaces contra la fracción menor recalcitrante de fibra dietética. Cantidades significativas de esta fibra de fácil digestión sólo pasa fuera del rumen en circunstancias anormales, tales como la acidosis ruminal extrema.

2.2.6 Implicaciones del uso de enzimas en la alimentación del rumiante

La adición de enzimas fibrolíticas exógenas a las dietas de vacas lecheras y ganado de engorda potencialmente puede mejorar la digestión de la pared celular y la eficacia de utilización del pienso por los rumiantes. Las respuestas positivas en la producción de leche y la tasa de crecimiento, se ha observado que para el ganado alimentado con algunos productos de enzimas, aunque los resultados han sido inconsistentes. Parte de la variación puede atribuirse a la formulación del producto, sub-o sobre-suplementación de la actividad enzimática, método apropiado de proporcionar el producto de la enzima para el animal y el nivel de productividad del animal de ensayo. La investigación es necesaria para comprender el mecanismo de acción de estos productos a fin de que la eficacia y la tecnología de enzimas en el rumiante puedan ser garantizadas. Con la preocupación creciente de los consumidores por el uso de promotores de crecimiento y antibióticos en la producción de rumiantes, y la magnitud del aumento de rendimiento de los animales puede obtenerse usando enzimas de alimentación, estos productos podrían desempeñar un papel importante en los futuros sistemas de producción de rumiantes.

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, dentro de la unidad metabólica y el laboratorio de producción animal. En Buenavista, Saltillo, Coahuila, a ocho kilómetros de la ciudad. Las coordenadas geográficas son 25°20' latitud norte y 101°26' de longitud oeste, con una altura promedio de 1 742 msnm. Su tipo de clima es BS1 hwx (e') según Koppen modificado por García (1973). La precipitación media anual es de 298.5 mm y la temperatura media anual es de 14.8 C.

3.2 Activación de la cepa VML-2 y obtención del inóculo

3.2.1 Material Biológico

La bacteria que se utilizó para realizar este trabajo se extrajo de la cepa VML-2 (grupo de vacas alimentadas con masilla y levadura), la cual pertenece al cepario del Departamento de Producción Animal, misma que fue identificada y purificada por Valdez (2010).

3.3 Preparación de medio sólido y siembra de la cepa VML-2

Se preparó el medio sólido, agar Shaelder (BD BBLTM), siguiendo las especificaciones indicadas. En agua destilada se disolvió el agar 4.186 g por cada 100ml de agua destilada, en un matraz Erlenmeyer de 250ml a flama de mechero, una vez disuelto y con aspecto cristalino se esterilizó en autoclave a 121°C, el tiempo para la esterilización fue de 15 minutos a una presión de 15Lb. Una vez esterilizado el medio se prosiguió a vaciar este en 10 cajas Petri esterilizadas, cada caja almacenó 20ml de agar, al solidificarse el medio se sembró en un área desinfectada a nivel de mechero por el método de estriado. Sembrada la bacteria se colocó en una incubadora (Felisa®) durante 24 horas en condiciones anaeróbicas ajustándose la temperatura a 37°C para lograr su adecuado desarrollo.

3.4 Tinción de Gram y obtención del inóculo

Transcurridas las 24 horas de incubación de la bacteria se retiraron las cajas petri de la incubadora para llevar a cabo la prueba de tinción de Gram y poder comprobar la morfología externa de la bacteria, la obtención de muestra de cada una de las cajas Petri fue llevada a cabo en un área previamente desinfectada. Una vez identificada la morfología de las bacterias obtenidas se adicionó con micropipeta 2ml de agua destilada a 3 cajas Petri seleccionadas recuperando de cada una de ellas 1ml.

3.5 Fermentación para la obtención de extracto enzimático.

3.5.1 Preparación del medio líquido e incubación del inóculo

Se preparó un medio líquido específico que consistió en una solución salina para llevar a cabo la producción de celulasa, el contenido de la solución se menciona en el siguiente cuadro:

2. Componentes y porcentajes utilizados en la preparación de la solución salina

Componente	Cantidad (%)
NaCl	0.5
NaNO ₃	0.3
KCL	0.5
Fuente de C (celulosa) Carboximetil celulosa de sodio (GOLDEN BELL)	1.0
KH ₂ PO ₄	0.2
MgSO ₄	0.01

Inmediatamente después de que se preparó la solución salina se incubó en la misma 1ml de inóculo bacteriano de la cepa VML-2, se colocó en una incubadora a 37°C durante 96 horas en condiciones de anaerobiosis.

3.6 Prueba en animales

Se utilizaron 15 ovinos hembras criollas con un peso promedio de 30 kg y una edad promedio aproximada de 1 año a 6 meses, facilitados por un productor particular del Ejido Buñuelos, Municipio de Saltillo, Coahuila.

3.6.1 Tratamientos

Se utilizaron tres tratamientos los cuales consistieron en evaluar el efecto de una enzima comercial (celulasa) SIGMA con una concentración mayor o igual a 700 unidades/g. y el extracto enzimático producido en el laboratorio de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. El primer tratamiento (T1) fue el testigo que consistió en alimentar a los ovinos con una dieta sin la adicción de la enzima o el extracto enzimático, solo el ingrediente base que fue el nopal, el tratamiento 2 (T2) los animales tuvieron la misma dieta con el ingrediente base el nopal lo que hace diferente a este tratamiento es la adicción de la enzima comercial celulasa, adicionando 40 minutos antes al alimento de que fuese servido a los ovinos, el tratamiento 3 (T3) los animales alimentados con la misma dieta, con la diferencia de que a este se le agregó el extracto enzimático celulasa producido en la U.A.A.A.N. agregándose al alimento 40 minutos antes de ser ofrecido a los animales.

3.6.2 Instalaciones y equipo

Las instalaciones de prueba se acondicionaron apropiadamente para tener una corraleta por hembra de aproximadamente 4 x 5m construidas de maya electro soldada y tubo galvanizado, a las cuales se les colocaron de manera provisional comederos y bebederos. Estas corraletas no se dividen, ya que cada una estaba marcada para identificar a cada grupo por tratamiento.

3.6.3 Adaptación de los animales

Al iniciar el trabajo, los animales fueron pesados, desparasitados y vacunados contra edema maligno, carbón sintomático y pasturella.

3.7 Prueba de alimentación

La prueba de alimentación tuvo una duración de 45 días, la dieta que se ofreció a los animales se presenta en el cuadro 2.1

Cuadro 3. Formula alimenticia para los diferentes tratamientos

Ingrediente	% de inclusión
Avena (Forraje)	17
Nopal	13
Maíz	24
Sorgo	24
Harinolina	10
Soya	5,8
Calcio	0,5
Melaza	5,7

La dieta fue formulada en base al contenido nutricional de las tablas del NRC (2000).

El alimento fue servido a las 9:00am y a las 4:00 pm durante el periodo de prueba se registró la cantidad de alimento ofrecido y rechazado para obtener por diferencia el consumo diario de alimento. La cantidad rechazada se retiraba de los comederos a la hora del primer servicio para su posterior pesaje y registro. El alimento ofrecido se ajustaba cada día con incremento de 10% sobre el consumo del día anterior tratando de evitar la selectividad de los animales.

3.7.1 Variables determinadas en el experimento

Las variables analizadas en el experimento son las siguientes:

Comportamiento productivo:

- ✓ Consumo diario de materia seca (CDMS)
- ✓ Ganancia diaria de peso (GDP)
- ✓ Conversión alimenticia (CA)

3.7.2 Comportamiento productivo

Los animales fueron pesados al inicio de la prueba y al final con esta diferencia se determinó la ganancia diaria de peso (GDP). El consumo de materia seca (CMS) se determinó de manera directa en base al alimento diario ofrecido y rechazado (obtenido por diferencia). La conversión alimenticia (CA) se determinó como el resultado del coeficiente entre las dos variables anteriores (CMS/GDP)

3.7.3 Análisis estadístico

Las variables correspondientes al comportamiento productivo (CDMS, GDP y CA) se analizaron por medio de un diseño estadístico de bloques completamente al azar, bloqueando por peso de los animales. La comparación de medias post-ANOVA se realizó mediante prueba de Tukey utilizando el programa Minitab 16 Statistical Software.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Comportamiento productivo

La adición de distintos extractos enzimáticos a base de celulasas en la dieta de ovinos no produjo efectos significativos ($P>0.05$), sobre las variables productivas CMS, GD y CA. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 4.1.

Cuadro 4. Comportamiento productivo de ovinos alimentados con distintos extractos enzimáticos a base de celulasas.

Variable	Testigo*	Enzima U.A.A.A.N*	Enzima Comercial*
CSM (g/d)	1114.4	1138.6	1219.9
GD(g/d)	174.6	208.4	228.2
C.A	7.08	5.501	5.833

*No hubo diferencia significativa entre tratamientos.

Aun cuando estadísticamente no existe una variación significativa en cada una de las variables se puede apreciar en primera instancia que la adición de cualquier tipo de extracto enzimático tiende a mejorar la eficiencia productiva del animal.

En relación al CMS se observa un ligero cambio en los ovinos, esto de acuerdo a la enzima agregada dentro del experimento realizado, considerando de manera muy importante el ingrediente base que en este caso fue el nopal donde se nos presenta un resultado no como esperábamos. La enzima comercial tiene al igual una fuerte importancia dentro de este trabajo sin embargo se pudo observar que con ella se logra un mayor incremento en el CMS en comparación con el tratamiento testigo, como lo indica la grafica siguiente.

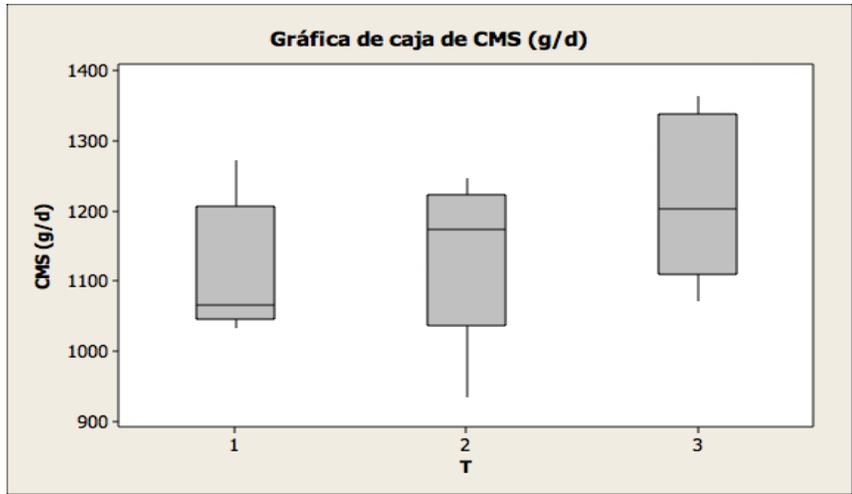


Figura 4.2 Muestra los resultados de la CMS de acuerdo a la enzima utilizada

Aunque, los anteriores efectos puede estar ligados a otros aspectos como los nutricionales o el comportamiento de los animales.

En relación a la GDP, no se observaron efectos significativos en la adicción de la enzima con relación al testigo. La incorporación de enzimas en esta ocasión nos muestra otro ejemplo de los resultados que podemos obtener con la adicción de enzimas fibrolíticas, en este apartado se muestra en la grafica la ganancia diaria de peso con los tres tratamientos testigo enzima comercial y el extracto enzimático y se observa claramente las diferencias. En las figuras dentro de la grafica la primera y tercera se observa una muy pequeña diferencia esto de acuerdo a los tratamientos ofrecidos, pero al observar la figura numero 2 dentro de las graficas podemos ver que son exactamente iguales lo cual indica que no hay diferencia significativa en este caso con la enzima comercial y el extracto enzimático.

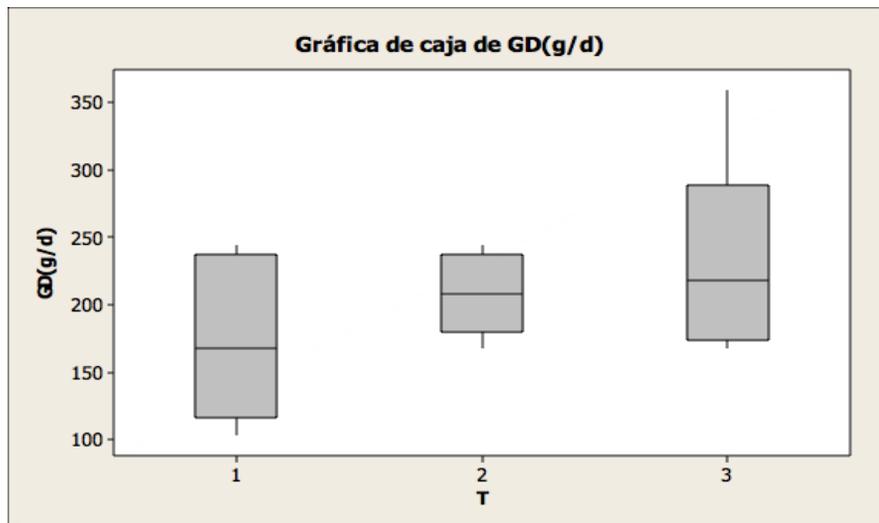


Figura 4.2 Muestra los resultados de la GDP de acuerdo a la enzima utilizada.

Los resultados obtenidos en que muestra la siguiente grafica, se pueden atribuir a otros aspectos que también están ligados al experimento. La inclusión de la enzima fibrolítica comercial y el extracto enzimático no produjo efectos sobre la GDP ni sobre la CA.

Sin embargo, la conversión alimenticia (CA) aumento en el tratamiento uno con el testigo; donde no tiene efecto significativo para ninguna de las variables correspondientes. Estudios preliminares, han demostrado que el suministro directo de microorganismos de origen fúngico en el alimento (*Aspergillus oryzae*), aumenta el número de bacterias en el rumen. El mecanismo de dicha estimulación no está totalmente claro. Tal vez, el suministro directo de microorganismos aporta factores de crecimiento, necesarios para las bacterias del rumen (Martín y Nisbet, 1992), modera el bajo pH del rumen o suministra enzimas fibrólíticas exógenas (Newbold, 1995). Se ha sugerido que el aumento de la población de bacterias celulolíticas es el elemento responsable del aumento de la digestión del forraje, cuando se suministran microorganismos directamente en el rumen.

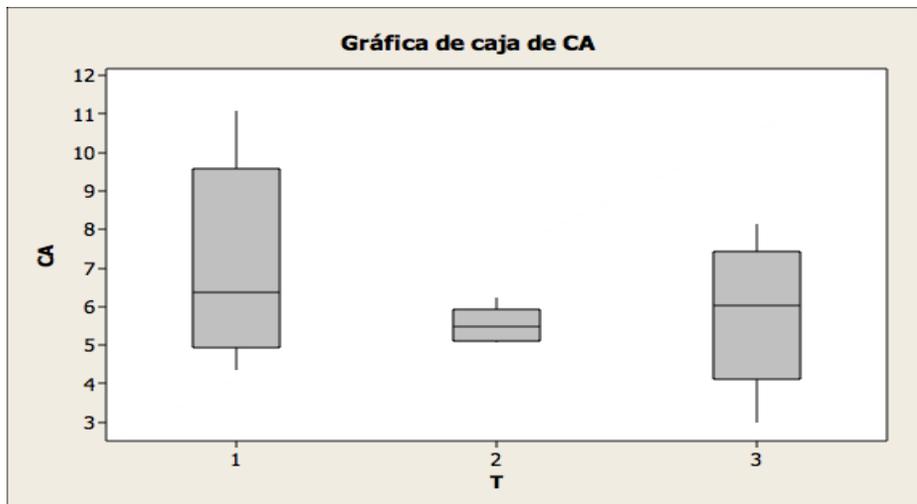


Figura 4.3 Indica la variabilidad que hubo en CA entre los tratamientos ofrecidos.

La CA en cada periodo no fue diferente entre tratamientos, lo cual es similar a lo encontrado por Rojo et al. (2000), para el tratamiento sin enzima, con amilasa y con glucoamilasa. La falta de respuesta a las enzimas amilolíticas podría deberse a varias razones como el potencial genético de los animales, a la limitación de proteína metabolizante y no a la energía derivada de la fermentación del almidón, o bien a que las bacterias ruminales, al recibir la enzima por periodos prolongados, hayan desarrollado la capacidad para degradar la enzima. Los resultados in vivo o in situ con estas enzimas muestran resultados benéficos (Mendoza et al 1988) y se deben identificar los factores que limitan la respuesta in vivo. Los datos para CMS, GDP Y CA en esta investigación concuerdan con los reportados por Rojo et al 2000, dado que no hubo diferencias significativas entre tratamientos con y sin enzimas, del tiempo de acción de la enzima en el sustrato y de los cambios que esta pudiera tener en el rumen.

4.2 Comportamiento productivo para la prueba completa

Al término de la prueba se analizaron los datos correspondientes a toda la prueba, se observó que la enzima y el extracto enzimático no produjo efectos significativos sobre la GDP ni sobre la CA. Sin embargo, se puede observar una tendencia decreciente sobre el CDMS al adicionar la enzima, registrándose un decremento significativo al adicionar de este subproducto.

V.- CONCLUSIONES

La adicción de la enzima y el extracto enzimático creado por la U.A.A.A.N añadido a las dietas que se ofrecieron a ovinos hembras en el experimento, nos aumenta el consumo de materia seca y la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia, estos resultados no fueron muy significativos como se esperaban. Sin embargo, podemos ver en los resultados que tenemos una ganancia de peso considerable.

Para ello es necesario que se lleve a cabo un buen manejo en la alimentación y con los propios ovinos, ya que un inadecuado cuidado nos podía ocasionar problemas y nos arrojaría resultado negativos a lo esperado.

A pesar de que los beneficios con la adicción de la enzima o extracto enzimático con el comportamiento productivo no son muy notorios o marcados en la prueba, si es posible la utilización de la enzima en ganado ovino de engorda sin especificar razas, ya que los ovinos con lo que se trabajo fueron hembras criollas de la región de Saltillo, Coahuila debido a que no producen efectos adversos sobre el metabolismo, crecimiento y desarrollo de los animales cuando se utilizan de forma adecuada.

VI.- LITERATURA CITADA

- Bach A., *et al.*. 2007., Patrón diario pH ruminal del ganado lechero sueltas alojados afectados por el patrón de alimentación y los suplementos de levadura viva., *Alimento Ciencia Technol.* Pag. 136-146-153
- Beauchemin KA., *Et al.* 2003 . Utilización de enzimas fibrolíticas exógenas para mejorar la utilización de la alimentación de los rumiantes. *J. Anim.* Pag. 37-47.
- Beauchemin KA., *et al.*. 2003., Utilización de Enzimas Fibrolísticas Exógenas para la Utilización de la Alimentación de los Rumiantes., *Anim. Ciencia.* Edi. 2., Pag. 37-47.
- Beauchemin KA, Colombatto D, *et al.*. 2004 . Modo de acción de las Enzimas exógenas Células Que degradan la comparación de los RUMIANTES. *Can. J. . AnimCiencia;* pag. 13-22.
- Beauchemin, KA, y LM Rode. 1996 . El uso de enzimas en la alimentación de rumiantes. Pag. 103 *investigacion en ciencia animal y desarrollo de la reunión los retos futuros.* LM. Rode, ed. Ministerio de Suministros y Servicios de Canadá, Ottawa, ON.
- Beauchemin, KA, LM Rode, *et al.*. 1995 . Enzimas fibrolíticas incrementar la digestibilidad de la fibra y la tasa de crecimiento de novillos alimentados con forrajes secos. *Can. J. Anim. Sci.* Edi.75.pag. 641 -644.
- Beauchemin, KA, SDM Jones, LM Rode, y VJH Sewalt. 1997 . Efectos de enzimas fibrolíticas en dietas de maíz o cebada sobre las características de la canal de ganado de engorda. *Can. J. Anim. Sci.* Edi, 77. Pag 645- 653.

- Beauchemin, KA, LM Rode, y VJH Sewalt. 1995 . Enzimas fibrolíticas incrementar la digestibilidad de la fibra y la tasa de crecimiento de novillos alimentados con forrajes secos. *Can. J. Anim. Sci.* 75 : 641 -644.
- Beauchemin, KA, Yang WZ, y LM Rode. 1999a . Efectos de fuente de granos y aditivo enzimático en el sitio y grado de digestión de nutrientes en las vacas lecheras. *J. Dairy Sci.* 82 : 378 -390.
- Blanca, BA, RI Mackie, *et al.* 1993 . Enzimas y hidrolisis de las paredes celulares de forraje. Páginas 455-484 en la estructura de la pared celular y digestibilidad del forraje . HG Jung, Buxton DR, RD Hatfield, y Ralph J., ed. *Soy. Soc. Agron., Crop Sci., Soc. Soy., Soil Sci., Soc. Soy., Madison, WI.*
- Bowman, GR 2001 . Digestión, pH ruminal, salivación, y el comportamiento de alimentación de vacas lecheras alimentadas con una dieta suplementada con enzimas fibrolíticas. MS Thesis, Universidad de Colombia Británica, Vancouver, Canadá.
- Bhat MK et al. 2001, enzimología y otras características celulasas y xilanasas MR Bedford, Partridge editor GG. *Las Enzimas en Nutrición Animal Farm Wallingford, Oxon, Reino Unido: CABI Publishing. Pag. 11-60.*
- Bhat, MK y GP Hazlewood, 2001. Enzimología y otras características de celulasas. Pag. 11 en *Enzimas en Nutrición Anima. I Farm.M. Bedford y Partridge G., edi. CABI Publishing, Oxon, Reino Unido.*
- Colombatto, D., DP Morgavi, AF Furtado, y KA Beauchemin. 2002a .Detección de las enzimas fibrolíticas como aditivos para piensos para rumiantes: ¿Puede el efecto de los aditivos enzimáticos en fermentaciones in vitro en ser predicha por la actividad enzimática y la hidrólisis de alimentación? *J. Dairy Sci. Edi.,85. Pag. 355.*

- Colombatto, D., DP Morgavi, AF Furtado, y KA Beauchemin. 2002b .Detección de las enzimas fibrolíticas como aditivos para la alimentación de rumiantes: relación entre la actividad enzimática y la degradación in vitro de la enzima tratada con forrajes. Anim. Sci Annu.Mtg. Penicuik, Reino Unido. Pág. 210 en Proc Fr. Soc.
- Colombatto, D., Mould FL, *et al.*. 2002. El efecto de enzimas fibrolísticas y aplicación de melasa y el grado de fermentación del vástago de alfalfa en evaluación in vitro.Pág. 209 en Proc. Fr. Soc. Anim. Sci. Annu. Mtg. Penicuik, Reino Unido.
- Colombatto, D. 2000 . El uso de enzimas para mejorar la utilización de la fibra en rumiantes. Un bioquímica in vitro y evaluación de la degradación del rumen. Ph.D. Diss., UNIV. de Reading, Reino Unido.
- Castellanos, A. Llamas, G. Shimada A. 1990. Manual de Técnicas de investigación en Ruminología. Primera Edición. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México A.C. México, D.F. pp. 144.
- Eun JS. *et al.*.2007. Evaluación de la Eficacia de las Enzimas fibrolísticas exógenas Experimentales Variando utilizando características de la fermentación in vitro. Anim. Alimento Ciencia. Technol. Edi. 132. Pag. 298-315.
- Feng, P., Hunt CW, Pritchard GT, y WE Julien. 1996 . Efecto de preparaciones de enzimas en in situ e in vitro y la degradación de las características digestivas in vivo de forraje maduro césped de estación fría, en novillos de carne. J. Anim. Ciencia. Edi. 74, pag. 1349 -1357.
- Ghose, TK 1987. Medición de la actividad celulasa. Edicion 59 pag. 257 -268.

- Gwayumba, W., y Christensen DA. 1997 . El efecto de las enzimas fibrolíticas en fracciones de degradación de proteínas y carbohidratos en los forrajes. Can. J. Anim. . Sci. 77 : 541 -542.
- Harrison GA., 2007.,et al. Efectos de un *Aspergillus oryzae* extracto que contiene α -amilasa en el rendimiento de la lactancia en los hatos lecheros. Prof. Anim. Edi. 23., Pag. 291-294.
- Higginbotham, GE, EJ dePetters, Berry SL, y A. Ahmadi. 1996 . Efecto de la adición de una enzima degradante de la pared celular a una ración total mezclada para vacas lecheras. Prof. Anim. Ciencia 12: 81-25
- Hristov, AN McAllister, TA, y K-J Cheng 1998. Estabilidad de polisacárido exógeno enzima degradante en el rumen. Anim. Alimento Ciencia. Technol. 76 : 161 - 168.
- Hristov, AN, LM Rode, KA Beauchemin, y Wuerfel RL. 1996 . Efecto de una preparación enzimática comercial en ensilaje de cebada in vitro e in sacco degradabilidad de materia seca. Páginas 282-284 en Proc. La sección occidental, Soy. Soc. Anim. Sci.
- Hristov, AN McAllister, TA, y K.-J. Cheng. 2000 . Suplementación intrarruminales con crecientes niveles de polisacáridos exógenos enzimas de degradación: Efectos sobre la digestión de los nutrientes en el ganado alimentado con una dieta de grano de cebada. J. Anim ciencia 78, 477-487.
- Iwaasa, AD, LM Rode, Beauchemin KA, y Eivemark S . 1997. Efecto de enzimas fibrolíticas en dietas a base de cebada en el rendimiento del ganado de engorda y en la producción de gas in vitro. Conjunto Rowett Res. Inst.- Inst. Natl. de Investigación Agronómica rumen Microbiol. Symp., Aberdeen, Escocia, Póster 39.

Kung, L., Jr., Treacher RJ, *et al.* 2000 . El efecto del tratamiento de forrajes con enzimas fibrolíticas en su valor nutritivo y rendimiento de la lactancia de las vacas lecheras. *J. Dairy Sci.* edi. 83. Pag. 115 -122.

Krause, M., KA Beauchemin, LM Rode, BI Farr, y Nørgaard p. 1998 .Tratamiento con enzimas fibrolíticas del grano de cebada y fuente de forraje de alto granos alimentados con dietas para bovinos en crecimiento. *J. Anim.Ciencia.* edi.96. pag. 1010 -1015.

Kung, L., Jr., Treacher RJ, Nauman GA, Smagala AM, Endres km, y M. A Cohen. 2000 . El efecto del tratamiento de forrajes con enzimas fibrolíticas en su valor nutritivo y rendimiento de la lactancia de las vacas lecheras. *J. Dairy Sci.* 83 : 115 -122.

Lehninger, L. Albert. (1993). Principios de Bioquímica. 2ª Edí. Editorial Omega. Barcelona. España. Pag. 196 – 237.

López. A.D., 2011., Enzimas Exógenas en la Nutrición de Rumiantes., pag. 15. México.

Lewis, GE, Hunt CW, Sánchez WK, Treacher R. Pritchard GT, y Feng p. 1996 .Efecto de la alimentación directa enzimas fibrolíticas en las características digestivas de una dieta basada en forraje alimenta a reforzar novillos. *J. Anim.Ciencia.* 74 : 3020 -3028.

Martín, S. A., and D. J. Nisbet. 1992. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. *J. Dairy. Sci.* 75:1736-1744.

Miller, GL.1959 . El uso de dinitrosalic y reactivo de ácido para la determinación de azúcares reductores. Anal. Chen 31. Pag 426-428

McClea BV., 2001 . Análisis de alimentación con enzimas . Pág. 85-107 en Enzimas en Nutrición Animal Farm. M. Bedford, y G. Partridge, Edi. CABI Publishing, Oxon, Reino Unido.

Michal, JJ.*et al.* 1996 . El impacto directo de las enzimas fibrolísticas alimentados en la tasa de crecimiento y la eficacia alimenticia de novillos y vaquillas de carne cada vez mayor. J. Anim. . Sci. 74(Suppl. 1): Pag

McAllister, TA, SJ Oosting, *et al.* 1999.Efecto de enzimas exógenas sobre la digestibilidad del ensilaje de cebada y del crecimiento de ganado de engorda. Can. J. Anim. Sci. Edi. 79. Pag. 353-360.

Morgavi, DP, CJ Newbold, Beaver DE, y RJ Wallace. 2000b . Estabilidad y estabilización de los posibles enzimas para alimentación animal aditivo en el fluido ruminal. Microb enzima. Technol. 26 : 171 -177.

Morgavi, DP, VL Nsereko, LM Rode, KA Beauchemin, McAllister TA, y Y. Wang. 2000c . Un *Trichoderma* preparación de la alimentación enzima mejora la adhesión de *Fibrobacter succinogenes* a sustratos complejos, pero no a la celulosa pura. Page 31 en Proc. XXV Conf. Función del rumen, Chicago.

Morgavi, DP, Beauchemin KA, Nsereko VL, LM Rode, AD Iwaasa, Yang WZ, McAllister TA, y Wang Y.. 2000a . Sinergia entre ruminales enzimas fibrolísticas y enzimas de *Trichoderma longibrachiatum*. J. Dairy Sci.. 83 :1310 -1321

Newbold, C. J. 1995. Microbial feed additives for ruminants. In: Wallace R. J. and A. C. Chesson. (eds.). Biotechnology in animal feed and animal feeding. C V H. Publishers, New York, N. Y. USA. Pp: 259-278.

Nsereko, VL, RJ Wallace, LM Rode, *et al.* 1999 . Efectos de los componentes enzimáticos y no enzimáticos-de una preparación de enzima fúngica en la digestión de ensilaje de hierba por los microorganismos del rumen in vitro. *J. Dairy Sci.* Edi. 82. pag. 123 .

Nsereko, VL, Beauchemin KA, Morgavi DP, LM Rode, Furtado AF, TA McAllister, Iwaasa AD, Yang WZ, y Wang Y.. 2002 . Efecto de una preparación de enzima fibrolítica de *Trichoderma longibrachiatum* sobre la población microbiana del rumen de las vacas lecheras. *Can. J. Microbiol.* 48 : 14 -20.

Nsereko, VL, DP Morgavi, LM Rode, KA Beauchemin, y McAllister TA. 2000 . Efectos de las preparaciones de enzimas de hongos sobre la hidrólisis y la posterior degradación de la fibra de heno de alfalfa por microorganismos ruminales mezclados in vitro. *Anim. Alimente Ciencia. Technol.* 88 : 153-170.

NRC, 1989. Pag 9 en Requerimientos Nutricionales del ganado lechero 6 ta edición. Washinton, DC.

NRC. 2001 . Page 16 en Requerimientos Nutricionales del Ganado Lechero.7^a edición Washington, D.C. pp. 45-85.

NRC. 2000. Nutrient requirements of dairy cattle (7th Ed.). National Academy Press, Washington, D.C. pp. 45-85.

Nussio, LG, Huber JT, Theurer CB, CB Nussio, Santos J., M. Tarazon, RO Lima-Filho, B. Riggs, Lamoreaux M., y Treacher RJ. 1997 . La influencia de un

complejo de celulasa / xilanasa (C / X) en el rendimiento de la lactancia de vacas lecheras alimentadas con heno de alfalfa (HA) dietas basadas, J. Dairy Sci. 80 (Supl. 1): 220 . (Abstr).

Pritchard, G., Hunt C., Allen A., y R. *et al.* 1996 . Efecto de la alimentación directa enzimas fibrolíticas en la digestión y el crecimiento en el ganado vacuno. J. Anim. . Sci. 74 (Supl. 1): pag. 296

Phipps, RH, JD Sutton, Beever DE, Bhat MK, Hartnell GF, J. Vicini y DL duro.2000b . Efecto de las enzimas que degradan la pared celular y el método de aplicación sobre el consumo de alimento y la producción de leche de las vacas lecheras Holstein-Friesian. J. Dairy Sci. 83 (Supl. 1): 23 . (Abstr.)

Phipps, RH, JD Sutton, Beever DE, Bhat MK, Hartnell GF, Vicini JL, y DL duro.2000a . Evaluación de los aditivos para piensos en la dieta de vacas lecheras. J. . Dairy Sci. 83 (Supl. 1): 23 . (Abstr.)

RJS Wallace, Wallace JA. *et al.*.2001. Influencia de Enzimas fibrolísticas suplementarias en la fermentación de ensilados de maíz y de la hierba microorganismos ruminales por los mezclados in vitro. J Anim. Ciencia. Edi. 79. Pag. 1905.1916.

RJS Wallace, *et al.*.2001. Influencia de Enzimas fibrolísticas suplementarias en la fermentación de ensilados de maíz y de la hierba microorganismos ruminales Por los mezclados in vitro. *J.Anim. Ciencia.* Edi. 79 : pag. 1905 -1916.

Somog M. 1952 . Notas sobre la determinación de azúcar. J. Biol..Chem. edi. 195 : 19 -23.

- Schingoethe, DJ, Stegeman GA, y Treacher RJ. 1999 . Respuesta de vacas lecheras en lactancia a una mezcla de celulasa y xilanasas enzimas aplicadas a los forrajes en el momento de la alimentación. *J. Dairy Sci.* 82 : 996 -1003.
- Sutton, JD, Phipps RH, Beever DE, Humphries DJ, Hartnell GF, y Vicini JL. 2001 . Comparación de los diferentes métodos de administración sobre el efecto de las enzimas fibrolíticas en los procesos digestivos en las vacas lactantes. *J. Dairy Sci.* 84 (Supl. 1): 37 . (Abstr.)
- Schingoethe, DJ, Stegeman GA, y Treacher RJ. 1999 . Respuesta de vacas lecheras en lactancia a una mezcla de celulasa y xilanasas enzimas aplicadas a los forrajes en el momento de la alimentación. *J. Dairy Sci.* 82 : 996 -1003.
- Tricarico JM, Abney MD, Galyean ML, Rivera JD, Hanson KC, Mcleone KR, et al. 2007., Efectos de una dieta *Aspergillus oryzae* extracto que contiene α -amilasa en las características de la canal de ganado vacuno de acabado. *J. Anim. Pag.* 802-811.
- Valdez, S.L.G. 2010. Estudio microbiológico de líquido ruminal de ganado Holstein alimentado con dietas enriquecidas con productos de la industria cervecera (Masilla y levadura). Tesis. UAAAN, México, pp. 39.
- Wallace, RJ, Wallace SJA, et al. 2001. Influencia de enzimas suplementarias fibrolíticas en la fermentación de ensilados de maíz y la hierba por los microorganismos ruminales mezclados in vitro. *J. Anim. . Sci.*, ed. 79. Pag. 1905 -1916.
- Weimer PJ. 1998 Manipulación de la fermentación ruminal: Una perspectiva ecológica microbiana *J. Anim. . Sci.*; pag. 3114-3122.

- Wang, Y., TA McAllister, *et al.*, 2002 . Efecto de las enzimas exógena fibrolísticas y poblaciones microbianas en la digestión in vitro ensilaje. J.Sci. Agric Food. Edi. 82. Pag 760-768.
- Wood, TM y Bhat KM. 1988 . Métodos de medición de las actividades de celulasa. Page 87 en *Methods in Enzimologia* . Vol. 160. WA Wood y Kellogg ST, ed. Academic Press Inc., New York.
- Wang, Y., McAllister TA, *et al.*. 1999. Efectos de la mono, enzimas fibrolíticas exógenas y Tween 80 en el rendimiento del ganado de engorda. *Puede J. Anim. Ciencia*. Edi. 79., pag. 587
- Wang, Y., TA McAllister, LM Rode, KA Beauchemin, Morgavi DP, Nsereko VL, Iwaasa AD y W. Yang, 2002 . Efecto de enzimas fibrolíticas exógenas sobre las poblaciones microbianas epífitas y en la digestión in vitro ensilaje. J. Sci.Agric Food. 82 : 760 -768.
- Wang, Y., McAllister TA, LM Rode, Beauchemin KA, Morgavi DP, Nsereko VL, Iwaasa AD, y Yang W.. 2001 . Efectos de una preparación enzimática exógena sobre la síntesis de proteína microbiana, actividad enzimática y el apego a alimentarse en la técnica de simulación ruminal (RUSITEC). fr. J. Nutr. 85 :325 -332.
- Yang, WZ, Beauchemin KA, M y L. Rode. 1999 . Efectos de aditivos para alimentación animal enzima sobre la extensión de la producción de la digestión y la leche de las vacas lecheras en lactancia. J. Dairy Sci.. edi.82, pag. 391-403.
- Yang, WZ, Beauchemin KA, y LM Rode. 2000 . Una comparación de los métodos de adición de enzimas fibrolíticas en dietas de vacas lactantes. J.Dairy Sci.. 83 : 2512 -2520.

ANEXOS

Modelo lineal general: CMS (g/d) vs. T, B

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3
B	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5

Análisis de varianza para CMS (g/d), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
T	2	30590	30590	15295	2.14	0.180
B	4	96482	96482	24120	3.38	0.067
Error	8	57058	57058	7132		
Total	14	184129				

S = 84.4524 R-cuad. = 69.01% R-cuad.(ajustado) = 45.77%

Estadísticas descriptivas: CMS (g/d)

Variable	T	N	N*	Media del		Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana
				Media	Error estándar				
CMS (g/d)	1	5	0	1114.4	43.6	97.5	1033.2	1045.8	1065.5
	2	5	0	1138.6	54.1	121.0	934.0	1036.3	1174.5
	3	5	0	1219.9	53.3	119.2	1071.2	1109.6	1204.0

Variable	T	Q3	Máximo
CMS (g/d)	1	1207.4	1273.1
	2	1222.9	1247.8
	3	1338.3	1364.0

Modelo lineal general: GD(g/d) vs. T, B

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3
B	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5

Análisis de varianza para GD(g/d), utilizando SC ajustada para pruebas

		MC				
Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	ajust.	F	P
T	2	7346	7346	3673	0.79	0.484
B	4	5632	5632	1408	0.30	0.867
Error	8	36966	36966	4621		
Total	14	49943				

S = 67.9757 R-cuad. = 25.98% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Observaciones inusuales de GD(g/d)

		Residuo			
Obs	GD(g/d)	Ajuste	Ajuste SE	Residuo	Residuo estándar
13	359.000	256.133	46.436	102.867	2.07 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Estadísticas descriptivas: GD(g/d)

Variable	T	N	N*	Media del Error						
				Media	estándar	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3
GD(g/d)	1	5	0	174.6	27.7	62.0	103.0	115.5	167.0	237.5
	2	5	0	208.4	13.7	30.7	167.0	179.5	208.0	237.5
	3	5	0	228.2	34.3	76.6	167.0	173.0	218.0	288.5

Variable	T	Máximo
GD(g/d)	1	244.0
	2	244.0
	3	359.

Modelo lineal general: CA vs. T, B

Factor	Tipo	Niveles	Valores
T	fijo	3	1, 2, 3
B	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5

Análisis de varianza para CA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
T	2	6.904	6.904	3.452	1.05	0.394
B	4	16.733	16.733	4.183	1.27	0.357
Error	8	26.361	26.361	3.295		
Total	14	49.997				

S = 1.81523 R-cuad. = 47.28% R-cuad.(ajustado) = 7.73%

Estadísticas descriptivas: CA

Variable	T	N	N*	Media del Error			Mínimo	Q1	Mediana	Q3
				Media	estándar	Desv.Est.				
CA	1	5	0	7.08	1.17	2.62	4.34	4.92	6.38	9.58
	2	5	0	5.501	0.210	0.469	5.084	5.099	5.474	5.916
	3	5	0	5.833	0.858	1.919	2.984	4.125	6.021	7.447

Variable	T	Máximo
CA	1	11.08
	2	6.240
	3	8.168