

Efecto del sorgo tratado con una enzima glucoamilasa en el comportamiento productivo y microbiológico de borregos

Effect of sorghum treated with a glucoamylase enzyme on the productive and microbiological performance of sheep

Irene Guadalupe Godos-Hernández^{1✉}, Marcos Pérez-Sato², Eutiquio Soni-Guillermo² y Fermín Pascual-Ramírez²

¹Alumna de la Facultad de Ingeniería Agrohidráulica-BUAP.

²Profesor Investigador de la Facultad de Ingeniería Agrohidráulica

Recibido: 5/01/2014

Aceptado: 10/07/2014

RESUMEN

Para evaluar el efecto del sorgo tratado con una enzima glucoamilasa de *Aspergillus niger* en el comportamiento productivo y microbiológico de ovinos, se usaron 12 borregos Pelibuey machos con una edad promedio de cuatro meses y un peso de 23.5 ± 3 kg, los animales se distribuyeron en jaulas metabólicas individuales al azar en dos tratamientos: T1 sin enzima (SE) y T2 (CE), el trabajo de investigación duró 74 días dividido en cinco periodos de 15 días cada uno, el producto enzimático que se utilizó fue Glucozyme®, la cual fue dosificada a razón de 10 mL kg⁻¹ de sorgo molido. Las variables productivas que se evaluaron fueron: consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP) y las variables microbiológicas fueron: concentración de bacterias ruminales totales y de protozoarios. El análisis estadístico de las variables productivas, se llevó a cabo mediante una t-Student para muestras independientes; mientras que la concentración de bacterias y protozoarios fue estadísticamente analizada mediante una comparación de medias. El CMS promedio no fue diferente estadísticamente entre tratamientos, la GDP promedio fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (210.60 vs 243.89 g) para T1 y T2 respectivamente, los valores de concentración de bacterias y protozoarios no fueron significativamente diferentes entre tratamientos.

Palabras clave: *Aspergillus niger*, enzima, bacterias, protozoarios.

ABSTRACT

The effect of sorghum treated with an enzyme of *Aspergillus niger* glucoamilase on animal performance and microbial population, was evaluated in 20 lambs pelibuey males with an average age four months and a weight of 23.5 ± 3 kg, animals were distributed in individual metabolic cages at random in two treatments : T1 without enzyme (SE) and T2 enzyme (EC), the research lasted 74 days divided into five periods of 15 days each, the enzyme product used was Glucozyme®, which was dosed at a rate of 10 mL kg^{-1} of sorghum milled. Productive variables that were assessed were: dry matter consumption (CMS), daily gains (ADG) and feed conversion (CA), and microbiological variables were: pH of ruminal fluid, ruminal concentrations of total bacteria and protozoa. The statistical analysis of production variables was carried out using a t-Student for independent samples, while for the concentration of bacteria and protozoa was statistically analyzed using comparison of means. The average CMS was not statistically different between treatments, the average GDP was statistically different ($p \leq 0.05$) between treatments (210.60 vs 243.89 g) for T1 and T2 respectively, the concentration of bacteria and protozoa were not significantly different ($p > 0.05$) between treatments.

Key words: *Aspergillus niger*, enzyme, bacteria, protozoa.

INTRODUCCIÓN

La alimentación de ovinos en confinamiento comúnmente está constituida por un 50% a un 90% de granos pero en algunos sistemas intensivos supera el 90%, los granos usados principalmente son el sorgo y el maíz (Lara,1992), del 100% del grano empleado en la dieta, bajo condiciones normales el animal solo aprovecha hasta un 50% esto debido a las propiedades del grano tales como el tipo de variedad principalmente, aunado a esto la alimentación representa el componente más importante en los costos de producción (60% - 75%), por lo que la tendencia es buscar nuevas alternativas en el área de nutrición para aprovechar al máximo los granos empleados en la alimentación de los ovinos. En la alimentación de rumiantes se han estado investigando diversas alternativas químicas y físicas (Owens *et al.* 1997), para mejorar los parámetros productivos tales como: la selección de granos y forrajes de mayor valor nutricional, el quebrado, rolado y hojuelado, la manipulación de los microorganismos

ruminales con el fin de incrementar la tasa de digestión del almidón y el valor energético de los granos (Mendoza *et al.* 1993; Bañuelos *et al.* 1995; Gaebe *et al.* 1998).

El empleo de sorgo en la alimentación de rumiantes resulta compleja ya que por su tamaño tan pequeño puede pasar intacto por el orificio retículo-omasal y terminar en las heces en una alta proporción sin digerirse, el tratamiento de sorgo con enzimas exógenas resulta un proceso químico atractivo ya que mejora su aprovechamiento (Rojo *et al.* 2000). Por otro lado *Bacillus licheniformis* y *Aspergillus niger* son los microorganismos más estudiados para producir amilasas industriales mismas que pueden ser empleadas en la alimentación de los rumiantes (Declerk *et al.* 1997). El objetivo de la presente investigación fue evaluar el comportamiento productivo y microbiológico de borregos pelibuey alimentados con dietas altas en grano de sorgo tratado con una enzima glucoamilasa (*Aspergillus niger*).

MATERIALES Y MÉTODOS

General: Para realizar el estudio se utilizaron 30 ovinos machos de la raza pelibuey, con un peso vivo promedio de 23.5 ± 3.0 kg de cinco meses de edad las cuales fueron alojadas en corrales individuales de 1.20 m x 1.10 m, cada una con comedero y bebedero. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en dos tratamientos: T1 = dieta testigo; T2 = dieta testigo + 10 mL de enzima kg^{-1} de sorgo. Las dietas fueron formuladas de acuerdo a los requerimientos del NRC (1985) para ovinos un peso promedio de 20 – 25 kg. Antes de iniciar la toma de muestras se dio un periodo de adaptación de 10 días para evitar trastornos digestivos. La fase de investigación tuvo una duración de 75 días, el pesaje de los animales y la determinación del consumo de materia seca (CMS) se realizaron cada 15 días, mientras que la determinación del pH ruminal, concentración de bacterias y protozoarios fue a los 15, 30, 45 y 75 días de iniciado el experimento.

Estimación de la concentración de bacterias ruminales y protozoarios

Se determinó las concentración de bacterias totales y protozoarios a los 15, 30, 45 y 75 días, de acuerdo con la metodología descrita por Cobos *et al.* (2002, 2007), utilizando la técnica del número más probable para bacterias ruminales totales (Harrigan y McCance, 1979). La concentración de protozoarios se determinó por conteo directo en cámara de Neubauer por medio de un microscopio a una magnificación de 40X (Dehority, 1993). Para la evaluación de la GDP, CMS y CA, se utilizó una prueba de T-Student para muestras independientes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consumo de materia seca (CMS)

La variable consumo promedio de materia seca fue similar entre tratamientos ($p > 0.05$) en los periodos evaluados (Cuadro 1); por tanto la inclusión del sorgo tratado con la enzima glucoamilasa no afectó el consumo MS promedio (1364.10 vs 1301.80 g d^{-1}) para el tratamiento testigo (sin enzima) y tratamiento con enzima (glucoamilasa) respectivamente. Mora *et al.* (2002) no encontraron diferencias significativas en el CMS de borregos alimentados con una dieta al 50% de sorgo, los CMS fueron: 1164.53 , 1290.58 , 1199.13 g d^{-1} para el testigo, α -amilasa y glucoamilasa respectivamente. La respuesta productiva de borregos pelibuey no mejoró al ser alimentados con dos porcentajes de sorgo en la dieta (40 y 60%) previamente tratado con enzimas, mostrando CMS de 1.22 y 1.18 kg d^{-1} para 40 y 60% de sorgo con enzima; 1.42 y 1.53 kg d^{-1} para 40 y 60% de sorgo sin enzima (Romero *et al.* 1992). Al aumentar la dosis de la enzima a *A.niger* (0, 2, 4 y 6 g kg^{-1} sorgo) se redujo el CMS en borregos alimentados con una dieta alta en sorgo (70%), arrojando los siguientes consumos: 1644 , 1500 , 1308 y 1472 g d^{-1} para la dosis cero, baja, intermedia y alta respectivamente (Buendía *et al.* 2003). Rojo *et al.* (2001) demostrando mediante un estudio *in vivo* con borregos alimentados con una dieta que contenía 70% de sorgo previamente tratado con una enzima α -amilasa de *B. licheniformis*, que el CMS fue menor con respecto al testigo por efecto de la enzima.

Cuadro 1. CMS de borregos prelibuey y alimentados con dietas altas en grano de sorgo tratado con una enzima glucoamilasa (*A. niger*).

Periodos*	CMS (g d ⁻¹)				α
	Tratamiento 1		Tratamiento 2		
	MED [¶]	DE ^e	MED [¶]	DE ^e	
1	915.09	266.15	1022.00	187.98	0.4607
2	1323.70	268.61	1072.80	475.29	0.2360
3	1458.10	278.63	1316.60	277.12	0.9908
4	1460.10	160.07	1507.80	206.57	0.5893
5	1663.30	213.14	1589.80	180.27	0.7221
Promedio	1364.10		1301.8		0.7212

α = valores < a 0.05 existe diferencia significativa, valores > a 0.05 no existe diferencia significativa; *= periodos de 15 días; [¶]= consumo promedio por periodo y total y ^e= Desviación estándar.

Ganancia diaria de peso (GDP)

En cuanto a la GDP (Cuadro 2) puede observarse que no hubo diferencia significativa entre tratamientos y en los diferentes periodos pero en la GDP promedio si presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos (210.6 vs 243.89 g d⁻¹), siendo mayor el T2 el cual recibió la enzima glucoamilasa. Dichas diferencias se deben muy probablemente a que la enzima glucoamilasa mejoro la disponibilidad del almidón y por consecuencia aumento la cantidad de

carbohidratos fácilmente asimilables. Mora et al. (2002) mencionan que la glucoamilasa de *A. niger* mejora la digestibilidad ruminal del almidón del grano de sorgo molido, sin afectar las variables de fermentación ruminal.

Las dosis de enzima (0, 2,4 y 6, g enzima kg⁻¹ de sorgo) glucoamilasa de *A. niger* no cambio la GDP (289, 248, 298 g d⁻¹) de borregos pelibuey alimentados con una dieta con 70% de sorgo (Buendía *et al.* 2003).

Cuadro 2. GDP de borregos pelibuey alimentados con dietas altas en grano de sorgo tratado con una enzima glucoamilasa (*A. niger*).

Periodos*	GDP (g d ⁻¹)				α
	Tratamiento 1		Tratamiento 2		
	MED [¶]	DE ^e	MED [¶]	DE ^e	
1	189.99	86.51	222.22	94.19	0.8729
2	184.44	71.63	258.33	95.74	0.5323
3	215.56	96.94	238.89	44.30	0.1107
4	233.33	42.16	230.00	86.28	0.1421
5	230.77	106.03	250.00	47.10	0.0994
Promedio	210.60 ^b		243.49 ^a		0.0242

α = valores < a 0.05 existe diferencia significativa, valores > a 0.05 no existe diferencia significativa; ^{a,b}= medias con literales diferentes en una misma hilera son diferentes ($p < 0.05$); * = periodos de 15 días; ^l= consumo promedio por periodo y total y ^e= Desviación estándar.

Concentración de protozoarios y bacterias ruminales totales

La concentración de protozoarios: 7.242 vs 8.609×10^4 mL⁻¹ fluido ruminal para el T1 y T2 respectivamente (Cuadro 3), no fue afectada significativamente ($p > 0.05$) en ningún periodo, ni en la concentración promedio de los dos tratamientos, no obstante el pH estuvo entre los límites inferiores marcados por la literatura para animales sanos, este comportamiento puede explicarse posiblemente a que los microorganismos ruminales (bacterias, protozoarios y hongos) y los borregos pueden adaptarse a estos potenciales de hidrogeno (pH), con un buen periodo de adaptación (Pérez, 2006).

Cabe mencionar que para este estudio los animales estuvieron sometidos a 10 días de adaptación suficiente para que las concentraciones se mantuvieran dentro de los intervalos considerados como normales para animales sanos que es de $10^4 - 10^6$ protozoarios mL⁻¹ de fluido ruminal (Nolan, 1993).

La concentración de bacterias ruminales totales (Cuadro 4) fue similar significativamente entre tratamientos registrándose un promedio de 14.91×10^{10} (T1) y 14.99×10^{10} (T2) bacterias mL⁻¹ de fluido ruminal, las cuales están dentro de los intervalos óptimos que marca la literatura (Wallace, 1994).

Cuadro 3. Concentración de protozoarios en el líquido ruminal de borregos pelibuey alimentados con dietas altas en grano de sorgo tratado con una enzima glucomilasa (*A. niger*).

Periodos*	Protozoarios ^l		EEM ^e
	Tratamiento 1	Tratamiento 2	
	MED ^l	MED ^l	
1	6.130	8.700	1.580
2	9.267	5.867	3.270
3	6.330	11.260	2.530
Promedio	7.242	8.609	2.460

^l= concentración de protozoarios (promedio $\times 10^4$ mL⁻¹ fluido ruminal); * = periodos: 1, 15 d; 2, 30 d; 3, 30 d; ^e= Desviación estándar; ^l= concentración promedio por periodo.

Cuadro 4. Concentración de bacterias ruminales totales en el líquido ruminal de borregos pelibuey alimentados con dietas altas en grano de sorgo tratado con una enzima glucomilasa (*A. niger*).

Periodos*	Bacterias ruminales totales [¶]		
	Tratamiento 1	Tratamiento 2	EEM [°]
	MED [‡]	MED [‡]	
1	14.20	14.48	1.21
2	15.16	15.20	2.13
3	15.37	15.30	2.21
Promedio	14.91	14.99	1.81

[¶]= concentración de bacterias ruminales totales (bacterias x 10¹⁰ mL⁻¹ fluido ruminal); *= periodos: 1,15 d; 2, 30 d; 3, 30 d; [°]= Desviación estándar; [‡]= concentración promedio por periodo.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos obtenidos en la presente investigación, la enzima glucoamilasa de *Aspergillus niger* tiene efectos positivos en la variable productiva GDP en borregos Pelibuey, sin afectar la variable CMS; la enzima tampoco afecto las variables microbiológicas: concentración de protozoarios y concentración de bacterias ruminales totales en ninguno de los tratamientos.

La enzima glucoamilasa de *Aspergillus niger* posiblemente actuó sobre los enlaces α -1,4 y α -1,6 del almidón del sorgo, dando como resultados carbohidratos más fácilmente metabolizables por los microorganismos del rumen en borregos Pelibuey, en consecuencia una mejor respuesta productiva de los borregos que recibieron la enzima.

LITERATURA CITADA

Bañuelos, O. T., Mendoza, M. G. D., Rodríguez, O. J. L. y Muñoz, O. A. 1995. Evaluación forrajera de 18 variedades de quinua (*Chenopodium*

quinoa Willd.) en Montecillo, México. Rev. Fac. Agron., (12): 71-79.

Buendía, R. G., Mendoza, M. G. D., Bárcena, G. J. R., Ortega, C. M. E., Hernández, S. J. y Lara, B. A. 2003. Efecto de la glucoamilasa de *Aspergillus niger* en la digestibilidad *in vitro* de maíz y sorgo, en la productividad de borregos. Agrociencia, (37): 317-322.

Cobos, M. A., García, L. E., González, S. S., Barcena, J. R., Hernández, D. S. y Pérez-Sato, M. 2002. The effect of shrimp shell waste on ruminal bacteria and performance of lambs. Anim. Feed Sci. Technol., 95: 179-187.

Declerk, N., Machius, M., Chambert, R., Wiegand, G., Huber, R. y Gallardin, C. 1997. Hyperthermostable mutants of *Bacillus licheniformis* alpha-amylase: Thermodynamic studies and structural interpretation. Protein Engineering. pp. 541-549.

Dehority, A. B. 2003a. Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Cilia Protozoa. CRS Pres Boca Raton London, Tokyo. 120 p.

- Gaebel, R. J., Sanson, D. W., Rush, I. G., Riley, M. L., Hixon, D. L. y Paisley, S. I. 1998. Effects of extruded corn or grain sorghum on intake, digestibility, weight gain, and carcasses of finishing steers. *J. Anim. Sci.*, (76): 2001-2007.
- Harrigan, W. F. y McCance, M. E. 1979. Métodos de Laboratorio en Microbiología de Alimentos y Productos Lácteos. Ed. Academia, León España. pp. 361-366.
- Lara, P. J. 1992. Utilización de granos en la engorda intensiva de corderos, en: Foro ovino: Memorias del III Exposición Internacional del borrego y de la lana. Consejo Norteamericano de Granos Forrajeros. México, DF.
- Mendoza, M. G. D., Britton, R. A., Stock, R. A. 1993. Influence of Ruminant Protozoa on Site and Extent of Starch Digestion and Ruminant Fermentation. *J. Anim. Sci.*, (71): 1572-1578.
- Mora, J. G., Bárcena, G. J. R., Mendoza, M. G. D., González, M. S. S. y Herrera, H. J. F. 2002. Respuesta productiva y fermentación ruminal en borregos alimentados con grano de sorgo tratado con amilasas. *Agrociencia*, (36): 31-39.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of sheep. Sixth Revised Edit. National Academic Press. Washington, D.C. 99 p.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J. y Gill, D. R. 1997. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, (75): 668-679.
- Perez, S. M. 2006. Comportamiento productivo y microbiológico de borregos alimentados con polietilentereftarato como fuente de fibra. Tesis doctoral. Especialidad de ganadería. Colegio de Postgraduados México. 82 p.
- Rojo, R. R., Mendoza, M. G. y Crosby, G. M. 2001. Uso de la amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* en la digestibilidad *in vitro* del almidón de sorgo y maíz. *Agrociencia*, 35: 423-427.
- Romero, B. M., López, A. y Gómez, A. 1992. Digestibilidad de dietas tratadas con enzima para grano de sorgo. In: Memoria de reunión nacional de investigación pecuaria. Chihuahua, Chih. 181 p.
- Wallace, R. J. 1994. Ruminant microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: Progress and problems. *J. Anim. Sci.*, (72): 2992-3003.