



## ALGUNAS APLICACIONES DE LA BIOTECNOLOGÍA EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES

Márquez-Araque Alis Teresa

Departamento de Nutrición y Forrajicultura. Decanato de Ciencias Veterinarias.  
Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Ing. Producción Animal. Dra. Ciencia  
Producción Animal. Nutrición y Alimentación [alism@ucla.edu.ve](mailto:alism@ucla.edu.ve)  
[amarq610@hotmail.com](mailto:amarq610@hotmail.com)

**ASA/EN 2020-02**

**Recibido: 14-12-2019**

**Aceptado: 17-03-2020**

### RESUMEN

En el campo de la nutrición de rumiantes, la biotecnología ofrece herramientas de diferentes fuentes y aplicación diversa, que incluyen: la intervención genética de plantas, modificación genética de microorganismos, productos a base de microorganismos benéficos, complejos de enzimas fibrolíticas, y procesos de bio-conversión. La aplicación de herramientas biotecnológicas es útil para mejorar el valor nutritivo de forrajes y otros alimentos, la salud y el rendimiento animal, así como también proporciona beneficios para el ambiente, siempre y cuando se promueva el uso con conciencia, ética y racionalidad. En este documento se describen algunas de las técnicas o prácticas biotecnológicas de mayor uso o potencial aplicación en nutrición de rumiantes.

**Palabras clave:** Biotecnología, nutrición, rumiantes.



## SOME APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN NUTRITION OF RUMINANTS

### ABSTRAC

In the field of ruminant nutrition, biotechnology offers tools from different sources and diverse applications, including: genetic intervention of plants, genetic modification of microorganisms, products based on beneficial microorganisms, complexes of fibrolytic enzymes, and bio processes -conversion. The application of biotechnological tools is useful for improving the nutritional value of fodder and other foods, health and animal performance, as well as providing benefits for the environment, provided that use with awareness, ethics and rationality is promoted. This document describes some of the biotechnological techniques or practices of greater use or potential application in ruminant nutrition.

**Keywords:** Biotechnology, nutrition, ruminants.

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción con rumiantes están diseminados por el mundo, y son

actividades económicas productivas de gran importancia para la humanidad, por el aporte de alimentos y ser el sustento de vida de las familias ganaderas. La



eficiencia en la producción de leche y carne de los rumiantes en la mayoría de los sistemas está asociada con la disponibilidad y valor nutritivo de los alimentos. La principal ventaja de los rumiantes, es su habilidad para utilizar forrajes y subproductos fibrosos como base de su alimentación, esto debido a la existencia de una población microbiana en el rumen, constituida principalmente por bacterias, protozoos y hongos, que producen variados complejos enzimáticos especializados para degradar los carbohidratos estructurales que conforman la intrincada estructura de la pared celular de las plantas (Russell, 2002; White et al. 1993).

Diversas herramientas biotecnológicas se han desarrollado, con la finalidad de mejorar las características físicas y químicas de los alimentos y la eficiencia con la que estos puedan ser usados por los microorganismos del rumen; tienen diversidad de aplicación, que va desde la intervención en las plantas forrajeras hasta la utilización y modificación genética de microorganismos tanto del rumen como del medio externo. En este documento, se

revisan algunas de las estrategias biotecnológicas que se han estudiado hasta el presente y las implicaciones de su empleo con la intención de mejorar el aporte de nutrientes, favorecer la salud y el rendimiento del animal, además de procurar reducir la emisión de gases de efecto invernadero y otros contaminantes derivados de la actividad pecuaria.

### **BIOTECNOLOGÍA EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES: ¿QUÉ Y PARA QUÉ?**

En el Foro Electrónico de la FAO (2003) y de conformidad con el Convenio de Diversidad Biológica (CDB, 1992) se da a entender que la biotecnología es: *“toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos”*. El diccionario de la Real Academia Española la define como *“empleo de células vivas para la obtención y mejora de productos útiles, como los alimentos y los medicamentos”*. Es posible, que ninguna definición por muy



amplia que sea, pueda abarcar la magnitud de los procesos biológicos que reportan grandes beneficios para los seres vivos, de modo que se puede decir que la *"Biotecnología es la tecnología de los seres vivos para el beneficio de los seres vivos"*. Probablemente, el primero que usó este término fue el Ingeniero agricultor húngaro Károly Ereki en 1919, quien la introdujo en su libro *"Biotecnología de la producción cárnica y láctea de una gran explotación agropecuaria"* (Fári et al. 2006).

En el campo de la nutrición de rumiantes, las herramientas biotecnológicas son de diferentes fuentes y aplicación diversa, que incluyen: la intervención genética de plantas, modificación genética de microorganismos y uso de diferentes especies microbianas o sus derivados enzimáticos para mejorar el valor nutritivo de alimentos, principalmente de forrajes, lo cual resulta favorable para aprovechar recursos alimenticios no convencionales, mejorar la salud y el rendimiento animal. A continuación se describen algunas de las técnicas o prácticas biotecnológicas de

mayor uso o potencial aplicación en nutrición de rumiantes.

### **Mejoramiento de plantas forrajeras por biotecnología vegetal**

La contribución de la biotecnología vegetal en el mejoramiento de plantas forrajeras ha sido significativo y valioso en la obtención de cultivares o líneas modificados genéticamente para tener mejor valor nutritivo, determinado por aumento de la digestibilidad, mayor contenido de carbohidratos solubles y proteína, reducción de la cantidad de sustancias tóxicas y factores antinutricionales. Además, se han producido plantas con resistencia a plagas, enfermedades y al estrés hídrico. Estas aplicaciones han sido posibles mediante la modificación de vías metabólicas que intervienen en determinados procesos bioquímicos de las plantas, o por la inoculación de genes que codifican proteínas específicas que se expresan en las características deseadas en las plantas.



### **Reducción de la concentración de lignina y enlaces de ácidos fenólicos (arabino-xilanos-éster-ferúlico)**

Uno de los factores antinutricionales que mayor impacto tiene sobre el valor nutritivo de forrajes es la presencia de lignina y ácidos fenólicos (AF) formando parte de la estructura de la pared celular. Ambos tipo de compuestos son importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero ejercen un efecto negativo en la disponibilidad de los carbohidratos estructurales de las plantas (celulosa y hemicelulosa), al limitar la digestión, la cantidad de nutrientes digestibles y la cantidad de materia seca que puede consumir el animal (Jung et al. 1995; Mertens, 1994).

Los AF ejercen efectos tóxicos sobre los microorganismos del rumen, inhiben el crecimiento de protozoos entodiniomorfos y la digestión de celulosa (Chesson et al. 1982). Por otra parte, los enlaces arabino-xilanos-éster-ferulico (AX-EF), ocasionan efectos estéricos que limitan el acceso de las enzimas a los carbohidratos potencialmente digestibles y favorecen la creación de un medio ambiente

hidrofóbico que dificulta la acción de enzimas (Grabber et al. 1998).

Una de las estrategias para reducir el efecto negativo de la lignina sobre la digestibilidad ha sido la creación de líneas de maíz, sorgo y millo perlado mutantes (brown midrid, *bm*) con menor concentración de lignina y, líneas de maíz con menor contenido de enlaces AX-EF (seedling ferulate ester (*sfs*)). Así mismo, mediante la modificación de enzimas claves para los procesos de síntesis, se han producido cultivares de gramíneas y leguminosas con menor de concentración de lignina y enlaces AX-EF, lo que se ha visto reflejado en un importante incremento de los coeficientes de digestibilidad de plantas forrajeras (Jung y Phillips, 2010; Jung et al. 2011).

En la búsqueda de fuentes alternativas de energía, algunas especies forrajeras están siendo consideradas para la obtención de biocombustibles, entre ellas está el *Panicum virgatum*. Para mejorar la eficiencia en la transformación de azúcares en etanol, se ha trabajado en la modificación de algunos genes que codifican enzimas requeridas para la

síntesis de lignina, dando origen a líneas que tienen entre 6.4 y 18.2% menos lignina con respecto al genotipo normal, entre 9-16% de aumento en la digestibilidad de la materia seca, 11% de aumento en la digestibilidad de la fibra Fu et al. 2011; Fu et al. 2012) y entre 15.5 y 18.2% más proteína que el control (Fu et al. 2012). Otro cultivo de interés es el pasto Reygrass (*Lolium perenne*), las líneas modificadas poseen menor concentración de lignina, favoreciendo que la digestibilidad se incremente entre 8,6 y 13,6% con respecto a las no modificadas, sin efectos negativos en la producción de forraje (Tu et al. 2010). La relevancia de estos hallazgos se debe a la relación existente entre el contenido de lignina y los AF con la digestibilidad y consumo de materia seca y, con variables de producción leche y ganancia de peso en los animales.

### **Forrajes transgénicos con mayor concentración de nutrientes**

Otra característica importante del valor nutritivo de los forrajes mejorados por biotecnología es la mayor concentración

de carbohidratos no estructurales, que logra mediante la manipulación del metabolismo de fructanos en plantas transgénicas. Se han obtenido cultivares de algunos forrajes de zonas templadas como *Lolium multiflorum*, *Trifolium repens* y *Medicago sativa* que expresan genes de enzimas microbianas que sintetizan levanos y fructanos (Le Page et al. 2000; Ye et al. 2001). Estos compuestos contribuyen con azúcares solubles, nutrientes esenciales para los microorganismos del rumen.

Algunos cultivares transgénicos de *Trifolium subterraneum*, *Festuca arundinacea*, *Medicago sativa* y *Pennisetum purpureum* expresan mayor rendimiento de biomasa forrajera, mayor concentración y disponibilidad de proteína y aminoácidos, además poseen características morfológicas y fisiológicas que favorece la tolerancia a factores bióticos y abióticos causantes de estrés, tales como sequía, suelos salinos y de baja fertilidad (Khan et al. 1996; Wang et al. 2001; Kang et al. 2016; Gondo et al. 2017).



## **Forrajes con mayor contenido de taninos**

Los taninos son compuestos fenólicos que se encuentran en plantas, particularmente en leguminosas forrajeras. Los taninos pueden tener efectos favorables y desfavorables de acuerdo con la concentración; entre 1 y 3% MS es deseable, sin embargo valores mayores a 4%, puede llegar a perjudiciales. Los taninos condensados forman enlaces con las proteínas del alimento (Jones y Mangan, 1977) y las protegen de la degradación ruminal; el complejo tanino-proteína fluye al tracto digestivo posterior y tiene la posibilidad de ser degradado, lo cual se reflejaría en mayor proporción de aminoácidos disponibles para el animal y menor pérdida de nitrógeno, siempre y cuando el grado de protección no sea de tal magnitud que evite la degradación y la proteína se pierda en las heces.

Tomando como fundamento el beneficio de los taninos, se ha intentado incrementar vía transgénesis el contenido de estos en otras leguminosas como la alfalfa (Morris y Robbins, 1997; Gruber

et al. 2000), y de ese modo aumentar la disponibilidad y aporte de proteína para el animal. Por otra parte, la presencia de taninos en forrajes se asocia con menor emisión de metano entérico, y se considera una estrategia de mitigación promisoría, con potencial para contribuir con la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero (Aboagye y Beauchemin, 2019).

Con respecto al uso de forrajes y alimentos transgénicos en rumiantes, y en animales en general, existe controversia. Por una parte, diversos estudios indican que la respuesta animal en términos de producción de leche y rendimiento en carne de rumiantes alimentados con productos transgénicos comparado con alimentos no transgénico, en la mayoría de los casos es similar (Hartnel, 2010). Pero por otra, existen dudas con respecto a los riesgos de causar algún daño, tanto a los animales como a los consumidores. En este sentido y, de acuerdo con información disponible se presumen que la posibilidad de causar alteraciones en animales y humanos es baja (Comité de Biotecnología de la Academia Mexicana de Ciencia,



2017). Sin embargo, pequeños fragmentos de ADN transgénico han sido detectados en tejidos animales (Mazza et al. 2005; Agodia et al. 2006), lo que pudiera generar alarma y temor en la población de consumidores.

El uso de alimentos transgénicos está sujeto a regulación por parte de diferentes organismos internacionales: Food and Agricultural Organization/World Health Organization of United Nations (FAO/WHO, 1991), Food and Drug Administration (FDA, 1992), Organization for Economic Co-operation Development (OECD, 1993), French Academy of Science (ADSF, 2002) y Society of Toxicology (SQT, 2003).

En general, gran parte de los estudios de biotecnología vegetal se han conducido con forrajes de zonas templadas, sin embargo, en el trópico bien se pudiera explorar y trabajar en la modificación genética, puesto que se tiene una gran diversidad de plantas forrajeras con potencial para que su valor nutritivo pueda ser mejorado. Lo que aún no se tiene claro y está poco comprendido, es el impacto que pueda ocasionar en la población y las

expectativas que se pudieran generar con respecto al uso de forrajes transgénicos o modificados genéticamente en alimentación de rumiantes. La recomendación, conviene tomar en cuenta las restricciones y las implicaciones en cuanto a la salud animal y humana, por supuesto con sus respectivos avales científicos.

#### **Modificación del ecosistema ruminal: cambios en la comunidad microbiana**

Para una mayor eficiencia, lo ideal sería que la degradación de la fibra en el rumen fuera la más alta posible, sin embargo existen diferentes factores que influyen en los procesos de degradación, unos dependientes de alimento y otros intrínsecos del ecosistema ruminal. La mayor parte de los estudios en nutrición de rumiantes han estado enfocados en la búsqueda de estrategias para aumentar la degradación microbiana de celulosa y hemicelulosa en el rumen; algunas han



tenido éxito, y otras, más dudas y complejidad han adicionado al tema.

Una de las estrategias más estudiadas ha sido la "modificación de la composición y estructura de la comunidad microbiana presente en el rumen", la cual se plantea con los objetivos de: 1) aumentar la degradación de la fibra, 2) disminuir la tasa de degradación de la proteína, 3) reducir la incidencia de alteraciones metabólicas, 4) regulación de los productos de fermentación microbiana, 5) establecimiento de especies fibrolíticas alternativas, y 6) reducción de la emisión de metano.

Revisando el estado del conocimiento del tema, se encuentran plasmadas algunas experiencias, que conducen por el camino de logros científicos importantes. Algunas se describen a continuación:

### **Modificación genética de microorganismos ruminales**

La lenta e incompleta degradación de los carbohidratos estructurales en el rumen pudiera ser mejorada a través de clonación o modificación genética y, de ese modo ampliar la capacidad fibrolítica de los

principales grupos de microorganismos involucrados en tal proceso, como son *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Butirivibrio fibrisolvens* y *Neocalimastix patriciarum*. Resultados de estudios *in vitro*, indican que estos microorganismos han aumentado su actividad enzimática para degradar fibra, sin embargo, cuando se transfieren al rumen, tienen poca capacidad para competir con otros microorganismos y sobrevivir por periodos prolongados, dificultando el establecimiento definitivo de estos en el rumen, por lo que su aplicación sigue siendo limitada (Crosby et al. 1984; Gilbert et al. 1992; Orpin y Xue, 1993; Gregg et al. 1993; Krause et al. 2001).

Las principales limitaciones para el uso de microorganismos ruminales modificados se relacionan con el establecimiento, supervivencia y actividad enzimática en rumen, debido a la influencia de un gran número de factores, tales como la diversidad alimentos usados en rumiantes, características físico-químicas de la pared celular de las plantas, complejidad del ecosistema microbiano y las múltiples



interacciones entre los diferentes individuos, factores ecológicos desconocidos, la aptitud, supervivencia y contribución funcional de las nuevas cepas introducidas y la dificultad para el mantenimiento de cultivos viables.

### **Transferencia de microorganismos**

Esta tecnología se da a entender con un ejemplo clásico. La bacteria *Synergistes jonesii*, participa en el metabolismo de mimosina en rumen. La mimosina es un metabolito tóxico presente plantas de *Leucaena leucocephala*, una leguminosa forrajera abundante en regiones tropicales. Cuando animales que no poseen la bacteria *S. jonesii* consumen leucaena padecen alteraciones de salud. La transferencia y establecimiento de esta bacteria en rumen de animales no adaptados, permite reducir los efectos tóxicos de la mimosina (Jones y Megarrity, 1986; Allison et al. 1990).

### **Inclusión de aditivos microbianos/probióticos:**

“Probiótico”, es un término empleado para denominar a un grupo de microorganismos

vivos, que cuando son suministrados a un individuo en cantidades adecuadas, le confiere beneficios a la salud (Guarner y Schaafsma, 1998; FAO, 2001). Otra denominación, sugerida para productos similares es la de “aditivos basados en microorganismos”, que en la literatura inglesa se menciona como “*direct-fed microbial* (DFM)”, término que ha sido aceptado para describir a los productos alimenticios basados en microorganismos (Kung, 2001). “Aditivos microbianos” es la denominación, que se usa con mayor frecuencia.

El uso productos microbianos en animales ha sido una práctica adoptada como una alternativa a los antibióticos. Los efectos de su inclusión en raciones para rumiantes de diferentes edad y estado fisiológico han sido ampliamente estudiados en las últimas décadas. Aun cuando, el modo de acción es poco entendido, una gran cantidad de estudios indican efectos favorables en la regulación de la fermentación ruminal, comportamiento productivo y salud de los animales.



## **Probióticos a base de bacterias ácido lácticas**

**Uso en animales pre-rumiantes:** A partir del nacimiento, el tracto digestivo de los animales pasa por un complejo periodo de desarrollo, que implica cambios anatómicos, histológicos, morfológicos, junto con la colonización y establecimiento de la comunidad microbiana, procesos claves para la funcionalidad del rumen en el animal adulto. En el transcurso del desarrollo ruminal, y etapa de transición de dietas líquidas a base de leche a dietas con alimentos sólidos, los animales se exponen a diversos factores causantes de estrés y alteraciones de salud, principalmente de tipo gastrointestinal. El suministro de probióticos a base de *Lactobacillus sp.*, y Levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) mejoran la salud intestinal al disminuir la población de los patógenos *Escherichia coli* y *Salmonella* (Lema et al. 2001; Soto et al. 2015), se reduce la incidencia de diarrea y la tasa de mortalidad, promueven aumento en el consumo de alimento y ganancia de peso (Agarwal, 2002; Frizzo et al. 2011; Fernández et al. 2018). En

conveniente destacar, que los efectos benéficos de los probióticos son de mayor relevancia durante las primeras semanas pos-destete cuando el sistema inmunológico del animal está debilitado. Se sugiere utilizar probióticos como promotores de crecimiento (Frizzo et al. 2011).

**En rumiantes adultos con rumen funcional:** En los animales adultos, el suministro de *Lactobacillus* ha mostrado beneficio en estabilizar el pH del rumen, por reducción de la población de bacterias productoras de ácido láctico, o por influir sobre las bacterias involucradas en su metabolismo (Krehbiel et al. 2003; Lettat et al. 2012). Tomando en cuenta que la acidosis ruminal es una de las alteraciones nutricionales más frecuentes en rumiantes que consumen raciones con alta proporción de almidón, se considera importante el efecto benéfico de algunos microorganismos para mantener la salud ruminal, principalmente en hembras productoras de leche durante el periodo de transición, cuando se cambia de raciones con alta proporción de fibra a raciones con



alta proporción de carbohidratos fácilmente fermentables; durante el periodo de transición los animales son más susceptibles de padecer acidosis láctica. Sin embargo, no siempre los probióticos son eficientes en mantener estable el pH del rumen, y la variación en los efectos observados puede estar relacionada con el tipo de acidosis que desarrolle el animal, el tipo de microorganismos en el producto, condiciones ambientales, y otros factores relacionados con el manejo del programa de alimentación (Lettat et al. 2012; Bruno et al. 2009).

Con respecto al efecto de los probióticos en la producción de leche, en algunos estudios se ha observado que la inclusión de *Lactobacillus sp.*, solo o en mezcla con otros microorganismos, induce aumento (Yasuda et al. 2007; Osman et al. 2012), mientras que, en ganado de carne el suministro de *L. acidophilus* (NP45 y NP51) en mezcla con *Propionibacterium freudenreichii* (NP24) ha tenido poco efecto en la eficiencia alimenticia (Younts-Dahl et al. 2004; Peterson et al. 2007). En otros casos, la inclusión de *Lactobacillus sp.*, no ha mostrado ningún

beneficio en la producción de leche, rendimiento y características de la canal de vacunos en confinamiento (Elam et al. 2003; Nichols et al. 2011).

Otros microorganismos, tales como *Bacillus licheniformis* (DSM 5749), *Bacillus subtilis* (DSM 5750) y *Enterococcus faecium*, incorporados a raciones de rumiantes en bajo ciertas condiciones experimentales promovieron mayor consumo de materia seca, mejor ganancia de peso y eficiencia alimenticia, aumento de la degradación de la materia seca en rumen y producción de leche (Antunovic et al. 2006; Nocek et al. 2003; Nocek y Kautz, 2006).

### **Levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)**

De todos los aditivos microbianos, los cultivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), han sido quizás, los que mayor atención han recibido, en vista de las numerosas evaluaciones realizadas, y la amplitud en las respuestas y beneficios para el animal cuando se incluyen en la dieta (Desnoyers et al. 2009). Entre los

efectos observados, se destacan la condición de menor pH ruminal en vacas que recibieron dietas con altos niveles de carbohidratos fácilmente fermentables (Krizova et al. 2011), menor perturbación del equilibrio físico y químico de rumen, incremento de la ingestión y degradación de materia seca (Desnoyers et al. 2009; Paryad y Rashidi, 2009; Bitencourt et al. 2011; Zhu et al. 2017), aumento de la producción de leche y mejor condición corporal (Moallem et al. 2009; De Ondarza et al. 2010; Degirmencioglu et al. 2013; Ayad et al. 2013; Shi et al. 2019).

En otros estudios, la inclusión de *S. cerevisiae* en alimentos para animales en crecimiento mejora el consumo de alimento, la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia (Lesmeister et al. 2004; Kumar et al. 2011; Mendoza et al. 1996; Ozsoy et al. 2013). En otras condiciones experimentales, las levaduras no han ocasionado ningún efecto sobre producción de leche (Schingoethe et al. 2004; Shwartz et al. 2009; Hristov et al. 2010), digestibilidad, parámetros de fermentación ruminal o ganancia de peso

(García et al. 2000; Ramírez et al. 2003; Mikulec et al. 2010).

Aún no se tiene claro cuáles pueden ser las vías o los mecanismos que disponen las levaduras para ejercer su efectos, sin embargo en base a la respuesta que muestran los animales, se han propuesto algunas hipótesis, que intentan explicar el modo de acción: 1) aumenta la captación de glucosa, lo que provoca la reducción de la disponibilidad de este sustrato para bacterias productoras de ácido láctico y la estabilización del pH, 2) las levaduras proporcionan al medio sustancias solubles que pueden ser factores de crecimiento microbiano (ácidos orgánicos, vitaminas, aminoácidos), requeridos por los microorganismos ruminales (Callaway y Martin, 1997; Mao et al. 2013).

### **Productos a base de microorganismos ruminales**

La bacteria ruminal *Megasphaera elsdenii*, se caracteriza por ser utilizadora del lactato proveniente del metabolismo microbiano de la glucosa (Counotte et al. 1981). Su uso como probiótico ha



generado interés, desde hace unas tres décadas se vienen realizando estudios con el fin de explorar su potencial aplicación como estrategia para controlar la acumulación de ácido láctico, y evitar los trastornos ruminales asociados a bajo pH cuando se suministran raciones con alta proporción de almidón. Hecho este, que reviste importancia en hembras lecheras durante la etapa de transición, período durante el cual el descenso del pH es más acentuado. De modo que el suministro de *M. elsdenii* podría ser conveniente para estabilizar el pH del rumen (Robinson et al. 1992; Henning et al. 2010; Meissner et al. 2010; Chen et al. 2019), promover aumento de la producción de propionato y mejor balance energético (Aikman et al. 2011).

En condiciones de engorde intensivo, también se usan dietas con altos niveles de carbohidratos solubles y baja proporción de fibra, con efectos perturbadores de la salud y rendimiento del animal. En estos casos la inclusión de *M. elsdenii* podría ser recomendada para disminuir el impacto negativo del bajo pH en rumen y favorecer una mejor respuesta

productiva del animal (Thieszen et al. 2015; Drouillard et al. 2012; Klieve et al. 2012).

La cepa más estudiada ha sido *M. elsdenii* NCIMB 41125; a pesar de su potencial para mantener estable el pH del rumen, existen algunas limitaciones para el uso comercial a gran escala, entre ellas se destacan las dificultades para el manejo del crecimiento en medios externos, lo que desfavorece la reproducción, multiplicación y la supervivencia de los cultivos en condiciones anaeróbicas y, otros factores relacionados con interacciones entre los microorganismos del rumen que puedan afectar el comportamiento de la bacteria dentro del ecosistema ruminal (Meissner et al. 2010; Chen et al. 2019).

Otro grupo de bacterias ruminales, menos estudiadas, pero que califican para ser utilizadas como aditivos microbianos son *Selenomonas ruminantium* cepa TnK6 recombinante (Long et al. 2012), *Prevotella bryantii* (cepa 25A), *Ruminococcus flavefaciens*, *Blautia obeum* y *Clostridium butyricum* (Chiquette et al. 2012; Khattab et al. 2017).



En general, el uso de probióticos o aditivos microbianos en rumiantes ha generado una diversa gama de respuestas, y esa variabilidad se relaciona con: 1) amplio rango de alimentos usados en rumiantes; 2) la complejidad de las características físico-químicas de la pared celular de las plantas; 3) la complejidad del ecosistema microbiano y las múltiples interacciones entre los diferentes individuos; 4) factores ecológicos desconocidos en el rumen, 5) la estabilidad de los genes introducidos en los microorganismos transgénicos; 5) la aptitud, supervivencia y contribución funcional de las nuevas cepas introducidas; 6) la dificultad para el mantenimiento de cultivos viables, entre otras.

#### **Enzimas de fibrolíticas de origen microbiano: inclusión con el alimento o tratamiento de forrajes**

La tecnología enzimática tiene su origen por los años 1800-1900, y se ha desarrollado de manera tal que en la actualidad se dispone de cepas de microorganismos especializados en la

producción de enzimas. El uso de enzimas fibrolíticas (EFE) representa una estrategia alternativa para intervenir en la dinámica de la población microbiana ruminal, con la finalidad de aumentar la eficiencia ruminal, producción de leche y ganancia de peso, y propiciar mejor salud animal (Beauchemin et al. 2003; Beauchemin y Holtshausen, 2010; Mendoza et al. 2014; Tirado-González et al. 2018).

Los efectos directos de las EFE, bien sea cuando se emplean para tratar forrajes o se incluyen como aditivos en la ración, se manifiestan en la reducción de la concentración de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido y aumento del coeficiente de digestibilidad de forrajes (Pinos-Rodríguez et al. 2001; Márquez-Araque et al. 2009; Ayala et al. 2011; López-Inzunza et al. 2018).

La manera como las EFE ejercen sus efectos sobre la digestión y utilización de los alimentos por lo rumiantes, aún no está bien entendida. Los mecanismos de acción son complicados de elucidar, debido principalmente a tres factores: 1) los alimentos son estructuralmente muy complejos, contienen gran variedad de



polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos fenólicos en estrecha asociación, 2) los productos comerciales son mezclas de diferentes enzimas, con distintos tipos y grados de actividad enzimática, condiciones óptimas de reacción y especificidad de sustratos, 3) el fluido ruminal es extremadamente complejo, contiene miles de especies microbianas que secretan una amplia variedad de enzimas. Sin embargo, de acuerdo con los resultados de varios estudios se ha propuesto que, el modo de acción de las enzimas fibrolíticas se relaciona con: 1) alteración de la estructura de los polisacáridos estructurales, 2) favorece la adhesión y colonización microbiana sobre los componentes de la pared celular de las plantas, 3) mejora la capacidad hidrolítica del rumen, adiciona actividad enzimática y/o actúan en sinergia con los microorganismos del rumen, y 4) estímulo del crecimiento microbiano y capacidad digestiva del rumen (Beauchemin et al. 2003; Mendoza et al. 2014; Colombatto et al. 2003).

Aun cuando, existe evidencia del beneficio de las EFE, es prudente

considerar las inconsistencias observadas en la respuesta animal, asociadas con diferentes condiciones experimentales, tipo y proporción de forraje en la dieta, tipo de producto enzimático y dosis de aplicación, además del nivel de producción y manejo general de la unidad productiva, factores estos, que podrían contribuir con la ausencia de efectos (Dhiman et al. 2002; Higginbotham et al. 2004).

Los complejos de enzimas fibrolíticas (celulasas y xilanasas) disponibles a nivel comercial se obtienen de extractos de fermentación de hongos aeróbicos, principalmente. Las especies más utilizadas como fuentes de enzimas en productos comerciales son los hongos aeróbicos *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* y *Penicillium funicalosum*, y las bacterias *Bacillus subtilis* y *Bacillus lentus* (Beauchemin et al. 2004; Refat et al. 2018; Pech Cervantes et al. 2019). Sin embargo, en la naturaleza existen otro importante número de microorganismos que poseen habilidad para producir complejos

enzimáticos fibrolíticos con potencial de uso en alimentación de rumiantes (Trejo-López et al. 2017; Ribeiro et al. 2018; Márquez-Araque et al. 2007).

### **Bio-conversión de materiales lignocelulosicos mediante tratamiento con hongos aeróbicos**

En el contexto de los tratamiento biológicos, para el tratamiento con hongos aeróbicos, también denominado "bio-conversión", se emplean algunas especies fúngicas del grupo denominado "de la pudrición blanca". Este grupo de hongos, durante su crecimiento sobre sustratos lignocelulósicos producen complejos multienzimáticos, compuestos por polisacaridasas y enzimas degradadoras de lignina del tipo lacasa-oxidasas (Ayala et al. 2011; Márquez-Araque et al. 2007; Polizeli et al. 2005); este grupo enzimas ocasionan cambios físicos y químicos en la estructura de los carbohidratos complejos y sustancias recalcitrantes presentes en la pared celular, permitiendo mejorar la digestibilidad de la materia seca y de las fracciones de fibra (Peláez-Acero et al. 2011; Abdel-Azim et al. 2011; Akinfemi,

2012), a la vez que aumenta la concentración de proteína en el material, como producto del crecimiento microbiano (Castro et al. 2004; Akinfemi y Ogunwole, 2012; Thi Huyen et al. 2019; Thi Huyen et al. 2019). Del grupo de hongos con mayor capacidad y potencial para ser utilizados en procesos de bio-conversión sobresalen algunos miembros de los géneros *Pleurotus*, *Aspergillus*, *Trametes*, *Trichoderma*, *Agaricus*, *Ganoderma* y *Lentinus*.

Los procesos de bio-conversión se posicionan como estrategias biotecnológicas con aplicaciones industriales, y para mejorar el valor nutritivo de materiales lignocelulósicos destinados a ser alimentos para rumiantes. Se considera, que puede tener especial utilidad en aquellas áreas con disponibilidad de residuos de cosecha, como pajas de maíz, arroz, sorgo, o subproductos como el bagazo de caña, y así darle un buen uso a esos recursos, que generalmente son poco aprovechados, y por el contrario, se convierten en elementos contaminantes, al no darles una

adecuada disposición en los sitios de producción.

Sin embargo, algunas características del proceso dificultan su aplicación a gran escala, es lento y exigente en el control de las condiciones físicas y químicas del medio de crecimiento de los hongos (temperatura, pH, concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>), ocurren pérdidas de materia seca durante el proceso, puede darse la acumulación de ácidos fenólicos u otras sustancias causantes de toxicidad para los microorganismos del rumen y la limitada disponibilidad de inóculos a nivel comercial, hacen complicada la masificación de esta tecnología.

### **Biotechnología, ganadería y cambio climático**

La ganadería con rumiantes es una de las actividades económicas de gran importancia para la humanidad por el aporte de alimentos, y para las familias ganaderas representa su modo de vida. Sin

embargo, desde hace unas cuatro décadas se ha reconocido que las inapropiadas prácticas de producción han contribuido de manera significativa con la emisión de productos contaminantes, principalmente gases de efecto invernadero, metano (CH<sub>4</sub>), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), implicados en el incremento de la temperatura terrestre (Steinfeld et al. 2006; Clark et al. 2005).

En los animales rumiantes, cerca del 88% del metano se produce durante el metabolismo microbiano de los carbohidratos en rumen y, la cantidad producida está influenciada por diferentes factores, siendo la dieta el factor de mayor peso. Para el animal, la síntesis de CH<sub>4</sub> es un proceso necesario para el equilibrio ruminal, aun cuando, constituye una pérdida de energía entre 6 y 12% de la energía bruta ingerida (Johnson y Johnson, 1995). Con respecto al N<sub>2</sub>O, una parte se emite a partir del nitrógeno excretado en orina y estiércol (Clark et al. 2005).

Por otra parte, la ganadería es altamente vulnerable a los efectos del cambio climático. Particularmente en regiones tropicales, el aumento de la



temperatura asociado al cambio de las condiciones del clima sería es un factor codayuvante para acentuar los efectos del estrés calórico, y causar una variedad de impactos negativos en la salud y productividad de los animales; a los que se unen la reducción de la disponibilidad de agua y de recursos alimenticios (FAO, 2016).

En el contexto del cambio climático, seguridad alimentaria y los objetivos de desarrollo sostenible, los sistemas de producción con rumiantes tiene un importante rol en la producción de alimentos y otros bienes y servicios, así como también posee un considerable potencial de mitigación y adaptación a las nuevas condiciones climáticas que ya están afectando a los ecosistemas de la Tierra (FAO, 2016; FAO-AGAL, 2016). En este sentido, la biotecnología ofrece una importante ayuda a la nutrición animal, mediante una amplia gama de opciones, que aplicadas con conciencia, racionalidad y ética pueden ser útiles para intervenir en los procesos de metanogénesis y metabolismo ruminal del nitrógeno, y de ese modo, además de

reducir emisiones, favorecer la máxima eficiencia alimenticia, mayores índices de productividad y bienestar animal (Leng, 1990; Wallace, 1992; Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2011; Doyle et al. 2019).

La biotecnología, el advenimiento de las "Ciencias Ómicas" y, el desarrollo de técnicas de Bioingeniería y Bioinformática han permitido una mejor caracterización del microbioma ruminal y de sus complejas interrelaciones e interacciones; han dado paso al mejor entendimiento de la dinámica metabólica y la relación con la emisión de gases de efecto invernadero, lo cual tiene un especial y particular significado científico, económico y ambiental, de impacto en los sistemas de producción con rumiantes (Attwood et al. 2011; Leahy et al. 2013; Söllinger et al. 2018); Wallace et al. 2019).

## **CONSIDERACIONES FINALES**

La utilidad, o beneficios de las herramientas biotecnológicas en la nutrición de rumiantes, resultan de la gestión nutricional integrada en el complejo sistema de producción.



La biotecnología desde sus inicios ha contribuido con poderosas herramientas factibles de aplicar para el mejorar el valor nutritivo de alimentos y la eficiencia alimenticia para los rumiantes.

Los cultivos modificados genéticamente o transgénicos representan una alternativa en nutrición animal, siempre y cuando se logre tener la seguridad de no causar ninguna alteración en la salud y bienestar de animales, humanos y ambiente.

Los aditivos microbianos y procesos de bio-conversión figuran como las opciones biotecnológicas con mayor potencial de aplicación en nutrición de rumiantes

Es responsabilidad de todos las personas que intervienen en el proceso de producción de carne y leche asumir el compromiso de buscar y aplicar estrategias que además de mejorar la eficiencia en la producción, sea eficaces para reducir la emisión de contaminantes, y garanticen productos inocuos con el mejor valor nutritivo.

## REFERENCIAS

Abdel-Azim, S.N., M.A. Ahmed, F. Abo-Donia, and H. Soliman. (2011). Evaluation of fungal treatment of some agricultural residues. *Egyptian J. Sheep Goat Sci.* 6:1-13.

Aboagye, I.A., and K.A. Beauchemin. (2019). Potential of molecular weight and structure of tannins to reduce Methane emissions from ruminants: A Review. *Animals.* 9:856.

ADSF. (2002). Les plantes génétiquement modifiées. Rapport sur la science et la technologie n°13. Académie Des Sciences, Paris, France.

Agarwal, N. (2002). Microbial feed additives for ruminants. In: *Recent Advances in Rumen Microbiology.* Kamra, D.N., N. Agarwal, L.C. Chaudhary, and D.K. Agrawal (eds). IVRI Publication, Izatnagar, India. pp. 47-56.

Agodia, A., M. Barchittaa, A. Grillob, and S. Sciaccac (2006). Detection of genetically modified DNA sequences in milk from The Italian Market. *Int. J. Hyg. Environ-Health.* 209: 81-88.

Aikman, P.C., P.H. Henning, D.J. Humphries, and C.H. Horn. (2011). Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera*

*elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. J. Dairy Sci. 94:2840–2849.

Akinfemi, A. (2012). Upgrading of sugarcane bagasse by solid state fermentation with *Pleurotus sajorcaju* and *Pleurotus florida* and the impact on the chemical composition and *in vitro* digestibility. Biotechnol. Anim. Husbandry. 28:603-611.

Akinfemi, A., and O.A. Ogunwole. (2012). Chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw treated with *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus tuber-regium*. Slovak J. Anim. Sci. 45:14-20.

Allison, M.J., A.C. Hammond, and R.J. Jones. (1990). Detection of rumen bacteria that degrade toxic dihydroxypyridine compounds produced from mimosine. Appl. Environ. Microbiol. 56: 590–594.

Antunovic, Z., M. Speranda, D. Amidzic, V. Seric, Z. Steiner, N. Doma-Cinovic, and F. Boli. (2006). Probiotic application in lambs nutrition. Krmiva. 4:175-180.

Attwood, G.T., E. Altermann, W.J. Kelly, S C. Leahy, L. Zhang, and M. Morrison. (2011). Exploring rumen methanogen genomes to identify targets for methane mitigation strategies. Anim. Feed Sci. Technol. 166-167:65-75.

Ayad, M.A., B. Benallou, M.S. Saim, M.A. Smadi, and T. Meziane. (2013). Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. Vet. Sci. Technol. 4:1-5.

Ayala, M.M., M.S. González, R.J. Pinos, C. Vázquez, M.M. Meneses, O. Loera, and G.D. Mendoza. (2011). Fibrolytic potential of spent compost of the mushroom *Agaricus bisporus* to degrade forages for ruminants. Afr. J. Microbiol. Res. 5:241-249.

Beauchemin, K.A., and L. Holtshausen. (2010). Developments in enzyme usage in ruminants. In: M.R. Bedford and G.G. Partridge (eds). Enzymes in farm animal nutrition. 2nd ed. CABI, Oxford, UK. p. 206–230.

Beauchemin, K.A., D. Colombatto, and D.P. Morgavi. (2004). A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants. Can. J. Anim. Sci. 84:23–36.

Beauchemin, K.A., D. Colombatto, D.P. Morgavi, and W.Z. Yang. (2003). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J. Anim. Sci. 81:E37–E47.

Bitencourt, L.L., J.R. Martins Silva, B. Menezes Lopes de Oliveira, G.S.



Dias Júnior, F. Lopes, S. Siécola Júnior, O. de Fátima Zacaroni, and M.N. Pereira. (2011). Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 68:301-307.

Bruno, R.G., H.M. Rutigliano, R.L. Cerri, P.H. Robinson, and J.E. Santos. (2009). Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim. Feed Sci. Tech.* 150:175-186

Callaway, E.S., and S. A. Martin. (1997). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80:2035–2044.

Castro, A.L., P.C. de Aguiar Paiva, E. Souza Dias, J. dos Santos. (2004). Avaliação das alterações bromatológicas e degradabilidade do resíduo de lixiviadora do algodão após tratamento biológico com *Pleurotus sajor-caju*. *Cienc. Agrotec. Lavras.* 3:608-613.

Chen, L., Y. Shen, C. Wang, L. Ding, F. Zhao, M. Wang, J. Fu, and H. Wang. (2019). *Megasphaera elsdenii* lactate degradation pattern shifts in rumen acidosis models. *Front. Microbiol.* 10:162.

Chesson, A., C.S. Stewart, and R.J. Wallace. (1982). Influence of plant

phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:597-603.

Chiquette, J., M. J. Allison, and M. A. Rasmussen. (2012). Use of *Prevotella bryantii* 25A and a commercial probiotic during subacute acidosis challenge in midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:5985-5995.

Clark, H., C. Pinares-Patino and C. deKlein. (2005). Methane and nitrous oxide emissions from grazed grasslands. In: *Grassland: a global resource*. Ed. McGilloway, D.A. Wageningen Academic Publishers, Netherlands. pp. 279-294.

Colombatto, D., F.L. Mould, M.K. Bhat, D.P. Morgavi, K.A. Beauchemin, and E. Owen. (2003). Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganism *in vitro*. *J. Anim. Sci.* 81:1040-1050.

Comité de Biotecnología de la Academia Mexicana de Ciencia. (2017). *Transgénicos. Grandes beneficios, ausencia de daños y mitos*. 501 p.

Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB). (1992). Naciones Unidas. 32 pg.

Counotte, G.H., I.R. Prins, R.H. Janssen, and M.J. Debie. (1981).



Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL- [2-'<sup>3</sup>C]lactate in the rumen of dairy Cattle. Appl. Environ. Microbiol. 42:649-655.

Crosby, B., B. Collier, D.Y. Thomas, R.M. Teather, and J.D. Erfle. (1984). Cloning and expression in *Escherichia coli* of cellulase genes from *Bacteroides succinogenes*. In: S. Hasain (ed.), Fifth Canadian Bioenergy R and D Seminar. Elsevier Applied Science Publications, Amsterdam. pp. 573-576.

De Ondarza, M.B., C.J. Sniffen, H. Graham, and P. Wilcock. (2010). Case Study: Effect of supplemental live yeast on yield of milk and milk components in high-producing multiparous Holstein cows. The Professional Anim. Scientist. 26: 443-449.

Degirmencioglu, T., T. Ozcan, S. Ozbilgin, and S. Senturklu. (2013). Effects of yeast culture addition (*Saccharomyces cerevisiae*) to Anatolian water buffalo diets on milk composition and somatic cell count. Mljekarstvo. 63:42-48.

Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. (2009). Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. J. Dairy Sci. 92:1620-1632.

Dhiman, T.R., M.S. Zama, R.R. Gimenez, J.L. Walters, and R. Treacher. (2002). Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzymes prior to feeding. Anim. Feed Sci. Technol. 101:115-125.

Doyle, N., P. Mbandlwa, W.J. Kelly, G. Attwood, Y. Li, R.P. Ross, C. Stanton, and S. Leahy. (2019). Use of lactic acid bacteria to reduce methane production in ruminants, a Critical Review. Front. Microbiol. 10:2207.

Drouillard, J.S., P.H. Henning, H.H. Meissner, and K.J. Leeuw. (2012). *Megasphaera elsdenii* on the performance of steers adapting to a high-concentrate diet, using three or five transition diets. S. Afr. J. Anim. Sci. 42:195-199.

Elam, N.A., J.F. Gleghorn, J.D. Rivera, M.L. Galyean, P.J. Defoor, M.M. Brashears, and S.M. Younts-Dahl. (2003). Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains np45 and np51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain o157 shedding of finishing beef steers. J. Anim. Sci. 81:2686-2698.

FAO-AGAL. (2016). Síntesis - Ganadería y los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Programa



Mundial de Ganadería Sostenible.  
Roma, Italia. 13 p.

FAO. (2001). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, Argentina. 34p.

FAO. (2003). Biotecnología agrícola para países en desarrollo. Foro electrónico. 125 pg.

FAO. (2016). The State of Food and Agriculture. Climate Change. Agriculture and Food Security. Rome, Italy. 194 Pg.

FAO/WHO. (1991). Strategies for assessing the safety of food produced by biotechnology. In: Report of Joint FAO/WHO Consultation, World Health Organization Geneva. 69 p.

Fári, M. G., and U.P. Kralovánszky. (2006). The founding father of biotechnology: Károly (Karl) ErekyOrsós Ottó Laboratory. Int. J. Horticult. Sci. 12: 9-12.

FDA. (1992). Statement of Policy: Foods Derived from New plant Varieties. Federal Register 57:22984-23005.

Fernández, S., M. Fraga, E. Silveira, A.N. Trombert, A. Rabaza, M. Pla, and P. Zunino. (2018). Probiotic properties of native *Lactobacillus* spp. strains for dairy

calves. Beneficial Microbes: 9:613-624.

Frizzo, L., M. Zbrun, L. Soto, and M. Signorini. (2011). Effects of probiotics on growth performance in young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials. Anim. Feed Sci. Technol. 169:147-156.

Fu C., X. Xiao, Y. Xi, Y. Ge, F. Chen, J. Bouton, R.A. Dixon, and Z.Y. Wang. (2011). Down regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) leads to improved saccharification efficiency in switchgrass. BioEnergy Res. 4:153-164.

Fu, C., R. Sunkar, C. Zhou, H. Shen, J.Y. Zhang, J. Matts, J. Wolf, D.G. Mann, C. N. Stewart, Y. Tang, and Z.Y. Wang. (2012). Overexpression of miR156 in switchgrass (*Panicum virgatum*L.) results in various morphological alterations and leads to improved biomass production. Plant Biotechnol. J. 10:443-452.

García, C.C., G.D. Mendoza, S. González, M. Cobos, M.E. Ortega, and L. Ramírez. (2000). Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. Anim. Feed Sci. Technol. 83:165-170.

Gilbert, H.J., G.P. Hazlewood, J.L. Laurie, C.G. Orpin, and G.P. Xue. (1992). Homologous catalytic



domains in a rumen fungal xylanase. Evidence for gene duplication and prokaryotic origin. *Mol. Microbiol.* 6:2065-2072.

Gondo, T., N. Umami, M. Mugerza, and R. Akashi. (2017). Plant regeneration from embryogenic callus derived from shoot apices and production of transgenic plants by particle inflow gun in dwarf napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Plant Biotechnol.* 34:143-150.

Grabber, J.H., J. Ralph, and R.D. Hatfield. (1998). Severe inhibition of maize wall degradation by synthetic lignins formed with coniferaldehyde. *J. Sci. Food Agric.* 78:81-87.

Gregg, K., A. Rowan, and C. Ware. (1993). Digestion of filter-paper by cellulases cloned from *Ruminococcus albus* AR67. In: Shimada, K., K. Ohmiya, Kobay, K. Sakka, and S. Karita (eds). *Procc. MIE BIOFORUM 93-Genetics, Biochemistry and Ecology of G.P.* Tokyo, Japan. pp. 166-178.

Gruber, M.Y., H. Ray, and L. Blathut-Beatty. (2000). Genetic manipulation of condensed tannin synthesis in forage crops. In: Spangenberg, G. (ed.) *Molecular Breeding of Forage Crops.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Chapter 11:189-218.

Guarner, F., and G.J. Schaafsma. (1998). Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 39:237-238.

Hartnel, G.F. (2010). Feeding Transgenic Feedstuffs to Cattle. In: *Proc. 21st Florida Ruminant Nutr. Symp., Gainesville, FL.* pp. 68-78.

Henning, P.H., C.H. Horn, K.J. Leeuw, H.H. Meissner, and F.M. Hagg. (2010). Effect of ruminal administration of the lactate-utilizing strain *Megasphaera elsdenii*(Me) NCIMB 41125 on abrupt or gradual transition from forage to concentrate diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157:20-29.

Higginbotham, G.E., J.E. Santos, S.O. Juchem, and E.J. De Peters. (2004). Effects of feeding *Aspergillus oryzae* extract on milk production and rumen parameters. *Liv. Prod. Sci.* 86:55-59.

Hristov, A.N., G. Varga, T. Cassidy, M. Long, K. Heyler, S. K. Karnati, B. Corl, C. J. Hovde, and I. Yoon. (2010). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:682-692.

Johnson, K.A., and D.E. Johnson. (1995). Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483-2492.

Jones, R.J., and R.G. Megarrity. (1986). Successful transfer of DHP-

degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. *Aust. Vet. J.* 63: 259-262.

Jones, W.T., and J.L. Mangan. (1977). Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food Agric.* 28:126-36.

Jung H.G., D. Mertens, and R.L. Phillips. (2011). Effect of reduced ferulate-mediated lignin/arabinoxylan cross-linking in corn silage on feed intake, digestibility, and milk production. *J. Dairy. Sci.* 94:5124-5137.

Jung, H.G., and M.S. Allen. (1995). Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forage by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2774-2790.

Jung, H.G., and R.L. Phillips. (2010). Putative seedling ferulate ester (*sfe*) maize mutant: morphology, biomass yield, and stover cell wall composition and rumen degradability. *Crop Sci.* 50:403-418.

Kang, P., A.K. Bao, T. Kumar, Y. Pan, Z. Bao, F. Wang, and S.M. Wang. (2016). Assessment of Stress Tolerance, Productivity, and Forage Quality in T1 Transgenic Alfalfa

Co-overexpressing ZxNHX and ZxVP1-1 from *Zygothlyllum xanthoxylum*. *Front. Plant Sci.* 7:1598.

Khan, M.R.I., A. Ceriotti, L. Tabe, A. Aryan, W. McNabb, A. Moore, S. Craig, D. Spencer, and T.J. Higgins. (1996). Accumulation of a sulphur-rich seed albumin from sunflower in the leaves of transgenic subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Transgenic Res.* 5:179-185.

Khattab, M.S., AM. Abd El Tawab, and M.T. Fouad. (2017). Isolation and characterization of anaerobic bacteria from frozen rumen liquid and its potential characterizations. *Int. J. Dairy Sci.*, 12: 47-51.

Klieve, A.V., R.S. McLennan, and D. Ouwerkerk. (2012). Persistence of orally administered *Megasphaera elsdenii* and *Ruminococcus bromii* in the rumen of beef cattle fed a high grain (barley) diet. *Anim. Prod. Sci.* 52:297-304.

Krause, D.O., R.J. Bunch, B.D. Dalrymple, K.S. Gobius, W.J. Smith, G.P. Xue, and C.S. McSweeney. (2001). Expression of a modified *Neocallimastix patriciarum* xylanase in *Butyrivibrio fibrisolvens* digests more fibre but cannot effectively compete with highly fibrolytic bacteria in the rumen. *J. Appl. Microbiol.* 90:388-396.



- Krehbiel, C.R., S.R. Rust, G. Zhang, and S.E. Gilliland. (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81 (E. Suppl. 2), E120-E132.
- Krizova L., M. Richter, J. Trinacty, J. Riha, and D. Kumprechtova. (2011). The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device. *Czech J. Anim. Sci.* 56: 37-45.
- Kumar, D.S., J. Rama Prasad, and E. Raghava Rao. (2011). Effect of dietary inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance of graded Murrah buffalo bull calves. *Buffalo Bulletin.* 30:63-66.
- Kung, L.Jr. (2001). Direct-fed microbials for dairy cows and enzymes for lactating dairy cows: New theories and applications. *Penn State Dairy Cattle Workshop Proc.* pp. 86-102.
- Le Page, C., L. Mackin, A. Lidgett., and G. Spangenberg. (2000). Development of transgenic white clover expressing chimeric bacterial levan sucrase genes for enhanced tolerance to drought stress. In: *Proc. 2nd International Symposium Molecular Breeding of Forage Crops.* Lorne and Hamilton, Victoria, Australia. 80 (Abst.).
- Leahy, S.C., W.J. Kelly, R.S. Ronimus, N. Wedlock, E. Altermann, and G.T. Attwood. (2013). Genome sequencing of rumen bacteria and archaea and its application to methane mitigation strategies. *Animal.* 7:235-243.
- Lema M., L. Williams, and D.R. Rao. (2001). Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in lambs by feeding by microbial feed supplement. *Small Rumin. Res.* 39:31-39.
- Leng, R.A. (1990). The impact of livestock development on environmental change. In: *Strategies for sustainable animal agriculture in developing countries.* FAO Animal Production and Health. Paper 107. S. Mack (ed.).
- Lesmeister. K.E., A.J. Heinrichs, and M.T. Gabler. (2004). Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 87:1832-1839.
- Lettat, A., P. Nozière, M. Silberberg, D.P. Morgavi, C. Berger, and C. Martin. (2012). Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial

probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. *BMC Microbiol.* 12:142.

Long, M., X. Pang, X. Qin, P. Li, L. Li, S. H. Yang, Z. Wang, X. Li, and G. Liu. (2012). Effect of deleting acetic acid-producing key enzyme gene of *Selenomonas ruminantium* on the ruminal fermentation *in vitro*. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6: 6476-6482.

López-Inzunza HJ., B.B. Chongo-García, O. O-León, J.E. Guerra-Liera, H.López-López, M. Luna-López, L.A. López-Juárez, y S.J. Castro-Camacho. (2018). Efecto del Fibrozyme® en la degradabilidad y la cinética de degradación de la paja de garbanzo (*Cicer arietinum*). *Rev. Cien. Agric.* 15:7-13.

Mao, H.L., H.L. Mao, J.K. Wang, J.X. Liu, and I. Yoon. (2013). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on *in vitro* fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. *J. Anim. Sci.* 91:3291-3298.

Márquez-Araque, A., G. 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. *Ital. J. Anim. Sci.* 8:221-230.

Márquez-Araque, A.T., G.D. Mendoza, S. González, 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.

Mazza, R., S. Mirko, M. Morlacchini, G. Piva, and A. Marocco. (2005). Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Research.* 14:775-784.

Meissner, H.H., P.H. Henning, CH. Horn, K.J. Leeuw, F.M. Hagg, and G. Fouché. (2010). Ruminal acidosis: A review with detailed reference to the controlling agent *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125. *S. Afric. J. Anim. Sci.* 40:79-100.

Mendoza, G.D., O. Loera-Corral, F.X. Plata-Pérez, P.A. Hernández-García, and M. Ramírez-Mella. (2014). "Considerations on the Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Forage Utilization," *The Scientific World Journal*, Volume 2014, Article ID 247437. 9 p.

Mendoza, P.S., P.F. Plata, V.R. Ricalde y G.D. Mendoza. (1996). Efecto del *Saccharomyces cerevisiae* 1026 y monensina sódica en el consumo de alimento y ganancia de peso en ovinos en crecimiento. XX Congreso Nacional



de Buiatria, Acapulco Guerrero. pp. 509-512.

Mertens, D.R. 1994. Regulation of forage intake. In: Fahey, G.C. Jr. (ed.). Forage Quality Evaluation and Utilization. ASA-CSSA,ASSA, Madison, Wi. pp. 450-493.

Mikulec, Z., T. Mašek, B. Habrun, and H. Valpotić. (2010). Influence of live yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation to the diet of fattening lambs on growth performance and rumen bacterial number. Veterinarski Archiv.80:695-703.

Mirzaei-Aghsaghali, A., and N. Maheri-Sis. (2011). Factors affecting mitigation of methane emission from ruminants. I: Feeding Strategies. AJAVA. 6:888-908.

Moallem, U., H. Lehrer, L. Livshitz, M. Zachut, and S. Yakoby. (2009). The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. J. Dairy Sci. 92:343-351.

Morris, P., and M.P. Robbins. (1997). Manipulating condensed tannins in forage legumes. In: B.D. McKersie and D.C.W. Brown (eds). Biotechnology and the Improvement of Forage Legumes. CAB International, Wallingford, CT. pp 147-173.

Nichols, C.A., K.H. Jenkins, J. Vasconcelos, G. Erickson, S.A. Furman, R.S. Goodall, and T. Klopfenstein. (2011). Effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Yucca schidigera* on finishing performance and carcass traits of feedlot cattle. Nebraska Beef Cattle Reports. Paper 617.

Nocek, J.E., and W.P. Kautz. (2006). Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre- and postpartum dairy cattle. J. Dairy Sci. 89:260-266.

Nocek, J.E., W.P. Kautz, J.A.Z. Leedle, and E. Block. (2003). Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. J. Dairy Sci. 86:33-335.

OECD. (1993). Safety evaluations of foods derived by modern technology: concepts and principles. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.

Orpin, C.G., and G. Xue. (1993). Genetic of fibre degradation in the rumen, particularly in relation to anaerobic fungi, and its modification by recombinant DNA technology. In: Procc. XVII International Grassland Congress. NZ Grassland Association, pp. 1209-1214.

Osman, M., J. Stabel, K. Onda, S. Down, W. Kreikemeier, D. Ware, and D. Beitz. (2012). Modification of digestive system microbiome of lactating dairy cows by feeding Bovamine®: Effect on Ruminal Fermentation. Animal Industry Report: AS 658, ASL R2701.

Ozsoy, B., S. Yalcin, Z. Erdogan, Z. Cantekin, and T. Aksu. (2013). Effects of dietary live yeast culture on fattening performance on some blood and rumen fluid parameters in goats. *Revue Méd. Vét.* 164:263-271.

Paryad, A., and M. Rashidi. (2009). Effect of Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on apparent digestibility and nitrogen retention of tomato pomace in Sheep. *Pak. J. Nutr.* 8: 273-278.

Pech Cervantes, A.A., M. Irfan, I. Ogunade, Y. Jiang, D. Kim, C. González, T. Hackmann, A. Oliveira, D. Vyas, and A. Adesogan. (2019). Exogenous fibrolytic enzymes and recombinant bacterial expansins synergistically improve hydrolysis and in vitro digestibility of bermudagrass haylage. *J. Dairy Sci.* 102: 8059 - 8073.

Peláez-Acero, A., M. Meneses-Mayo, L. Miranda-Romero, M. Ayala-Martínez, M. Crosby-Galván, O. Loera-Corral y M.D. Megías-Rivas. (2011). Enzimas fibrolíticas

producidas por fermentación en estado sólido para mejorar los ensilajes de caña de azúcar. *Agrociencia.* 45:675-685.

Peterson, R.E., T.J. Klopfenstein, G.E. Erickson, J. Folmer, S. Hinkley, R.A. Moxley, and D.R. Smith. (2007). Effect of *Lactobacillus acidophilus* strain NP51 on *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding and finishing performance in beef feedlot cattle. *J. Food Prot.* 70:287-291.

Pinos-Rodríguez, J.M., S.S. González Muñoz, G. Mendoza Martínez, R. Bárcena Gama y M. Cobos Peralta. (2001). Efecto de enzimas fibrolíticas glucosiladas en la digestibilidad *in vitro* de MS y MO de alfalfa (*Medicago sativa*) y ballico (*Lolium perenne*). *Rev. Cient. FCV-LUZ.* 11:505-509.

Polizeli, M.L., A.C. Rizzatti, R. Monti, H.F. Terenzi, J.A. Jorge, and D.S. Amorin. (2005). Xylanases from fungi: properties and industrial application. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67:577-591.

Ramírez, A., M.E. Ortega, S. González, C. Becerril y J. Ayala. (2003). Efecto de la suplementación con dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en el comportamiento de becerras en crecimiento. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* Tomo 37, No. 2.



Refat, B., D.A. Christensen, J.J. McKinnon, W. Yang, A.D. Beattie, T.A. McAllister, J.S. Eun, G.A. Abdel-Rahman, and P. Yu. (2018). Effect of fibrolytic enzymes on lactational performance, feeding behavior, and digestibility in high-producing dairy cows fed a barley silage-based diet. *J Dairy Sci* 101:7971-7979.

Ribeiro, G.O., A. Badhan, J. Huang, K.A. Beauchemin, W. Yang, Y. Wang, A. Tsang, and T.A. McAllister. (2018). New recombinant fibrolytic enzymes for improved in vitro ruminal fiber degradability of barley straw. *J. Anim. Sci.*96:3928-3942.

Robinson, J.A., W.J. Smolenski, R.C. Greening, M.L. Ogilvie, R.L. Bell, K. Barsuhn, and J.P. Peters. (1992). Prevention of acute acidosis and enhancement of feed intake in the bovine by *Megasphaera elsdenii* 407A.J. *Anim. Sci.* 70: (Suppl. 1):310 (Abstr.).

Russell, J.B. (2002). *Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition*. Russell, J.B. (ed.). Ithaca, NY. 121 p.

Schingoethe, D.J., K.N. Linke, K.F. Kalscheur, A.R. Hippen, D.R. Rennich, and I. Yoon. (2004). Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. *J. Dairy Sci.* 87: 4178-4181.

Shi, W., C.E. Knoblock, I. Yoon, and M. Oba. (2019). Effects of supplementing a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product during the transition period on rumen fermentation of dairy cows fed fresh diets differing in starch content. [J. Dairy Sci.102:9943-9955.](#)

Shwartz, G., M.L. Rhoads, M.J. VanBaale, R.P. Rhoads, and L.H. Baumgard. (2009). Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92:935-942.

Söllinger, A., A.T. Tveit, M. Poulsen, S.J. Noel, M. Bengtsson, J. Bernhardt, A.L. Frydendahl Hellwing, P. Lund, K. Riedel, C. Schleper, O. Højberg, and T. Urich. (2018). Holistic assessment of rumen microbiome dynamics through quantitative metatranscriptomics reveals multifunctional redundancy during key steps of anaerobic feed degradation. *mSystems* 3: e00038-18.

Soto, L.P., L.S. Frizzo, M.L. Signorini, M.V. Zbrun, L. Lavari, E. Bertozzi, G.J. Sequeira, and M.R. Rosmini. (2015). Fecal culturable microbiota, growth and clinical parameters of calves supplemented with lactic acid bacteria and lactose prior and during experimental infection with *Salmonella* Dublin



DSPV 595T. Arch. Med. Vet. 47:  
237-244.

Society of Toxicology (SQT).  
(2003). The safety of genetically  
modified foods produced through  
biotechnology. Report of the Society  
of Toxicology. Toxicol. Sci. 71:2-8.

Steinfeld, H., P. Gerber, T.  
Wassenaar, V. Castel, M. Rosales,  
and C. de Haan. (2006). Livestock's  
Long Shadow: Environmental  
Issues and Options. Food and  
Agriculture Organization of the  
United Nations (FAO), Rome, Italy.

Thi Huyen N, N.T. Tuyet Le, and  
B.Q. Tuan. (2019). Fermenting rice  
straw with the fungus *Pleurotus  
eryngii* increased the content of  
crude protein and the digestibility of  
the straw. Livestock Res. Rural  
DEV. Volume 31, Article 25.

Thi Huyen, N.T., B.Q. Tuan, N.X.  
Nghien, N.T. Bich Thuy, and N.T.  
Tuyet Le. (2019). Effect of using  
fungal treated rice straw in sheep  
diet on nutrients digestibility and  
microbial protein synthesis. Asian J.  
Anim. Sci. 13: 1-7.

Thieszen, J., C.L. Van Bibber, J.E.  
Axman, and J.S. Drouillard. (2015)  
"Lactipro (*Megasphaera elsdenii*)  
increases ruminal pH and alters  
volatile fatty acids and lactate during  
transition to an 80% concentrate  
diet," Kansas Agricultural

Experiment Station  
Research.Reports: Vol. 1: Iss. 1.

Tirado-González, D.N., L.A.  
Miranda-Romero, A. Ruíz-Flores,  
S.E. Medina-Cuéllar, R. Ramírez-  
Valverde, and G.Tirado-Estrada.  
(2018). Meta-analysis: effects of  
exogenous fibrolytic enzymes in  
ruminant diets. J. Appl. Animal  
Research. 46:771-783.

Trejo-López, T., A. Zepeda-Bastida,  
J. Franco-Fernández, S. Soto-  
Simental, D. Ojeda-Ramírez, M.  
Ayala-Martínez. (2017). Uso de  
extracto enzimático de *Pleurotus  
ostreatus* sobre los parámetros  
productivos de cabras. Abanico Vet.  
7 (2).

Tu, Y., S. Rochfort, Z. Liu, Y. Ran,  
M. Griffith, P. Badenhorst, G. V.  
Louie, M.E. Bowman, K. F. Smith,  
J.P. Noel, A. Mouradov, and G.  
Spangenberg. (2010). Functional  
analyses of caffeic acid O-  
methyltransferase and cinnamoyl-  
CoA-reductase genes from perennial  
ryegrass (*Lolium perenne*). The  
Plant Cell. 10:3357-3373.

Wallace, R.J. (1992). Rumen  
microbiology, biotechnology and  
ruminant nutrition: The application  
of research findings to a complex  
microbial ecosystem. FEMS  
Microbiol. Lett. 100:529-534.

Wallace, R.J., G. Sasson, P.C.  
Garnsworthy, I. Tapio, E. Gregson,



P. Bani, P. Huhtanen, A.R. Bayat, F. Strozzi, F. Biscarini, T.J. Snelling, N. Saunders, S.L. Potterton, J. Craigon, A. Minuti, E. Trevisi, M.L. Callegari, F.P. Cappelli, E.H. Cabezas-Garcia, J. Vilkki, C. Pinares-Patino, K.O. Fliegerova, J. Mrazek, H. Sechovcova, J. Kopečný, A. Bonin, F. Boyer, P. Taberlet, F. Kokou, E. Halperin, J. L. Williams, K.J. Shingfield, and I. Mizrahi. (2019). A heritable subset of the core rumen microbiome dictates dairy cow productivity and emissions. *Sci. Adv.* 5, eaav8391.

Wang, Z.Y., X.D. Ye, J. Nagel, I. Potrykus, and G. Spangenberg. (2001). Expression of a sulphur-rich sunflower albumin gene in transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea*) plants. *Plant Cell Reports.* 20:213-219.

White, B.A., R.I. Mackie, and K.C. Doerner. (1993). Enzymatic hydrolysis of forage cell walls. In: Jung, H.G., D.R. Buxton, R.D. Hatfield, and J. Ralph (eds.). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility.* ASA-CSSA-ASSA, Madison, Wi. pp. 455-484.

Yasuda, K., S. Hashikawa, H. Sakamoto, Y. Tomita, S. Shibata, and T. Fukata. (2007). A new synbiotic consisting of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* and dextran improves milk production in Holstein dairy cows. *J.V. Med. Sci.* 69:205-208.

Ye, X., X. Wu, H. Zhao, M. Frehner, J. Nösberger, I. Potrykus, and G. Spangenberg. (2001). Altered fructan accumulation in transgenic *Lolium multiflorum* plants expressing a *Bacillus subtilis sacB* gene. *Plant Cell Reports.* 20:205-212.

Younts-Dahl, S.M., M.L. Galyean, G.H. Lonergan, N.A. Elam, N., and M. Brashears. (2004). Dietary supplementation with *Lactobacillus-Propionibacterium*-based direct-fed with microbials and prevalence of *Escherichia coli* O157 in beef feedlot cattle and on hides at harvest. *J. Food Prot.* 67:889-893.

Zhu, W., Z. Wei, N. Xu, F. Yang, I. Yoon, Y. Chung, J. Liu, and J. Wang. (2017). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet containing low quality forage. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8:36.