

Las alternativas a los antibióticos en la alimentación deben mantener o mejorar las producciones sin incrementar su coste. En esta primera parte, se repasan los mecanismos de modulación de la fermentación ruminal y dos de las opciones disponibles: los "probióticos" y los ácidos orgánicos.

Modificación de la fermentación ruminal

Estrategias nutricionales en vacuno lechero (I)

Sergio Calsamiglia, Lorena Castillejos y Marta Busquet.
Dpt. de Ciencia Animal i dels Aliments. UAB.

Los ruminantes establecen una simbiosis con los microorganismos ruminales mediante la cual la vaca aporta nutrientes y un medio ruminal adecuado para la supervivencia de los microorganismos y la fermentación de los alimentos, y los microorganismos aportan la capacidad de utilizar la fibra y proteína microbiana sintetizada en el rumen, y que constituyen la fuente principal de energía y proteína, respectivamente, para el animal. Sin embargo, esta relación de simbiosis es ineficiente en algunos aspectos, tanto desde el punto de vista energético (pérdidas de metano) como desde el proteico (pérdidas de nitrógeno amoniacal; Van Nevel y Demeyer, 1988). Estas pérdidas no sólo reducen la producción, sino que contribuyen a la emisión de sustancias contaminantes al medio (Tamminga, 1996; Weimer, 1998).

El uso de antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación animal ha perdido la aceptación social debido a la posible aparición de residuos y resistencias cruzadas con bacterias causantes de patologías en humana (Gustafson y Bowen, 1997), y su utilización se prohibirá a principios



del 2006 en la UE (Directiva 1831/2003/CEE). Se ha estimado que la eliminación de los antibióticos en la alimentación de ruminantes resultará en un incremento del 3,5 al 5,0% en los costes de producción (Carro y Ranilla, 2002), por lo que es necesario buscar alternativas que permitan mantener o mejorar el nivel de producción sin incrementar dichos costes.

Oportunidades para la modulación de la fermentación ruminal

La optimización de la fermentación ruminal debe centrarse en la formulación co-

recta de raciones y en un manejo adecuado de los programas de alimentación. Sin embargo, cuando estas estrategias ya están implementadas, es posible obtener beneficios adicionales mediante el uso de aditivos que modulen la fermentación ruminal.

Modulación del metabolismo energético del rumen

Los hidratos de carbono fermentan en el rumen a glucosa, y la glucosa a piruvato, resultando en la producción de energía para los microorganismos. Este proceso requiere la cesión de un protón al NAD

que se transforma en NADH. En condiciones normales de funcionamiento, es importante mantener una velocidad de formación y utilización de hidrógenos metabólicos equilibrada, reciclando constantemente el NADH produciendo NAD para garantizar el funcionamiento constante de la glicólisis. En condiciones fisiológicas normales, el metano y el propionato, y en menor proporción el butirato, son utilizadores netos de hidrógenos que permiten el mantenimiento de dicho equilibrio (Figura 1).

La retención de hidrógenos metabólicos en los ácidos grasos volátiles (AGV) es esencial para la obtención de energía por parte del animal. En este contexto, la liberación de hidrógenos al medio o su transferencia al metano son procesos energéticamente poco eficientes para el animal, ya que estos gases se pierden a través de la erucción. Se ha estimado que las pérdidas de metano oscilan entre el 3 y el 15% de la energía ingerida (Van Nevel y Demeyer, 1988). Para optimizar la utilización de energía en el rumen es necesario incrementar la retención de hidrógenos metabólicos en los AGV. La eficacia de retención de energía es máxima para el propionato (109%), intermedia para el butírico (78%) y menor para el acetato (62,5%; Richardson *et al.*, 1976). Finalmente, el buen funcionamiento de este ecosistema debe controlarse cuidadosamente. Los sistemas intensivos de alimentación tienen el riesgo de provocar fermentaciones inestables que conducen a acidosis y meteorismo (Nocck, 1997), lo que se traduce en una reducción en la ingestión de alimentos y en la producción. En consecuencia, los aspectos fundamentales que debemos considerar como objetivos de modulación en la fermentación microbiana ruminal deberían ser:

- Aumentar la degradación de la fibra y el almidón, y la producción de AGV.
- Estimular la producción de propionato.
- Inhibir la producción de metano.

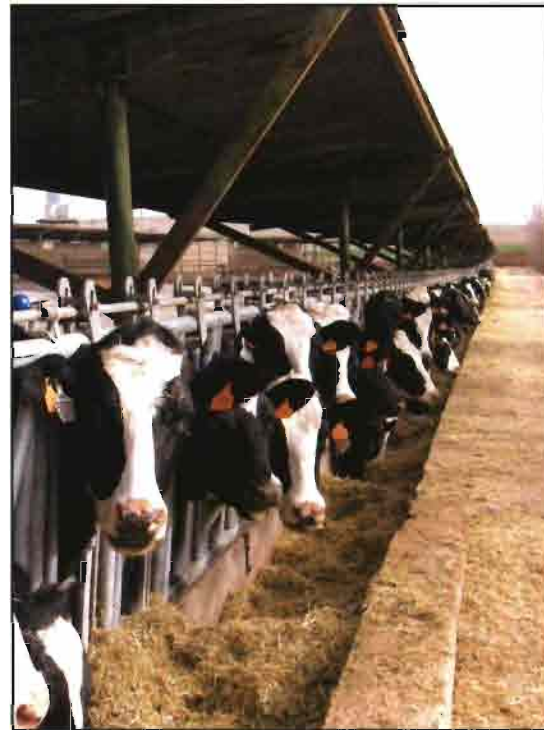
- Controlar la concentración de lactato y el pH ruminal.

Modulación del metabolismo proteico en el rumen

La degradación proteica en el rumen es necesaria para aportar N a los microorganismos para su crecimiento y desarrollo (Wallace y Cotta, 1988). Sin embargo, el exceso de degradación conduce a la acumulación de N amoniacal que se absorbe, se transforma en urea en el hígado y se pierde por la orina. Esta pérdida de N resulta en un aumento en los costes de producción y en la contaminación del medio (Tamminga, 1996; Weimer, 1998).

La utilización óptima del N depende de la velocidad y cantidad de N producido y utilizado por los microorganismos. Las estrategias actuales de alimentación en vacuno lechero resultan con frecuencia en un aporte excesivo de N degradable en el rumen. Los trabajos de investigación sobre el control de la disponibilidad de N en el rumen se han centrado tradicionalmente en el procesado de los alimentos para reducir su degradación, en parte porque la manipulación de la actividad proteolítica del rumen es difícil (Broderick *et al.*, 1991). Sin embargo, la modificación de la peptidólisis y la desaminación pueden ser puntos de control igualmente efectivos. Aunque algunas bacterias (*Megaesphera elsdenii*, *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminatum* y *Bacteroides fibrisolvens*) se encuentran en una proporción elevada en el rumen y tienen una capacidad desaminadora importante (Bladen *et al.*, 1961; Wallace y Cotta, 1988), Russell *et al.* (1988) identificaron a un pequeño grupo de bacterias que tienen una actividad desaminadora inusualmente elevada (20 veces mayor que las otras bacterias; i.e., *Peptostreptococcus* y *Clostridium spp.*), y que aparentemente contribuyen de forma sustancial a la producción de N amoniacal en el rumen. Estas bacterias utilizan los aminoácidos como fuente principal de energía, y liberan el N al medio

ruminal. La inhibición de este pequeño grupo de bacterias puede permitir controlar la producción de N amoniacal (Wallace, 1996; Weimer, 1998). De hecho, la monensina tiene la capacidad de inhibir específicamente a este tipo de bacterias. Estas estrategias tienen la ventaja, respecto a la inhibición de la proteólisis, de reducir la producción de N amoniacal manteniendo la disponibilidad de aminoácidos y péptidos para el crecimiento bacteriano, e incrementando el flujo de ami-



noácidos totales al intestino delgado. Los microorganismos, principalmente los amilolíticos, no sólo tienen la capacidad de utilizar los aminoácidos y péptidos cortos, sino que en su presencia dicho crecimiento ocurre con una eficacia mayor (Russell y Sniffen, 1984).

Los protozoos también juegan un papel importante en la producción de amoníaco, ya que las bacterias son su principal fuente de proteína. Por ello, la defaunación reduce el reciclado de N dentro del rumen y mejora la eficacia de síntesis de proteína bacteriana (Williams y Coleman, 1988). Sin embargo, debe considerarse que la reducción excesiva de la degradación de la proteína puede limitar la disponibilidad de N amoniacal para el crecimiento bacteriano (Broderick *et al.*, 1991).

Alternativas para modular la fermentación ruminal

Hay varias alternativas disponibles para modular la fermentación ruminal, y se pueden clasificar en dos grupos: a) Los aditivos que estimulan el crecimiento de grupos bacterianos específicos (como los aditivos microbianos y los ácidos orgánicos); y b) Los aditivos que inhiben el crecimiento de grupos bacterianos específicos (como los extractos de plantas y los anticuerpos poli-

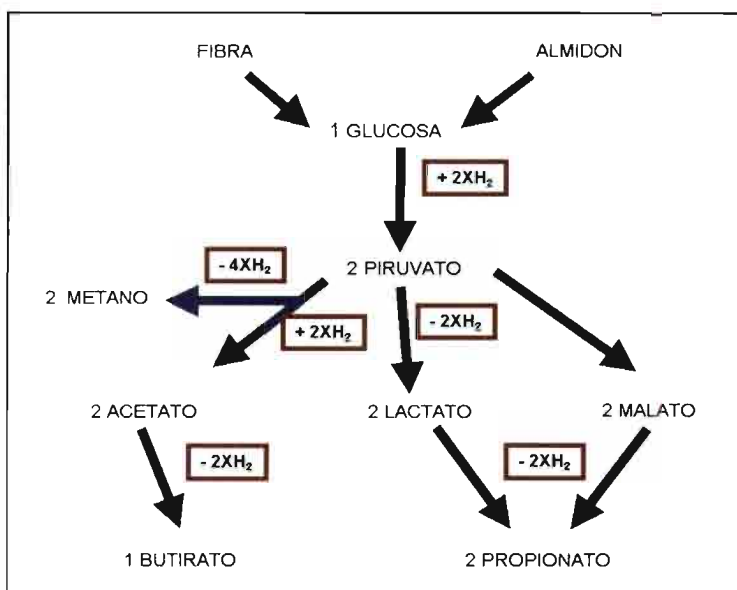


Figura 1.- Vías metabólicas de la fermentación, producción y utilización de hidrógenos metabólicos en el rumen.

clonales). En este artículo se justificarán los mecanismos de acción de estas alternativas y sus posibles sinergias e incompatibilidades.

Aditivos microbianos o "probióticos"

Los aditivos microbianos (*direct fed microbials* o *probiotics*) engloban a microorganismos viables, los extractos de su cultivo, preparaciones enzimáticas o varias combinaciones de los anteriores. Existen, de forma genérica, tres tipos principales de aditivos microbianos para rumiantes:

- Levaduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*).
- Cultivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) sin garantía de su viabilidad: contienen la levadura, el medio de cultivo y sus productos de fermentación.
- Extractos del hongo *Aspergillus oryzae*, que contiene el medio de cultivo y sus productos de fermentación, pe-

ro sin garantía de que las células estén vivas.

La comparación de los resultados publicados en revistas científicas es compleja porque los productos utilizados no son iguales, ni tienen los mismos efectos en el metabolismo ruminal. Además, las dosis se expresan indistintamente en g/día o CFU/día. Por esta razón, no es extraño que los resultados sean variables.

Saccharomyces cerevisiae

La adición de *S. cerevisiae* resulta frecuentemente en un incremento en el número total de bacterias, particularmente las fibrolíticas (*F. succinogenes*, *R. albus*), tanto *in vitro* como *in vivo* (Dawson *et al.*, 1990; Carro *et al.*, 1992; Callaway y Martin, 1997; Lila *et al.*, 2004). También se ha observado la estimulación del crecimiento del hongo *Neocallimastix frontalis* (Chaucheyras *et al.*, 1995). Además, *S. cerevisiae* parece estimular la utilización de lactato por *M. elsdenii* (Chaucheyras *et al.*, 1996) y *S. ruminantium* (Callaway y Martin, 1997), resultando en una mayor síntesis de propionato (Plata *et al.*, 1994; Callaway y Martin, 1997; Lila *et al.*, 2004). La reducción de la concentración de ácido láctico resulta en un incremento en el pH ruminal que favorece el crecimiento de las bacterias fibrolíticas, y resulta en un incremento en la digestión de la fibra y en la producción de AGV (Dawson *et al.*, 1990; Lila *et al.*, 2004; Carro *et al.*, 1992; Doreau y Jouany, 1998; Chaucheyras-Durand y Fonty, 2001). El efecto de *S. cerevisiae* sobre la concentración de N amoniacal es muy variable, y se ha observado tanto una reducción (Carro *et al.*, 1992; Chaucheyras-Durand y Fonty, 2001) como un aumento (Kung *et al.*, 1997).

Los efectos de las levaduras sobre la fermentación ruminal se han explicado mediante dos mecanismos de acción. Las levaduras y sus medios de cultivos pueden contener nutrientes (ácidos orgánicos, vitaminas del grupo B, enzimas, aminoácidos...) que estimulan el crecimiento de bacterias que digieren la celulosa y utilizan el

ácido láctico (Callaway y Martin, 1997; Nisbet y Martin, 1991). Nisbet y Martin (1991) sugirieron que el crecimiento de *S. ruminantium* aumenta con la suplementación de un filtrado de cultivo de levaduras, y sugirieron que la presencia de ácidos orgánicos podría ser responsable de dichos efectos. Callaway y Martin (1997) también justificaron los efectos de *S. cerevisiae* por la presencia de factores solubles de crecimiento. Este modo de acción sería común a los cultivos que contienen levaduras vivas y muertas. Sin embargo, también hay evidencia de que las levaduras vivas, mediante su actividad de respiración, consumen el oxígeno residual disponible en el medio ruminal, protegiendo a las bacterias anaeróbicas más estrictas. Newbold *et al.* (1996) compararon varias cepas de *S. cerevisiae* y observaron una fuerte correlación entre la capacidad de las levaduras de consumir oxígeno y el crecimiento bacteriano, lo que les permitió concluir que el efecto de estimulación de *S. cerevisiae* sobre las bacterias ruminales podía atribuirse, al menos parcialmente, a su actividad respiratoria. Dawson *et al.* (1990) también observaron que el crecimiento de *F. succinogenes in vitro* mejoraba en presencia de cepas vivas de *S. cerevisiae*, mientras que el extracto con células muertas no tuvo efectos. Parece ser, además, que las células vivas de *S. cerevisiae* compiten por la glucosa con *S. bovis*, reduciendo su disponibilidad y la consecuente producción de ácido láctico (Chaucheyras-Durand *et al.*, 1996). El impacto de cada uno de estos mecanismos sobre el efecto final de las levaduras y sus cultivos es difícil de evaluar, pero es probable que los diferentes productos disponibles en el mercado hayan seleccionado cepas que manifiestan mayoritariamente uno de estos mecanismos de acción.

Yoon y Stern (1995) propusieron un mecanismo de acción para las levaduras y hongos mediante el cual el aumento del pH ruminal y/o la disminución de la disponibilidad de oxígeno estimulan el aumento

del crecimiento de las bacterias celulolíticas. Como consecuencia, aumenta la degradabilidad de la fibra, disminuye el llenado ruminal, y aumenta la ingestión de materia seca y la producción, sin que mejore necesariamente la eficacia de utilización de nutrientes. Yoon y Stern (1995) resumieron 12 estudios de lactación en los que se suplementaron *S. cerevisiae* y concluyeron que el incremento en ingestión de materia seca (media de 0,32 kg) justificaba plenamente el aumento de la producción de leche corregida (media de 0,58 kg). Los efectos eran más pronunciados al principio de la lactación en animales alimentados con raciones ricas en concentrado.

Aspergillus oryzae

Aspergillus oryzae se utiliza comercialmente como un extracto de la fermentación de este hongo, e incluye el medio y los productos de su fermentación sin garantía de la viabilidad de las células. El mecanismo principal de acción parece

relacionarse con su capacidad de estimular la degradabilidad de la fibra en el rumen mediante el estímulo directo del hongo fibrolítico *Neocalimastix frontalis*. Welch *et al.* (1996) observaron que la suplementación con *A. oryzae in vitro* resultó en un incremento del 27% en la masa celular de *N. frontalis*. Los hongos ruminales tienen una elevada actividad celulolítica, y su papel en la digestión de la fibra es probablemente estratégica, abriendo vías de degradación en las paredes celulares, permitiendo el acceso a otras bacterias celulolíticas que son las que realizan la mayor parte de la digestión cuantitativa de la fibra. En cualquier caso, el resultado es un incremento en el número de bacterias celulolíticas y de la digestibilidad de la fibra tanto *in vitro* como *in vivo* (Beharka *et al.*, 1991; Beharka y Nagaraja, 1993; Beharka *et al.*, 1998). El aumento en la degradabilidad de la fibra resulta en el aumento en la concentración de AGV y cambios en el perfil de AGV individuales



(Martin y Nisbet, 1990 y 1992; Nisbet y Martin, 1990; Beharka *et al.*, 1991, Beharka y Nagaraja, 1998). Sin embargo, algunos estudios no han observado efectos de la suplementación de *A. oryzae* sobre la degradación ruminal de la fibra y/o la producción de AGV (Oellermann *et al.*, 1990). Otros estudios han demostrado que *A. oryzae* estimula la producción de N amoniacal en más de un 20% (Martin y Nisbet, 1990) e incrementa la degradabilidad de la proteína, lo que sugiere que *A. oryzae* estimula la proteólisis debido al aporte de nutrientes

La optimización de la fermentación ruminal debe centrarse en la formulación y a continuación en el uso de aditivos

Levucell SC,
la vía natural que aumenta los resultados.

4 razones para elegir Levucell SC:

- la levadura específica para rumiantes*
- menor riesgo de acidosis
- aumento de la producción de leche
- la solución natural para el animal y el medio ambiente

Levucell[®] SC
Levadura Específica Rumiantes*

* Autorizado en la Unión Europea para los alimentos de vacas de leche y bovinos de engorde



específicos para este tipo de bacterias, a la presencia de enzimas proteolíticos en el extracto, o a la mejora del acceso a las proteínas una vez las paredes celulares se han digerido. *A. oryzae* también estimula el crecimiento de las bacterias utilizadoras de ácido láctico como *Selenomonas ruminantium* (Nisbet y Martin, 1990; Beharka y Nagaraja, 1993; Beharka *et al.*, 1998) y *Megasphaera elsdenii* (Waldrip y Martin, 1993). El mecanismo a través del cual se produce este estímulo no se co-

noce bien, pero Nisbet y Martin (1990) sugirieron que el aporte de ácido málico en los extractos de *A. oryzae* podrían jugar un papel importante. El incremento en el consumo de ácido láctico reduce su concentración e incrementa el pH ruminal, lo que podría explicar, al menos parcialmente, el aumento en el número de bacterias celulolíticas y la mejora en la degradación de la fibra (Beharka *et al.*, 1998). Sin embargo, pocos estudios han confirmado un incremento en el pH ruminal como consecuencia de la suplementación con *A. oryzae*.

Ácidos orgánicos

Algunos ácidos orgánicos (como el aspártico, málico o fumárico) parecen inducir cambios en el pH ruminal y la producción de metano y/o AGV de una forma similar a la monensina. Sin embargo, su modo de acción parece ser completamente diferente ya que, en contraposición a los antibióticos, parecen estimular, y no inhibir, actividades específicas dentro del metabolismo ruminal (Nisbet y Martin, 1993). Por ejemplo, el crecimiento de *S. ruminantium* se incrementó a más del doble en presencia de 10 mM de L-aspártico, fumárico o L-málico (Nisbet y Martin, 1990). La utilización de láctico incrementó más de 4 veces con aspártico y fumárico, y más de 10 veces con málico (Nisbet y Martin, 1990). Estas bacterias utilizan el ácido láctico como una fuente de energía (Stewart y Bryant, 1988) produciendo propiónico como producto final de la fermentación (Wolin y Miller, 1988). Linehan *et al.* (1978) sugirieron que el aspartato, el fumárico y el malato estimulaban el crecimiento de *S. ruminantium* en presencia de lactato debido a que permitían subsanar un déficit de oxalacetato asociado a la neoglucogénesis. Además, los ácidos orgánicos pueden actuar como aceptores finales de hidrógeno metabólico, reduciendo su disponibilidad para otras funciones metabólicas, particularmente la metanogénesis. Sin embargo, aunque algunos estudios *in vitro* han observado una reducción en la producción de metano al añadir ácidos orgánicos (Asanuma *et al.*, 1999; López *et al.*, 1999; Carro *et al.*, 1999), dicha reducción ha sido generalmente pequeña (3-17%).

La reducción de la concentración de ácido láctico estabi-

liza el pH ruminal y la fermentación ruminal (Martin y Streeter, 1995; Callaway y Martin, 1996; Martin *et al.*, 1999; Montaña *et al.*, 1999; López *et al.*, 1999; Carro *et al.*, 1999). Sin embargo, la reducción en la concentración de lactato no explica completamente el aumento del pH. Callaway y Martin (1996) y Martin *et al.* (1999) sugirieron que los ácidos orgánicos aumentaban el pH ruminal por un doble mecanismo: la reducción de la concentración de lactato, y la producción de CO₂ que tampona el líquido ruminal.

La producción de gas en cultivos *in vitro* demuestran que en la mayor parte de los casos la adición de málico aumenta la producción total de gas y la degradabilidad de la MS (Martin y Streeter, 1995; Callaway y Martin, 1996), indicando que la fermentabilidad de la ración mejoró como resultado del incremento de la población bacteriana o de su actividad. Newbold *et al.* (1996) demostraron que la suplementación con 100 mg/d de málico en ovejas incrementó el número total de bacterias y la población de celulolíticos. López *et al.* (1999) observaron que el fumárico aumentó el número de bacterias celulolíticas en un sistema Rusitec.

Los datos productivos sobre los efectos de los ácidos orgánicos son muy limitados. Cuando la ración es rica en cereales se produce una acumulación de lactato que pueden alcanzar hasta los 29 mM, y una reducción del pH ruminal (Nocek, 1997; Counotte *et al.*, 1981). El resultado conduce a la aparición de problemas ruminales que incluyen la reducción de la degradabilidad de la fibra, reducción del tránsito, disminución de la rumia y salivación, aparición de ulceraciones ruminales, acidosis, timpanismo y muerte (Russell y Hino, 1985). En vacuno lechero, Kung *et al.* (1982) observó que la suplementación de málico en dosis crecientes entre 0 y 140 g/día no afectó a la ingestión de MS, pero la persistencia de la curva de lactación y el contenido en grasa y sólidos totales en la leche mejoró. ●



Algunos ácidos orgánicos parecen inducir cambios de una forma similar a la monensina. Sin embargo, su modo de acción parece ser completamente diferente

noce bien, pero Nisbet y Martin (1990) sugirieron que el aporte de ácido málico en los extractos de *A. oryzae* podrían jugar un papel importante. El incremento en el consumo de ácido láctico reduce su concentración e incrementa el pH ruminal, lo que podría explicar, al menos parcialmente, el aumento en el número de bacterias celulolíticas y la mejora en la degradación de la fibra (Beharka *et al.*, 1998). Sin embargo, pocos estudios han confirmado un incremento en el pH ruminal como consecuencia de la suplementación con *A. oryzae*.

Yoon y Stern (1995) resumieron 14 estudios en los que se suplementó *A. oryzae* y sugirieron que el aumento en la digestión de la fibra reducía el llenado ruminal, resultando en un aumento en la ingestión de alimentos (media de 0,36 kg MS) y de la producción (media de 0,79 kg leche corregida al 4%). El aumento de ingestión de alimentos se podía justificar plenamente por el incremento en la ingestión de nutrientes. Estos efectos eran más aparentes al principio de la lactación y en raciones con una propor-