

Utilización de aditivos en la alimentación del ganado ovino y caprino

pR 7, núm. 3: 26-37 (2006)

M.D. CARRO, M.J. RANILLA Y M.L. TEJIDO

Departamento de Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León
 Ponencia presentada en las XXXI Jornadas Científicas de la SEOC (Zamora)
 dp1mct@unileon.es



INTRODUCCIÓN

El próximo octubre se cumplirán tres años, desde la publicación del Reglamento (CE) N° 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2003, sobre el uso de aditivos en la alimentación animal (Diario Oficial de la Unión Europea de 18.10.2003). En este Reglamento se indica que la producción ganadera ocupa un lugar muy importante en la agricultura de la Unión Europea y que los resultados satisfactorios dependen, en gran medida, del uso de alimentos para los animales que sean seguros y de buena calidad. Este aspecto incluye también a los aditivos utilizados en la alimentación animal, que deben ser evaluados antes de su autorización con la finalidad de asegurar su eficacia y seguridad, tanto para las especies animales a las que se destinan como para los consumidores y el medio ambiente.

El principal objetivo del Reglamento (CE) N° 1831/2003 fue establecer un procedimiento comunitario para la evaluación y autorización de la comercialización y uso de los aditivos para alimentación animal e introducir normas de vigilancia y etiquetado de los

aditivos y premezclas, con el fin de facilitar una base para garantizar un alto nivel de protección de la salud humana, la sanidad y el bienestar de los animales, el medio ambiente y los intereses de los usuarios y consumidores, y garantizar al mismo tiempo el funcionamiento eficaz del mercado interior. Por ello, en este Reglamento se estableció que los aditivos para alimentación animal no deben *“tener un efecto adverso para la sanidad animal, la salud humana o el medio ambiente”*, *“ser presentados de manera que induzcan a error al consumidor”*, ni *“perjudicar al consumidor influyendo negativamente en las características distintivas de los productos animales o inducirle a error con respecto a las características distintivas de dichos productos”*. Por el contrario, los aditivos deben cumplir al menos una de las siguientes funciones:

- a) influir positivamente en las características del pienso
- b) influir positivamente en las características de los productos animales
- c) influir favorablemente en el color de los pájaros y peces ornamentales



- d) satisfacer las necesidades alimenticias de los animales
- e) influir positivamente en las repercusiones medioambientales de la producción animal
- f) influir positivamente en la producción, la actividad o el bienestar de los animales, especialmente actuando en la flora gastrointestinal o la digestibilidad de los piensos
- g) tener un efecto coccidiostático o histomonostático.

La aplicación del Reglamento (CE) Nº 1831/2003 deroga la Directiva 70/524/CEE del Consejo de la Unión Europea (y sus posteriores modificaciones, cuyo número supera la centena), en la que se recogían las disposiciones legislativas, reglamentarias y administrativas, a escala comunitaria, en relación con los aditivos utilizados en la alimentación animal. Si bien el Reglamento (CE) Nº 1831/2003 introdujo numerosos cambios respecto a la Directiva anterior, uno de los más controvertidos ha sido la prohibición, a partir del uno de enero de 2006, de la utilización de antibióticos distintos de los coccidiostáticos o de los histomonostáticos como aditivos para alimentación animal. Este hecho ha provocado que en los últimos años se hayan multiplicado los estudios dirigidos a encontrar aditivos "alternativos" a los antibióticos. En este trabajo se revisan los mecanismos de acción y las respuestas productivas obtenidas con algunos de los aditivos disponibles actualmente para su utilización en la alimentación de los pequeños rumiantes y que, en algún momento, se han propuesto como posibles alternativas a los aditivos antibióticos.

CATEGORÍAS DE ADITIVOS PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL

El Reglamento (CE) Nº 1831/2003 clasifica a los aditivos para alimentación animal en las siguientes cinco categorías:

- a) **aditivos tecnológicos**, que se definen como cualquier sustancia añadida a los piensos con fines tecnológicos y que incluyen a los conservantes, antioxidantes, emulgentes, estabilizantes, espesantes, gelificantes, ligantes, antiaglomerantes, reguladores de la acidez, aditivos para ensilaje y desnaturalizantes.
- b) **aditivos organolépticos**, que se definen como cualquier sustancia que, añadida a los piensos, mejora o modifica las propiedades organolépticas de éstos o las características visuales de los alimentos de origen animal y que incluyen a los colorantes y aromatizantes.
- c) **aditivos nutricionales**, que incluyen a las vitaminas, provitaminas y sustancias químicamente definidas de efecto análogo, oligoelementos o compuestos de oligoelementos, aminoácidos, sus sales y análogos, y a la urea y sus derivados.
- d) **aditivos zootécnicos**, que se definen como cualquier aditivo utilizado para influir positivamente en la productividad de los animales sanos o en el medio ambiente y que incluyen a diversos grupos funcionales, como los digestivos, los estabilizadores de la flora intestinal, las sustancias que influyen positivamente en el medio ambiente y a otros aditivos zootécnicos.
- d) **coccidiostáticos e histomonostáticos**

De los cinco grupos de aditivos, y desde el punto de vista de la producción animal, los aditivos zootécnicos son uno de los grupos que suscita mayor interés, ya que su utilización puede mejorar el rendimiento productivo de los animales y disminuir los costes de producción. Por ello, este trabajo se centra en algunos grupos de aditivos que, por sus mecanismos de acción y características, podrían ser clasificados como aditivos zootécnicos, si bien en algunos casos actualmente no están incluidos en esta categoría o todavía no está autorizado su uso en la Unión Europea. Estos grupos de aditivos son los probióticos, los prebióticos, los ácidos orgánicos, los preparados enzimáticos y los extractos vegetales.

PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

Los probióticos y prebióticos pueden ser considerados como "estabilizadores de la flora intestinal", definidos por el Reglamento (CE) Nº 1831/2003 como "*microorganismos u otras sustancias definidas químicamente que, suministradas a los animales, tienen un efecto positivo para la flora intestinal*". Los **probióticos**, también denominados aditivos microbianos, son cultivos vivos de diversos microorganismos que se administran como suplementos alimenticios a los animales y que provocan efectos beneficiosos en el animal hospedador mediante modificaciones en la población microbiana que alberga su tracto digestivo (Fuller, 1989). Este es un grupo amplio de aditivos que incluye cultivos de bacterias, hongos, o incluso esporas. Dentro de las bacterias, la mayoría de las utilizadas en los animales rumiantes pertenecen a las especies *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bacillus*, y entre los hongos destacan *Aspergillus oryzae* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En general, los cultivos de bacterias son más utilizados en los animales jóvenes (prerumiantes) y los cultivos fúngicos se administran a animales en cebo o a hembras en lactación.

La eficacia de estos preparados microbianos depende de su capacidad para mantener su viabilidad e integridad fisiológica, ya que suelen administrarse con el alimento o el agua de bebida. Algunos de estos aditivos son capaces de soportar altas temperaturas, como las utilizadas en algunos de los procesos de fabricación de

piensos (granulación, extrusión, etc.). Otros microorganismos no pueden sobrevivir en estas condiciones y deben ser protegidos mediante diferentes tratamientos que aseguren su eficacia, lo que suele encarecer el precio del producto comercial. En cualquier caso, para garantizar la máxima eficacia, los microorganismos deben mantenerse viables hasta su administración al animal. En el caso de los hongos, además, éstos deben ir acompañados de su medio de cultivo. La mayoría de los preparados comerciales existentes en el mercado contienen una concentración de microorganismos viables (unidades formadoras de colonias; UFC) que oscila entre 1×10^8 y 4×10^{11} UFC/g de aditivo. Las dosis que se pueden administrar a los animales son variables, dependiendo fundamentalmente del tipo de animal y su nivel de ingestión, pero en la legislación vigente se señalan las dosis mínima y máxima (UFC/kg de pienso completo). Un punto destacable es que los efectos de los aditivos microbianos suelen ser más importantes en las primeras semanas de vida de los animales, especialmente en el período posterior al destete, y cuando los animales están sometidos a algún tipo de estrés (cambios de alimentación, manejo, estrés por calor,...). Cabe señalar también que estos aditivos, para lograr su máxima eficacia, deben administrarse de forma continuada en la ración de los animales, ya que estos microorganismos no pueden multiplicarse en el tracto digestivo de los animales rumiantes.

Los mecanismos de acción de los aditivos microbianos en los animales prerrumiantes parecen ser similares a los que ejercen en los animales monogástricos, si bien todavía no se conocen con precisión. Uno de sus efectos es que impiden a los microorganismos patógenos (p.e., *Salmonella*, *E. coli*, ...) colonizar el tracto digestivo, o al menos reducen su concentración y/o producción de toxinas (Salminen y Tuomola, 1998), aunque también se ha planteado que actúen estimulando la producción de inmunoglobulinas en el tracto digestivo de los animales. El resultado es que los animales que reciben estos aditivos presentan un mejor estado sanitario, lo que se puede traducir en una mejora de los índices productivos al reducir la mortalidad y/o morbilidad.

Los mecanismos de acción de los aditivos microbianos en los rumiantes adultos son completamente diferentes. La administra-

ción continuada de cultivos de *S. cerevisiae* o de *A. oryzae* provoca un aumento del número de bacterias anaerobias y bacterias celulolíticas en el rumen, así como un incremento de su actividad (Newbold, 1995). Este efecto puede ser la consecuencia de varias acciones de las levaduras. Por un lado, las levaduras necesitan azúcares y almidón para su metabolismo, y por ello los captan del medio ruminal evitando que estos sustratos sean empleados por microorganismos productores de ácido láctico, reduciendo los niveles de este ácido en el rumen, contribuyendo a estabilizar el pH ruminal y manteniéndolo en niveles adecuados para una fermentación óptima. Como consecuencia se produce un aumento en la degradación de la fibra y en la producción de ácidos grasos volátiles, lo cual se traduce en una mejora de la eficiencia de utilización del alimento (Frumholtz et al., 1989; Carro et al., 1992a). Además, al aumentar la degradación de la fracción fibrosa del alimento, se puede estimular su ingestión por los animales, tal y como se ha observado en algunos estudios. Otro mecanismo implicado en la estimulación de la población microbiana ruminal es la liberación al medio de sustancias que puedan favorecer el crecimiento microbiano, los denominados "factores de crecimiento", entre los

que destacan el ácido málico, vitaminas y péptidos (Newbold et al., 1996; Dawson and Girard, 1997). Al estimular el crecimiento de las bacterias ruminales, los aditivos microbianos pueden provocar un aumento del flujo duodenal de proteína microbiana. También se ha observado que estos cultivos pueden utilizar hidrógeno y reducir la producción de metano, con el consiguiente ahorro energético que ello supone (Carro et al., 1992b).

La mayoría de los trabajos realizados, para estudiar el efecto de los aditivos microbianos sobre los rendimientos productivos de los animales rumiantes, han sido llevados a cabo con terneros en crecimiento y cebo o con vacas lecheras. La información sobre los efectos del empleo de levaduras en el ganado ovino y caprino es mucho más escasa. Abd El-Ghani (2004) analizó la respuesta a la inclusión de un cultivo de *S. cerevisiae* en la ración de cabras Zaraibi (6 g/d) y observó que los animales que recibían este aditivo producían una mayor ($P < 0,05$) cantidad de leche (0,98 vs. 1,15 kg/d), pero con una menor ($P < 0,05$) concentración en sólidos totales (12,9 vs. 12,6%) y proteína (3,15 vs. 2,98%). Estos cambios en la producción de leche se atribuyeron a la mayor ($P < 0,05$) ingestión de materia seca que presentaron los animales que recibieron los cultivos de levaduras



(1250 vs. 1090 g/d). Giger-Reverdin et al. (1996) también observaron un aumento medio de 0,5 kg/d en la producción de leche de cabras que recibían un cultivo de *S. cerevisiae*, si bien la diferencia con el grupo control no fue estadísticamente significativa. Por el contrario, Hadjipanayiotou et al. (1997) no observaron efecto sobre la producción y composición de la leche ni sobre los cambios de peso vivo de los animales, por la inclusión de un cultivo de *S. cerevisiae* (6,7 g/d) en la ración de cabras Damascus y ovejas Chios. Salama et al. (2002) tampoco observaron efectos de un aditivo comercial, compuesto por una mezcla de un cultivo de *S. cerevisiae* (6 g/d) y malato, sobre la producción y composición de la leche en cabras Murciano-Granadina, pero las cabras que recibieron el aditivo presentaron un mayor ($P=0,03$) incremento de peso vivo a lo largo del período experimental.

En lo que se refiere a la producción de carne, en algunos estudios se ha observado que los corderos de engorde experimentaron mayores ganancias diarias de peso cuando recibieron cultivos de levaduras (Andrighetto et al., 1993; Caja et al., 2000; Haddad and Goussous, 2005), ganancias que en algún caso fueron acompañadas de una mayor ingestión de alimento (Andrighetto et al., 1993). En los casos en los que el consumo de alimento no se modificó, las mayores ganancias de peso se atribuyeron a mejoras de la digestibilidad de la ración

ocasionadas por la suplementación con cultivos de levaduras.

Los resultados obtenidos indican que las respuestas son inconsistentes, hecho que ha sido ampliamente constatado en los estudios realizados en el ganado vacuno y que han sido revisados por diferentes autores (Newbold, 1995; Dawson, 2000; Van Vuuren, 2003). La variabilidad en las respuestas obtenidas puede tener diversas causas. Por una parte, los cultivos utilizados en los distintos estudios tienen un origen diferente, aunque todos ellos se hayan realizado con *S. cerevisiae*, ya que se ha comprobado que las distintas cepas de este microorganismo difieren en su capacidad para modificar la fermentación ruminal (Newbold, 1995). Por otra parte, las condiciones experimentales también son muy diversas, y es probable que el efecto de los aditivos microbianos sea más marcado en las primeras fases de la lactación, cuando los animales tienen unas mayores demandas nutritivas, y reciben raciones con mayor potencial para alterar la fermentación ruminal. Otros aspectos fundamentales son la dosis de aditivo y las condiciones de manejo. De hecho, los resultados obtenidos en estudios controlados (realizados en centros de investigación) suelen ser menos marcados que los obtenidos en condiciones de campo (realizados en explotaciones ganaderas), posiblemente debido a las mejores condiciones higiénico-sanitarias en las que se encuentran los animales en los primeros.

Actualmente existen once aditivos microbianos autorizados en la Unión Europea para su uso en la alimentación de los animales rumiantes, todos ellos destinados al ganado vacuno, si bien el número de productos autorizados va en aumento. El pasado 9 de febrero la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (AESA) emitió un informe favorable sobre un preparado comercial, basado en un cultivo de *S. Cerevisiae*, que ya estaba autorizado de forma permanente para su uso en vacuno de engorde, conejos de engorde, cerdas, lechones y vacas lecheras. La AESA informó que este aditivo producía un efecto beneficioso sobre la ganancia de peso en corderos de engorde, por lo que es previsible que se autorice su uso en la alimentación de estos animales. En marzo de este año se ha presentado a la AESA la solicitud pertinente para que este mismo aditivo sea evaluado para su posible autorización en la alimentación de cabras y ovejas lecheras, y en esta solicitud se señala que el aditivo produjo aumentos de la producción de leche de 0,32-1,18 kg/d en las cabras y de 0,34 kg/d en las ovejas. Asimismo, la AESA emitió el 15 de junio de este año un informe favorable sobre un aditivo comercial, basado en un cultivo de *S. Cerevisiae*, que ya estaba autorizado de forma permanente para su uso en vacuno de engorde y vacas lecheras. En este informe se señala que el aditivo es eficaz para incrementar la producción de leche en cabras y ovejas, y que sus mecanismos de





acción en el rumen de estos animales son similares a los observados en el rumen del vacuno. Estos hechos avalan la eficacia de los aditivos microbianos en los pequeños rumiantes e indican que las empresas que los comercializan comienzan a mostrar interés por estos animales. Por otra parte, en los últimos meses se han presentado a la AESA solicitudes de autorización de nuevos aditivos microbianos destinados al ganado vacuno, lo que indicaría que estos aditivos tienen potencial de futuro en la alimentación de los animales rumiantes. Las investigaciones actuales en este campo se centran en identificar, claramente, los mecanismos de acción de los diferentes microorganismos utilizados para así conseguir cultivos que presenten una mayor eficacia, así como en identificar las condiciones óptimas para su empleo.

El término “prebiótico” incluye una serie de compuestos indigestibles por el animal, que mejoran su estado sanitario mediante la estimulación del crecimiento y/o de la actividad de determinados microorganismos beneficiosos del tracto digestivo, y que además pueden impedir la adhesión de microorganismos patógenos. Las sustancias prebióticas más utilizadas son los oligosacáridos, que alcanzan el tracto posterior sin ser digeridos y allí son fermentados por las bacterias intestinales. Con una cuidada selección de los oligosacáridos se puede favorecer el crecimiento de las bacterias beneficiosas e impedir la proliferación de bacterias perjudiciales. Los efectos de los prebióticos parecen depender del tipo de compuesto y su dosis, de la edad de los animales, de la especie animal y de las condiciones de explotación (Piva y Rossi, 1999). Debido a que estos compuestos

son sustancias totalmente seguras para el animal y el consumidor, es de esperar que continúen las investigaciones para identificar las condiciones óptimas para su uso y que su utilización se incremente en el futuro. Otro aspecto interesante es que, debido a que los mecanismos de acción de los probióticos y los prebióticos no son excluyentes, ambos pueden utilizarse simultáneamente para obtener un efecto sinérgico y constituyen así los denominados “simbióticos”.

ÁCIDOS ORGÁNICOS

Los ácidos orgánicos se utilizan habitualmente como aditivos en la alimentación de los animales monogástricos, pero su uso en los animales rumiantes es limitado y las experiencias realizadas en estos animales, hasta el momento, se reducen a los ácidos fumárico y málico. Los ácidos orgánicos forman parte de los tejidos animales, ya que son productos intermedios de algunos ciclos metabólicos, y algunos de ellos son también producidos en el aparato digestivo de los animales durante los procesos de fermentación. En los animales rumiantes, los hidratos de carbono de la ración se degradan en el rumen hasta convertirse en piruvato, y éste es utilizado por los microorganismos para producir ácidos grasos volátiles, fundamentalmente acético, propiónico y butírico. Los ácidos fumárico y málico son productos intermedios de una de las vías metabólicas por las cuales el piruvato se transforma en ácido propiónico, el cual es absorbido en el rumen y, en su mayor parte, transportado al hígado, donde se convierte en glucosa.

Los ácidos orgánicos pueden ser administrados a los animales como tales, pero su

manejo es peligroso, ya que son sustancias líquidas y corrosivas, por lo que resulta más recomendable el uso de sus sales, principalmente sódicas. El modo de acción de los ácidos orgánicos en los animales rumiantes no es totalmente conocido, pero parecen ejercer su acción a nivel del rumen. En estudios *in vitro* (Russell y Van Soest, 1984) se ha observado que los microorganismos ruminales son capaces de fermentar concentraciones 7,5 mM de malato en menos de 24 horas. Esto significa que cuando las sales de los ácidos orgánicos son administradas a estos niveles son completamente transformadas y no pasan al tracto digestivo posterior, por lo que son sustancias que no pueden dejar residuos en los productos animales. La mayoría de los estudios realizados con ácidos orgánicos se han llevado a cabo en condiciones *in vitro* y son muy pocas las experiencias realizadas con animales. Nisbet y Martin (1990, 1991) observaron que la adición de fumarato y malato (10 mM) a cultivos puros de *Selenomonas ruminantium* multiplicaba por dos su crecimiento. Esta bacteria puede llegar a representar hasta la mitad del total de bacterias viables en el rumen en animales que reciben raciones con elevadas proporciones de concentrados (Caldwell y Bryant, 1966). Además, muchas de sus subespecies pueden utilizar ácido láctico como fuente de energía y en algunos estudios se observó que, tanto el fumarato como el malato, favorecen la captación y utilización del ácido láctico por *S. ruminantium* (Nisbet y Martin, 1990). Por ello, se planteó la posibilidad de que estos dos ácidos podrían ser utilizados como aditivos para paliar los problemas de acidosis que se producen cuando los animales rumiantes reciben raciones ricas en hidratos de carbono rápidamente fermentables y el pH ruminal desciende por una excesiva acumulación de ácido láctico. En experimentos *in vitro* se ha observado, cuando se utilizaron estas dos sustancias como aditivos, una disminución de las concentraciones de ácido láctico (Carro et al., 1999; López et al., 1999; Carro y Ranilla, 2003a) y un aumento de los valores de pH (Callaway y Martin, 1996; López et al., 1999; Carro y Ranilla, 2003a, 2003b). Por otra parte, *S. ruminantium* metaboliza el ácido láctico hasta ácido propiónico, por lo que, en numerosos estudios realizados con los ácidos fumárico y málico o con sus sales, se ha observado un aumento en la

producción y/o concentración de este ácido en experimentos *in vitro* con cultivos de microorganismos ruminales (Asanuma et al., 1999; Carro and Ranilla, 2003a, 2003b; Tejido et al., 2005), en fermentadores de flujo semicontinuo (Carro et al., 1999; López et al., 1999; Gómez et al., 2005) y en el rumen de vacas lecheras y terneros (Kung et al., 1982). Otro de los efectos observados tras la administración de fumarato y malato es una reducción de la producción de metano, uno de los productos finales de la fermentación ruminal y que constituye una importante pérdida energética para el animal, además de contribuir al efecto invernadero. Cuando existe hidrógeno en el medio ruminal, *S. ruminantium* puede fermentar estos dos ácidos para producir succinato y propionato, disminuyendo a la vez la concentración de hidrógeno en el rumen y reduciendo así la cantidad de hidrógeno disponible para formar metano. En experimentos *in vitro* se ha observado una disminución de la producción de metano tras la adición de fumarato (Asanuma et al., 1999; López et al., 1999; Carro y Ranilla, 2003a) y de malato (Carro et al., 1999; Carro y Ranilla, 2003b). Asimismo, Wallace et al. (2005) observaron, cuando se incluía un 11,7% de ácido fumárico en la dieta, una reducción del 75% en la producción de metano de corderos alimentados con concentrado y paja *ad libitum*. En esta prueba experimental el ácido fumárico se administró encapsulado, con la finalidad de evitar posibles efectos negativos sobre la ingestión de alimento.

A pesar de que los resultados obtenidos *in vitro* son claros, no se han obtenido las mismas respuestas en experimentos *in vivo* a nivel ruminal. En dos experimentos, uno de ellos realizado con vacas lecheras y otro con terneros, Kung et al. (1982) no observaron ningún efecto de la adición de ácido málico sobre el pH ruminal, si bien Martin et al. (1999) observaron que, la administración de niveles crecientes de malato, producía un aumento lineal del pH ruminal en terneros que recibían elevadas cantidades de concentrado.

Por otra parte, los estudios realizados con ácidos orgánicos sobre los rendimientos productivos de los pequeños rumiantes son escasos y se han centrado en la utilización de sales del ácido málico. Salama et al. (2002) no observaron efectos de la suplementación con malato (3.2 g malato/kg de materia seca de ración) sobre la

Tabla 1. Efectos del malato sobre la ingestión de pienso (IP), la ganancia de peso vivo (GPV) y el índice de conversión del alimento (IC) en corderos en cebo.

REFERENCIA	TIPO DE CEREAL EN LA RACIÓN	RAZA	MALATO (% ración)	IP (Kg/d)	GPV (g/d)	IC (g/g)
Flores (2004)	Cebada (66,3%)	Manchega y	0	0,95	259 ^a	3,8 ^b
	Maíz (6%)	Lacaune	0,2	0,92	330 ^b	2,9 ^a
Flores (2004)	Maíz (60,0%)	Manchega y	0	0,91 ^b	299	3,3 ^b
	Mandioca (6,5%)	Lacaune	0,2	0,84 ^a	307	2,9 ^a
Carro et al. (2006)	Cebada (50%)	Merina	0	0,821	292	3,0
	Maíz (30%)		0,4	0,891	308	3,1

^{a, b} para cada prueba experimental y cada parámetro, los valores con distinto superíndice son diferentes (P<0,05).

producción y composición de leche en cabras Murciano-Granadina durante toda la lactación, y atribuyeron este resultado al elevado contenido en malato de la ración utilizada (8.1 g malato/kg de materia seca). Por tanto, un factor a considerar es el contenido en malato de la ración que se administra a los animales. En el caso de corderos de cebo, Garín et al. (2001) observaron, al utilizar como aditivo una mezcla de levaduras y malato sódico, una mejora del índice de conversión del pienso. En estudios posteriores, Flores (2004) observó que la suplementación con malato, a niveles del 0.2% en el pienso de corderos, produjo un aumento de la ganancia media diaria y una mejora del índice de conversión cuando los animales recibieron pienso granulado, con altos contenidos en maíz o cebada, y paja *ad libitum* (ver Tabla 1). Los efectos obtenidos fueron más marcados para la ración basada en cebada, apreciándose también un aumento significativo del pH ruminal (medido tras el sacrificio de los animales). De una forma especial, el malato redujo la gravedad de la paraqueratosis ruminal, aumentó el número de las papilas ruminales funcionales y produjo un aumento de la digestibilidad del pienso (Flores, 2004). Por el contrario, Carro et al. (2006) no observaron efectos de la suplementación con malato, a niveles del 0,4 y 0,8% del pienso, en corderos en cebo que recibían un pienso con un 50% de cebada. La diferencia de respuesta obtenida puede atribuirse a las condiciones experimentales empleadas en los estudios, como son, entre otros, el tipo de ración y la dosis de malato. De hecho, en experimentos *in vitro*, se ha observado que la respuesta varía en función de las características de

la ración (García-Martínez et al., 2005; Tejido et al., 2005). Esta variabilidad en la respuesta se ha observado también en los estudios realizados en el ganado vacuno, por lo que todavía no se conocen todos los factores que pueden afectar a la efectividad del malato como aditivo.

Tanto el ácido málico como el fumárico aparecen en la lista de aditivos autorizados en la Unión Europea. Ambos están autorizados como conservantes, destinados a todas las especies de animales, sin restricción alguna en la edad de los animales a los que van destinados o las dosis; es decir, en la actualidad no existe ningún impedimento legal que restrinja su uso, a pesar de que su utilización como "aditivos zootécnicos" no está contemplada. La principal limitación que presentan estas dos sustancias es económica, ya que presentan un elevado coste. Una alternativa es combinar estos productos a dosis bajas con otros aditivos que presenten acciones similares en el tracto digestivo de los animales, como pueden ser los aditivos microbianos o a los extractos vegetales. De hecho, existen productos comerciales, constituidos por combinaciones de estos componentes, tanto para animales monogástricos como rumiantes.

ADITIVOS ENZIMÁTICOS

Los aditivos enzimáticos se emplean frecuentemente en la alimentación de los animales monogástricos con diferentes fines, como son eliminar factores antinutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de determinados nutrientes, complementar la actividad de las enzimas endógenas de los animales, y reducir la excreción de ciertos compuestos (p.e., fósforo y nitrógeno). En el caso de los

rumiantes, los aditivos enzimáticos no sólo no se utilizan de forma rutinaria en la alimentación práctica, sino que todavía no se conocen claramente sus mecanismos de acción ni se han establecido las condiciones productivas en las que pueden ser más efectivos. Hasta hace relativamente poco tiempo, la producción de aditivos enzimáticos comerciales era muy costosa, por lo que utilizarlos en las concentraciones necesarias para obtener una respuesta positiva en la productividad animal no era económicamente rentable. Sin embargo, en los últimos años, se ha logrado reducir de manera notable los costes de producción de estas sustancias, y ello, unido al mejor conocimiento y caracterización de estos productos, ha hecho que se recupere el interés por estos aditivos en la alimentación de los rumiantes.

La mayoría de los preparados enzimáticos comerciales que pueden ser usados como aditivos en la alimentación de los rumiantes proceden de cuatro especies bacterianas (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus faecium*) y tres fúngicas (*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* y *Saccharomyces cerevisiae*; McAllister et al., 2001). En general, los aditivos enzimáticos comerciales se caracterizan según su capacidad para degradar las paredes celulares de los vegetales, y por ello se clasifican principalmente como celulasas o xilanasas, aunque también suelen presentar actividades enzimáticas secundarias de tipo amilasa, proteasa o pectinasa. Además, incluso dentro de una misma especie microbiana, los tipos y activida-

des de las enzimas producidas pueden variar, dependiendo de la cepa seleccionada y del medio y condiciones de cultivo empleados.

Los aditivos enzimáticos pueden ejercer sus efectos a través de acciones directas sobre los alimentos, antes de que estos sean consumidos por los animales, o a través de modificaciones de los procesos digestivos que tienen lugar en el tracto digestivo. Con respecto al primer mecanismo, se ha observado que, tras la aplicación de las enzimas, se puede producir una liberación de azúcares reductores provocada por la degradación de la fibra de los alimentos (Hristov et al., 1996; Giraldo et al., 2004a). En cuanto a los efectos de las enzimas sobre la digestión ruminal, en diferentes estudios se ha observado que la aplicación de enzimas produce un aumento de la degradabilidad de la fibra en el rumen condiciones *in vitro* (Hristov et al., 1996; Giraldo et al., 2005a, 2006), *in situ* (Lewis et al., 1996) e *in vivo* (Beauchemin et al., 1999; Yang et al., 1999). En un estudio realizado por nuestro grupo, utilizando fermentadores de flujo semicontinuo, se observó que los efectos de dos celulasas de diferente origen sobre la degradabilidad de la fibra de la ración eran más acusados en las primeras horas de incubación en los fermentadores, y que el efecto de las enzimas iba siendo menos acusado a medida que avanzaba el tiempo de incubación (ver Tabla 2). En cuanto a los efectos de los aditivos enzimáticos sobre el rendimiento productivo de pequeños rumiantes, el número de trabajos realizados sobre el tema hasta el momento es muy reducido. Rojo et al.

(2005) observaron que la utilización de dos amilasas comerciales como aditivos no afectó a la ganancia media diaria de corderos (22,5 kg de peso vivo al inicio del experimento) ni a su ingestión de alimento. Por el contrario, Pinos-Rodríguez et al. (2002) observaron que la utilización de un producto comercial con actividad celulasa y xilanasas como aditivo, en ovejas alimentadas únicamente con forraje, produjo un aumento significativo de la ingestión de forraje y de su digestibilidad. En lo que se refiere a trabajos realizados con hembras en lactación, Titi y Lubbadah (2004) analizaron el efecto de una celulasa comercial producida por *Trichoderma spp.* sobre la producción de leche en ovejas de raza Awassi y cabras de raza Shami, y observaron un aumento significativo de la misma en ambos casos, si bien la composición de la leche no se vio afectada en el caso de las cabras. González (2004) estudió el efecto de un preparado comercial, con actividad celulasa y xilanasas, sobre la producción de leche en cabras de raza Murciano-Granadina durante la fase media de la lactación. En estos estudios no se observó efecto del tratamiento enzimático sobre la producción de leche, aunque los animales que recibían la dieta tratada presentaron un mayor peso vivo y condición corporal y una mayor digestibilidad de la ración. De forma similar, Flores (2004) no observó efecto de este mismo producto sobre la producción de leche de ovejas Manchega y Lacaune. Los autores de estos trabajos atribuyeron la falta de efectos positivos de la suplementación enzimática a que la dosis de enzimas utilizada pudo ser demasiado baja o a que el sistema de aplicación no fuera el más adecuado, ya que el preparado enzimático se aplicaba sobre el concentrado de la ración. En este sentido, Bouattour (2004) observó, cuando el producto comercial utilizado en los trabajos anteriores era aplicado directamente sobre el forraje de la ración, un aumento significativo de la producción de leche de ovejas Manchega y Lacaune. De forma similar, Mohamed et al. (2005) observaron que la utilización de un producto enzimático con actividades celulasa, xilanasas y proteolítica, cuando se aplicó directamente sobre el forraje de la ración, produjo un aumento significativo de la producción de leche en ovejas Rahmani. Estos resultados variables, obtenidos a veces con un mismo producto, indican la existencia de diferentes fac-

Tabla 2. Efecto del tratamiento con tres enzimas fibrolíticas sobre la degradabilidad de la fibra [%] de una ración compuesta por heno de gramíneas y concentrado (70:30) tras 6, 24 y 48 horas de incubación en fermentadores de flujo semicontinuo (Giraldo et al., 2006)

TRATAMIENTO ENZIMÁTICO ¹					
Tiempo de incubación	CONTROL	TRICH	ASP	MEZ	P =
6	11,1 ^a	23,3 ^c	17,8 ^b	23,4 ^c	< 0,001
24	25,8 ^a	30,4 ^b	29,9 ^b	32,6 ^b	0,003
48	36,8	40,3	39,3	39,3	0,550

¹ CON: control (sin tratamiento enzimático), TRICH: celulasa producida por *Trichoderma longibrachiatum*; ASP: celulasa producida por *Aspergillus niger*; MEZ: mezcla 1:1 TRICH:ASP. Todos los tratamientos se aplicaron a una dosis de 30 unidades endoglucanasa/g materia seca de ración.

^{a, b, c} para cada tiempo de incubación, los valores con distinto superíndice son diferentes (P<0,05)



tores que pueden influir sobre la efectividad de las enzimas como aditivos.

Esta variabilidad en la respuesta se ha observado también en los numerosos estudios realizados con ganado vacuno. Así, Beauchemin et al. (2003) revisaron 20 estudios en los que se utilizaron 41 tratamientos enzimáticos, y observaron que, como media, la utilización de estos aditivos podía producir un aumento diario de 1,0 ($\pm 1,3$) kg en la ingestión de materia seca y de 1,1 ($\pm 1,5$) kg en la producción de leche. Estos autores también señalaron la gran variabilidad existente en los resultados obtenidos, ya que en algunos de los estudios no se observó efecto alguno de estos aditivos. Parte de esta discrepancia entre resultados puede deberse al tipo de forrajes empleados en las raciones de los animales, pero otros factores como son la fase de lactación en la que se encuentran los animales (Zheng et al., 2000), las dosis de enzimas utilizadas y su método de aplicación, también pueden afectar a los resultados obtenidos (Yang et al., 2000). En este sentido, los preparados enzimáticos parecen ser más eficaces cuando son utilizados durante las primeras fases de la lactación (Zheng et al., 2000) y cuando se permite un pretratamiento de los forrajes con los mismos (Giraldo et al., 2004b).

En resumen, los preparados enzimáticos pueden aumentar el rendimiento productivo de los animales, pero su efectividad depende de numerosos factores. En el caso de los forrajes la situación es especialmente complicada y las preparaciones enzimáticas deben ser específicas, ya que

se ha sugerido que incluso podrían variar dentro de un mismo forraje, dependiendo del grado de madurez de éste y de sus barreras estructurales (McAllister et al., 2001). En algunos estudios realizados por nuestro grupo se ha observado que el tratamiento con celulasa incrementó la degradación ruminal de forrajes de calidad media-alta (Carro et al., 2003a; Giraldo et al., 2004a), pero no ejerció un efecto significativo sobre la degradación de forrajes de baja calidad, con una alta lignificación de la pared celular (Carro et al., 2003b; Giraldo et al., 2005b). Por ello, en última instancia, las preparaciones enzimáticas deberían ser diseñadas para superar los factores que limitan la digestión de cada tipo de alimentos. Las perspectivas de futuro pasan por desarrollar combinaciones de enzimas adecuadas a los nuevos ingredientes que se van incorporando a las raciones en las distintas etapas de producción, así como por fabricar enzimas más estables y más baratas.

Desde el punto de vista de la seguridad, los aditivos enzimáticos no presentan problemas y además son bien aceptados por el consumidor, ya que no se absorben y no pueden dejar residuos en los productos animales. En la actualidad existen numerosos preparados enzimáticos autorizados en la Unión Europea, algunos de forma permanente, pero todos ellos están destinados a animales monogástricos. Sin embargo, esta situación puede cambiar en el futuro, ya que el pasado 8 de marzo la AESA emitió un informe favorable sobre un preparado comercial, basado en un extracto del hongo *Aspergillus oryzae* con activi-

dad celulasa y amilasa, destinado a vacas lecheras y terneros de engorde, lo que supone el primer paso para su autorización como aditivo zootécnico. En el caso de producirse la autorización, supondría el primer aditivo enzimático, autorizado en la Unión Europea, para su uso en la alimentación de los animales rumiantes. Si la investigación sobre los preparados enzimáticos destinados a estos animales continúa, es de prever que en el futuro se autorice la comercialización de más aditivos enzimáticos destinados a estos animales.

EXTRACTOS VEGETALES

La utilización de algunas plantas o de sus extractos se plantea actualmente como uno de los grupos de aditivos que presentan mayores posibilidades de éxito, ya que muchas plantas contienen un elevado número de ingredientes activos que han sido utilizados tradicionalmente en la medicina humana y veterinaria. Estos compuestos son metabolitos secundarios, que parecen cumplir una función de relación de las plantas con su medio ambiente (Greathead, 2003). Las concentraciones de estas sustancias en las plantas son variables, ya que en algunos casos su producción se ve inducida por algunas circunstancias medioambientales. La variedad de moléculas activas que pueden encontrarse en las plantas es muy amplia, pero destacan, entre otros, las saponinas, los taninos, los fenilpropanos, los carotenos y los flavonoides. Las propiedades bacteriostáticas y/o bactericidas, en función de la dosis, de algunos de estos metabolitos están bien contrastadas (Cowan, 1999).

Algunas plantas (anís, tomillo, apio, pimienta, etc.) contienen aceites esenciales que les confieren propiedades aromáticas. Tal y como se ha observado en diferentes experimentos, la utilización de estos aceites puede producir aumentos de la ganancia diaria de peso de cerdos y pollos similares a los registrados con aditivos antibióticos promotores del crecimiento (Piva y Rossi, 1999). Otras plantas, como los cítricos (naranja, pomelo, mandarina, etc.), contienen bioflavonoides que también pueden producir efectos positivos sobre los rendimientos productivos de los animales. Los mecanismos de acción de estas sustancias, y de otras extraídas de diferentes plantas, no se conocen totalmente, y varían según la sustancia de que se trate; algunos de los

mecanismos propuestos figuran a continuación: disminuyen la oxidación de los aminoácidos, ejercen una acción antimicrobiana sobre algunos microorganismos intestinales, favorecen la absorción intestinal, estimulan la secreción de enzimas digestivos, aumentan la palatabilidad de los alimentos y estimulan su ingestión, y mejoran el estado inmunológico del animal [Kamel, 2001].

En el caso de los animales rumiantes, el número de experiencias realizado hasta el momento es inferior al llevado a cabo en los animales monogástricos y, hasta el momento, no existen estudios publicados realizados con pequeños rumiantes. Uno de los extractos vegetales más investigado es el de *Yucca shidigera*. La utilización de estos extractos, ricos en saponinas, provoca en el rumen un descenso de las bacterias Gram positivas y de los protozoos. Algunos de los resultados observados tras la utilización de estos extractos son: una reducción de los niveles de amoníaco en el rumen, un aumento de la producción de ácidos grasos volátiles e, incluso, un incremento de la síntesis microbiana. Un posible medio de acción de los extractos de yuca es su capacidad para “capturar” el amoníaco producido en el rumen, y permitir posteriormente su liberación de forma gradual [Ryan y Leek, 1993]. De esta forma, la liberación de amoníaco se sincroniza con la liberación de energía [al ser fermentados los hidratos de carbono de la dieta] y se favorece el crecimiento de los microorganismos ruminales. Por ello, el uso de estos extractos puede estar muy indicado para animales que reciben dietas con urea o con forrajes que aporten proteína de alta y rápida degradabilidad. Por otra parte, otro efecto bien contrastado de los extractos de yuca [al igual que de otras saponinas] es una disminución del número de protozoos ruminales [Wallace et al., 1994], los cuales son susceptibles a las saponinas de la yuca debido a la presencia de colesterol en sus membranas. Esta disminución del número de protozoos reduce la predación de las bacterias ruminales y por ello puede ocasionar un aumento del flujo duodenal de proteína microbiana. Sin embargo, a pesar de que los efectos de estos extractos sobre la fermentación ruminal son consistentes, en los experimentos realizados para analizar sus efectos sobre los rendimientos productivos de los animales se ha observado una gran variabilidad.

Otros de los metabolitos vegetales más estudiados son los taninos. Estos compuestos, especialmente los taninos condensados, pueden unirse con las proteínas y formar así complejos que las “protegen” frente a su degradación en el rumen. Estas uniones son estables a valores de pH cercanos a la neutralidad o ligeramente inferiores, pero se disocian a valores de pH ácidos, como los encontrados en el abomaso. Debido a estos efectos, los taninos se han considerado un método eficaz para proteger a las proteínas del alimento frente a su degradación ruminal, pero administrados a dosis elevadas pueden presentar efectos negativos, ya que pueden reducir la ingestión y digestibilidad de los alimentos y, por ello, la productividad de los animales [Min et al., 2003].

Recientemente, se han realizado varios estudios *in vitro* para investigar los efectos del aceite de ajo y de algunos de sus metabolitos sobre la fermentación ruminal [Busquet et al., 2005a, 2005b]. En estos estudios se observó que la utilización de aceite de ajo producía una disminución de la proporción de acetato y de la producción de metano, así como un aumento de la proporción de propionato en el rumen. Estos efectos serían similares a los provocados por la utilización de antibióticos ionóforos como aditivos en los animales rumiantes, aunque los mecanismos específicos de acción del aceite de ajo todavía no se han identificado. Otros de los extractos vegetales que están siendo investigados para su uso como posibles aditivos son el timol, el carvacrol, el eugenol y el cinamaldehído [Calsamiglia et al., 2005]. Actualmente, los extractos vegetales forman parte de lo que se denomina “zona gris” en los aditivos, es decir, un grupo de sustancias “toleradas”, pero no admitidas como aditivos de manera estrictamente legal. Los extractos vegetales podrían considerarse dentro del grupo de aditivos clasificado como “sustancias aromáticas y saborizantes”, en el que se incluyen “*todos los productos naturales y los productos sintéticos correspondientes*”, y que pueden utilizarse en todas las especies animales, sin restricción alguna en su edad o en la dosis de producto. Dado que algunos de estos extractos presentan propiedades estimulantes de la ingestión, su posible autorización como aditivos alimentarios con estos efectos no parece problemática. Sin embargo, la utilización de alguna de estas sustancias como “adi-



tivo zootécnico” requerirá que se demuestren sus propiedades para mejorar los rendimientos productivos de los animales. Otro punto importante a este respecto es el control de la calidad de estos aditivos y su trazabilidad, dado que su origen puede ser muy diverso y los procedimientos de obtención son complejos. Por último, hay que señalar que algunos de estos productos presentan actualmente un elevado precio, por lo que éste deberá abarataarse para que su utilización llegue a ser económicamente rentable.

CONCLUSIONES

Las investigaciones realizadas hasta el momento sobre los diferentes grupos de aditivos que se han revisado en este trabajo se han centrado, fundamentalmente, en el ganado vacuno, y son comparativamente pocos los trabajos realizados para investigar los efectos de estos aditivos cuando se utilizan en la alimentación de los pequeños rumiantes. Por otra parte, los intereses de las empresas que comercializan aditivos también se han centrado preferentemente en el ganado vacuno, por lo que las autorizaciones para su empleo se han solicitado para esta especie. Sin embargo, en los últimos meses se aprecia un creciente interés de las empresas por lograr que algunos de estos aditivos se autoricen también para los pequeños rumiantes. Si esta tendencia continúa en el futuro, es previsible que se incremente el número de aditivos autorizados en la Unión Europea destinados al ganado ovino y caprino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD EL-GHANI, A.A. 2004. Influence of diet supplementation with yeast culture [*Saccharomyces cerevisiae*] on performance of Zarabi goats. *Small Rum. Res.* 52: 223-229.
- ANDRIGHETTO, I., BAILONI, L., COZZI, G. Y BERZAGHI, P. 1993. Effects of yeast culture addition on digestion in sheep fed high concentrate diets. *Small Rum. Res.* 12: 27-34.
- ASANUMA, N., IWAMOTO, M. Y HINO, T. 1999. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 82: 780-787.
- BEAUCHEMIN, K.A., YANG, Z. Y RODE, L.M. 1999. Effects of grain source and enzyme additive or grain source on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 378-390.
- BEAUCHEMIN K., COLOMBATTO D., MORGAVI D.P. Y YANG W.Z. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81: E37-E47.
- BOUATTOUR, M.A. 2004. *Efectos de la utilización de enzimas fibrolíticas y de aceite de soja en la alimentación de ovejas lecheras*. Thesis Master of Science. CIHEAM. Instituto Agromediterráneo de Zaragoza, España.
- BUSQUET M., CALSAMIGLIA S., FERRET, CARRO M.D. Y KAMEL C. 2005A. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 88: 4393-4404.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. Y KAMEL, C. 2005B. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.* 88: 2508-2516.
- CAJA, G., GARÍN, D. Y MESIÁ, J. 2000. Stimulating rumen fermentation: organic acids salt as growth promoters. *Feed Infr.* 21: 23-25.
- CALLAWAY, T.R. Y MARTIN, S.A., 1996. Effects of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *J. Anim. Sci.* 74:1982-1989.
- CALDWELL, D.R. Y BRYANT, M.P. 1966. Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Appl. Microbiol.* 14: 794-801.
- CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZO, P.W., CASTILLEJOS, L. Y FERRET, A. 2005. Los aceites esenciales en la alimentación del ganado vacuno. En: *Aditivos zootécnicos en la alimentación del ganado vacuno*. pp. 65-81. Ed. Luzán. 5 S.A. DE EDICIONES, Madrid.
- CARRO, M.D. Y RANILLA, M.J. 2003A. Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains. *Br. J. Nutr.* 89: 181-188.
- CARRO, M.D. Y RANILLA, M.J. 2003B. Influence of different concentrations of disodium fumarate on methane production and fermentation of concentrate feeds by rumen microorganisms in vitro. *Br. J. Nutr.* 90: 617-623.
- CARRO, M.D., LEBZIEN, P. Y ROHR, K. 1992A. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. *Livest. Prod. Sci.* 32: 219-229.
- CARRO, M.D., LEBZIEN, P. Y ROHR, K. 1992B. Influence of yeast culture on the "in vitro" fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 37: 209-220.
- CARRO, M.D., LÓPEZ, S., VALDÉS, C. Y OVEJERO, F.J. 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.
- CARRO M.D., RANILLA M.J., MOHAMED A.H. Y TEJIDO M.L. 2003A. Digestibilidad in vitro de forrajes: efecto del tratamiento con enzimas fibrolíticas. *ITEA* (Vol. Extra) 24: 735-738.
- CARRO M.D., RANILLA M.J., MOHAMED A.H. Y TEJIDO M.L. 2003B. In vitro fermentation of cereal straws as affected by the treatment with exogenous fibrolytic enzymes. *Trop. Subtrop. Agroecosys.* 3: 433-436.
- CARRO, M.D., RANILLA, M.J. GIRÁLDEZ, F. J. Y MANTECÓN, A.R. 2006. Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 84: 405-410.
- COWAN, MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582.
- DAWSON, K.A. Y GIRARD, I.D. 1997. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. En: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*. (eds. T.P. Lyons and K.A. Jacques). pp. 293-304. Nottingham University Press.
- DAWSON, K.A. 2000. Some milestones in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal production systems. En: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*. (eds. T.P. Lyons and K.A. Jacques). pp. 473-486. Nottingham University Press.
- FLORES, C. 2004. *Mejora de la producción de ganado ovino mediante enzimas fibrolíticas en ovejas lecheras y malato en corderos de engorde*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- FRUMHOLTZ, P.P., NEWBOLD, C.J. Y WALLACE, R.J. 1989. Influence of *Aspegillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in rumen-simulation technique (Rusitec). *J. Agric. Sci.* 113: 169-172.
- FULLER, R. 1989. A Review: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 365-378.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, R., RANILLA, M.J., TEJIDO, M.L. Y CARRO, M.D. 2005. Effects of disodium fumarate on in vitro rumen microbial growth, methane production and fermentation of diets differing in their forage:concentrate ratio. *Br. J. Nutr.* 94:71-77.
- GARIN, D., CAJA, G. Y MESIÁ, J. 2001. Effects of the use of Gustor XXI, as a substitute of growth promoters in the intensive fattening of lambs. *Cah. Options Mediterr.* 54: 181-184.
- GIGER-REVERDIN, S., BEZAULT, N., SAUVANT, D. Y BETIN, G. 1996. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63: 149-162.
- GIRALDO, L.A., RANILLA, M.J., TEJIDO, M.L. Y CARRO, M.D. 2004A. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro rumen fermentation of tropical forages. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 67-70.
- GIRALDO, L.A., RANILLA, M.J., TEJIDO, M.L. Y CARRO, M.D. 2004B. Effect of enzyme application method on in vitro rumen fermentation of tropical forages. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 63-66.
- GIRALDO, L.A., TEJIDO, M.L., RANILLA, M.J. Y CARRO, M.D. 2005A. Degradación ruminal de un substrato con un alto contenido en forraje en fermentadores de flujo semicontinuo: efecto del tratamiento con enzimas fibrolíticas. *ITEA* (Vol. Extra) 26: 584-586.
- GIRALDO, L.A., CARRO, M.D., RANILLA, M.J., TEJIDO, M.L. Y MOHAMED, A.H. 2005B. In vitro ruminal fermentation of low-quality forages as influenced by the treatment with exogenous fibrolytic enzymes. En: *Proceedings of the 11th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on Sheep and Goat Nutrition*. pp. 88.
- GIRALDO, L.A., TEJIDO M.L., RANILLA M.J. Y CARRO M.D. 2006. Effects of exogenous cellulase supplementation on microbial growth and ruminal fermentation of a high-forage diet in Rusitec fermenters. *J. Anim. Sci.* [En prensa].
- GONZÁLEZ, E. 2004. *Utilización de enzimas fibrolíticas en cabras lecheras. Evaluación de su actividad y características fermentativas in vitro*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- GÓMEZ J.A., TEJIDO, M.L. Y CARRO, M.D. 2005. Mixed rumen microorganisms growth and rumen fermentation of two diets in RUSITEC fermenters: influence of disodium malate supplementation. *Br. J. Nutr.* 93:479-484.
- GREATHEAD, H. 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 279-290

- HADDAD, S.G. Y GOUSSOUS, S.N. 2005. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118: 343-348.
- HADJIPANAYIOTOU, M., ANTONIOU, I. Y PHOTIOU, A. 1997. Effects of the inclusion of yeast culture on the performance of dairy ewes and goats and the degradation of feedstuffs. *Livest. Prod. Sci.* 48: 129-134
- HRISTOV, A.N., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A. Y WUERFEL, R.L. 1996. Effect of a commercial enzyme preparation on barley silage in vitro and in sacco dry matter degradability. En: *Proceedings of the Western Section American Society of Animal Science*. pp. 282-284. Rapid City, South Dakota, USA
- KAMEL, C. 2001. Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non-ruminants. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. (eds. P.C. Garnsworthy y J. Wiseman). pp. 135-150. Nottingham University Press, Nottingham, Reino Unido.
- KUNG, L.JR., HUBER, J.T., KRUMMREY, J.D., ALLISON, L. Y COOK, R.M. 1982. Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility, and nitrogen utilization. *J. Dairy Sci.* 65: 1170-1174.
- LEWIS, G.E., HUNT, C.W., SANCHEZ, W.K., TREACHER, R., PRITCHARD, G.T. Y FENG, P. 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J. Anim. Sci.* 74: 3020-3028.
- LÓPEZ, S, VALDÉS, C., NEWBOLD, C.J. Y WALLACE, R.J. 1999. Decreased methane production and altered fermentation in response to the addition of fumaric acid to the rumen simulation technique [Rusitec]. *Br. J. Nutr.* 81: 59-64.
- MARTIN, S.A., STREETER, M.N., NISBET, D.J., HILL, G.M. Y WILLIAMS, S.E. 1999. Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 77: 1008-1015.
- MCALLISTER, T.A., HRISTOV, A.N., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M. Y CHENG, K.-J. 2001. *Enzymes in ruminant diets*. In: *Enzymes in Farm Animal Nutrition* (eds. M.R. Bedford y G.G. Partridge), pp. 273-298. CAB International, Londres, Reino Unido.
- MIN, B.R., BARRU, T.N., ATTWOOD, G.T. Y MCNABB, W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106: 3-19.
- MOHAMED, A.H., EL-SAIDY, B.E., IBRAHIM, K., TEJIDO, M.L. Y CARRO, M.D. 2005. Effects of exogenous enzymes on in vitro ruminal fermentation of a high-forage diet and productive responses of lactating ewes. *Egyp. J. Nutr. Feeds*, 8: 591-602.
- NEWBOLD, C.J. 1995. Probiotics for ruminants. En: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Nutrition* (eds. J. Wallace y A. Chesson). pp. 259-278. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany.
- NEWBOLD, C.J., WALLACE, R.J. Y MCINTOSH, F.M. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Br. J. Nutr.* 76:249-256.
- NISBET, D.J. Y MARTIN, S.A. 1990. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3515-3518.
- NISBET, D.J. Y MARTIN, S.A. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 69: 4628-4633.
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M., GONZÁLEZ, S.S., MENDOZA, G.D., BÁRCENA, R., COBOS, M.A., HERNÁNDEZ, A. Y ORTEGA, M.E. 2002. Effects of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. *J. Anim. Sci.* 80: 3016-3020.
- PIVA, G. Y ROSSI, F. 1999. Future prospects for the non-therapeutic use of antibiotics. En: *Recent Progress in Animal Production Science. 1. Proceedings of the A.S.P.A. XII Congress* (eds. G. Piva, G. Bertoni, F. Masoero, P. Bani y L. Calamari). pp. 279-317. Piacenza, Italy.
- ROJO, R., MENDOZA, G.D., GONZÁLEZ, S.S., LANDOIS, L., BÁRCENA, R. Y CROSBY, M.N.M. 2005. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Small Rum. Res.* 123-124: 655-665.
- RUSSELL, J.B. Y VAN SOEST, P.J. 1984. In vitro ruminal fermentation of organic acids common in forage. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 155-159.
- RYAN, J.P. Y REEK, B.F. 1993. The complementary effects of *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture (Yea-Sacc 1026) and *Yucca schidigera* extract (solid De-odorase) on ruminal metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.* 71 (Suppl 1): 287.
- SALAMA, A.A.K., CAJA, G., GARIN, D., ALBANELL, E., SUCH, X. Y CASALS, R. 2002. Effects of adding a mixture of malate and yeast culture [*Saccharomyces cerevisiae*] on milk production of Murciano-Granadina dairy goats. *Anim. Res.* 51: 295-303
- SALMINEN, S. Y TUOMOLA, E. M. 1998. Adhesión of some probiotic and dairy Lactobacillus strains to Cacao-2 cell cultures. *Int. Food Microbiol.* 41:45-51.
- TEJIDO M.L., RANILLA M.J., GARCÍA-MARTÍNEZ R. Y CARRO M.D. 2005. In vitro microbial growth and rumen fermentation of different diets as affected by the addition of disodium malate. *Anim. Sci.* 81:31-38.
- TITI, H. Y LUBBADEH, W.F. 2004. Effect of feeding cellulase enzyme on productive responses of pregnant and lactating ewes and goats. *Small. Rum. Res.* 52: 137-143.
- VAN VUUREN, M. 2003. Effect of live yeast on the performance of dairy cows. En: *Proceedings of the 2003 International European Probiotics Association Seminar*. Lelystad, Holanda.
- Wallace, R.J., Arthaud, L. y Newbold, C.J. 1994. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1762-1767.
- WALLACE, R.J., WOOD, T.A., ROWE, A., YAÑEZ, D.R., WILLIAMS, S.P. Y NEWBOLD, C.J. 2005. Encapsulated fumaric acid as a means of decreasing ruminal methane emissions. En: *Publication Series, Institute of Animal Science, ETH Zurich* (eds. C.R. Soliva, J. Takahashi y M. Kreuzer). Vol. 27, pp. 86-89.
- YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A. Y RODE, L.M. 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 391-403.
- YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A. Y RODE, L.M. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83: 2512-2520.
- ZHENG, W., SCHINGOETHE, D.J., STEGEMAN G.A., HIPPEN, A.R. Y TREACHER, R.J. 2000. Determination of when during the lactation cycle to start feeding a cellulase and xylanase enzyme mixture to dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2319-2325.