

ESTRATEGIAS NUTRICIONALES PARA MODIFICAR LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN VACUNO LECHERO

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

1.- INTRODUCCIÓN

Los rumiantes 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 Soest 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).

En las últimas décadas, el uso de antibióticos ionóforos promotores del crecimiento ha demostrado ser eficaz en reducir estas pérdidas energéticas y proteicas (Van Soest y Demeyer, 1988). El éxito de los ionóforos se basa en su capacidad de inhibir específicamente a bacterias gram-positivas cuyo producto de fermentación es principalmente el acetato, el butirato, el hidrógeno y la producción de ácido láctico. Como resultado de esta inhibición, la eficacia de utilización de energía mejora debido al incremento en la producción de propiónico y la reducción de la producción de acético y metano. Además, los ionóforos inhiben la proteólisis y la desaminación, resultando en una reducción de la concentración de amoníaco y una mejora en la utilización de la proteína en el rumen (Richardson et al., 1976; Russell y Strobel, 1988). Además, sus efectos en grupos bacterianos específicos (i.e., *Streptococcus bovis*) reduce el riesgo de acidosis y timpanismo (Nagaraja et al., 1982; Lowe et al., 1991; McGuffey et al., 2001). Estos

cambios resultan en una mejora en la utilización de los alimentos y de la producción. El mecanismo de acción de los ionóforos se basa en su capacidad de insertarse en las membranas celulares y actuar como transportadores de membrana. La concentración intracelular de K^+ disminuye, y la de Na^+ y H^+ aumenta, lo que resulta en la disminución del pH intracelular y la pérdida del gradiente electroquímico transmembrana (Bergen y Bates, 1984). En estas condiciones, las bacterias utilizan la mayor parte de su energía para mantener dicho gradiente, por lo que dejan de crecer y, eventualmente, mueren. La naturaleza hidrofóbica de los ionóforos les permite interactuar con las membranas celulares de las bacterias gram-positivas, pero su elevado peso molecular y la naturaleza hidrofílica de la membrana externa de las bacterias gram-negativas les protege de dichos efectos.

Sin embargo, 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 rumiantes 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.

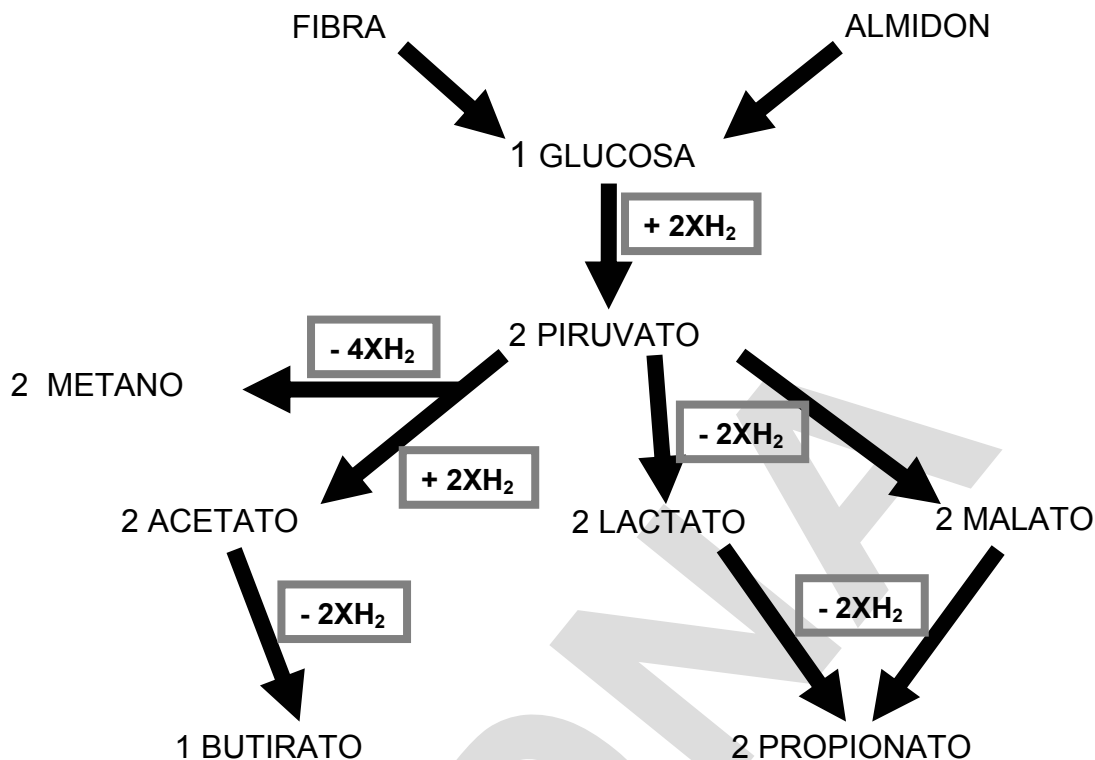
2.- OPORTUNIDADES PARA LA MODULACIÓN DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL

La optimización de la fermentación ruminal debe centrarse en la formulación correcta 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.

2.1.- 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 $NADH_2$. En condiciones normales de funcionamiento, es importante mantener una velocidad de formación y utilización de hidrógenos metabólicos equilibrada, reciclando constantemente el $NADH_2$ 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).

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



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 (Nocek, 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.

2.2.- 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 (*Megaesphaera 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 aminoácidos totales al intestino delgado. Los microorganismos, principalmente los amilolíticos, no solo 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).

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

3.1.- 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, pero 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.

3.1.1.- *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.

3.1.2.- *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 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 conoce 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 proporción elevada de concentrado donde el forraje era fundamentalmente heno de alfalfa. En consecuencia, parece que *A. oryzae* estabiliza el pH y estimula la degradación de la fibra, resultando en un aumento en la ingestión de MS, lo que permite incrementar, como consecuencia directa, la producción de leche.

3.2.- 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 estabiliza 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.

3.3.- Extractos de plantas

Los extractos de plantas son metabolitos secundarios que pueden aportar alternativas al uso de antibióticos en la alimentación animal. Muchos de estos extractos tienen la capacidad de modificar la actividad microbiana, pero la evidencia científica sobre sus efectos en la fermentación ruminal es limitada. La actividad antimicrobiana de los extractos de plantas se atribuye al contenido de una serie de metabolitos secundarios que incluyen, entre otros, a las saponinas, taninos y aceites esenciales (principalmente terpenoides y fenilpropanoides). Sin embargo, la diversidad en su naturaleza y actividades hace que el mundo de los extractos de plantas sea extremadamente complejo. Bajo la definición de extractos de plantas hay muchos con efectos interesantes, sin efectos, e incluso con efectos negativos (Cardozo et al., 2005; Busquet et al., 2004; Castillejos et al., 2005c). Desgraciadamente, cuando un conjunto de sustancias se clasifican bajo un mismo nombre hay margen para la confusión. En los últimos 6 años, se han realizado una serie de trabajos experimentales en esta área, y se ha generado suficiente información científica como para empezar a definir sus actividades, efectos, dosis óptimas y mecanismos de acción.

3.3.1.- Saponinas y sarsaponinas

Las saponinas y sarsaponinas son los componentes principales de varios extractos de plantas, incluyendo la yucca, la quillaja, alfalfa y fenugreco, entre otros. El efecto del extracto de yucca sobre la fermentación ruminal ha sido uno de los más estudiados.

El extracto de yucca contiene dos compuestos activos principales. La sarsaponina esterooidal puede secuestrar físicamente N amoniacal cuando su concentración ruminal es

elevada y liberándolo cuando su concentración se reduce. Sin embargo, Wu et al. (1994) determinaron que a dosis de 6-8 g/d la cantidad de N secuestrado por las sarsaponinas era pequeña (solo 34 μg de N amoniacal a un 90% de saturación). En consecuencia, parece que el efecto principal del extracto de yucca sobre el N amoniacal se atribuye a la fracción saponina.

Las saponinas tienen actividad antiprotozoaria (Wallace et al., 1994; Makkar y Becker, 1997; Wang et al., 1998; Valdez et al., 1986; Klita et al., 1996; Hristov et al., 1999). Las saponinas se unen al colesterol y otros esteroides de la membrana celular de los protozoos causando su inestabilidad, lisis y muerte celular (Williams y Coleman, 1988; Francis et al., 2002). Aunque se han observado efectos antimicrobianos (Wallace et al., 1994), estos efectos son probablemente poco importantes. Los protozoos utilizan a las bacterias como su fuente principal de proteína. Cuando se produce una defaunación, se reduce el reciclado intra-rumen de N bacteriano, disminuye la concentración de N amoniacal (Grobner et al., 1982; Wallace et al., 1994; Sliwinski et al., 2002; Ryan et al., 1997) y aumenta el flujo de proteína microbiana (Makkar et al., 1998). Sin embargo, estos efectos no se han observado siempre (Wilson et al., 1998; Wu et al., 1994; Klita et al., 1996; Wang et al., 1998). El efecto del extracto de yucca sobre la concentración total y el perfil de AGV es poco consistente. Mientras que algunos autores no observaron efectos (Hussain y Cheeke, 1995; Hristov et al., 1999; Klita et al., 1996; Wu et al., 1994; Wang et al., 1998; Cardozo et al., 2004), otros observaron un aumento en la proporción molar de propiónico y, en algunos casos, una reducción de la proporción molar de acetato (Grobner et al., 1982; Ryan et al., 1997; Lila et al., 2003). En cualquier caso, estos efectos sobre el metabolismo energético fueron pequeños y muy variables.

Las respuestas productivas también han sido muy variables. En la mayoría de los casos no se ha observado una mejora en la ingestión de MS en vacuno lechero (Wu et al., 1994; Wilson et al., 1998). La digestibilidad de nutrientes ha mejorado en algunos estudios (Goodall y Matsushima, 1980; Valdez et al., 1986), pero no en otros (Wu et al., 1994). Los estudios de producción son muy escasos, por lo que no es posible establecer conclusiones concretas en este sentido.

La variabilidad de los resultados se debe, en parte, a la variabilidad en las dosis utilizadas (que varían en la literatura entre 40 y 5.800 mg/kg MS) y en la variabilidad en el contenido de saponinas de los extractos utilizados. Además, Cardozo et al. (2005) observaron que el pH del medio afectaba de forma drástica las respuestas.

3.3.2.- Aceites esenciales

Recientemente, los efectos de los aceites esenciales de los extractos de plantas han centrado el interés como posibles aditivos para la modulación de la fermentación ruminal.

Los aceites esenciales son moléculas lipofílicas que tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas debido a su capacidad de interactuar con las membranas citoplasmáticas bacterianas, provocando su inestabilidad y muerte celular (Sikkema et al., 1994; Ultee et al., 1999; Griffin et al., 1999; Dorman y Deans, 2000).

Oh et al. (1967 y 1968) fueron los primeros en observar que los aceites esenciales inhibían la fermentación microbiana ruminal. Borchers (1965) también observó que el timol (el principio activo del orégano) resultaba en la acumulación de aminoácidos y una reducción en la concentración de N amoniacal, lo que sugería que inhibía la desaminación. Broderick y Balthrop (1979) observaron resultados similares. Estos estudios sugirieron que el efecto principal de los aceites esenciales era sobre el metabolismo proteico.

Recientemente, se han publicado trabajos de investigación sobre los efectos de más de 25 extractos de plantas (*Achillea millefolium*, *Arnica chamissonis*, *Betula alba*, *Dactylis glomerata*, *Eucalyptus globules*, *Ginkgo biloba*, *Lavandula officinalis*, *Lespedeza capitata*, *Hyericum perforatum*, *Solidago virgaurea*, *Fagopyrum esculentum*, *Equisetum arvense*, *Salvia officinalis*, *Pimpinella anisum*, *Juniperus oxycedrus*, *Capsicum annum*, *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum*, *Anethum graveolens*, *Trigonella foenum graecum*, *Allium sativa*, *Zingiber officinale*, *Origanum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, y *Azoreum rusticana*) sobre la fermentación ruminal (Broudiscou et al., 2000 y 2002; Mohammed et al., 2004; Cardozo et al., 2004 y 2005; Busquet et al., 2004 y 2005a). Entre estos, *L. officinalis*, *S. virgaurea*, y *A. millefolium* estimularon la fermentación ruminal, y *E. arvense* y *S. officinalis* inhibieron la metanogénesis (Broudiscou et al., 2000 y 2002). *A. rusticana* también inhibió la producción de metano (Mohammed et al., 2004). *C. cassia*, *A. sativa*, y *S. aromaticum* modificaron la producción y el perfil de AGV y/o el metabolismo del N (Cardozo et al., 2004 y 2005; Busquet et al., 2004 y 2005a). Sin embargo, la utilización de extractos de plantas está sujeta a variaciones en el contenido de principios activos debido a la variedad de planta cultivada, las condiciones de cultivo y los métodos de procesado, entre otras. Por ejemplo, Sivropoulou et al. (1996) observaron que la concentración de timol y carvacrol (los principios activos del orégano) oscilaba entre 0,44-31,8% y 0,43-79,6%, respectivamente (cuadro 1).

Cuadro 1.- Contenido en principios activos de los aceites esenciales de tres variedades distintas de orégano (Sivroupoulou et al., 1996).

Componente	Composición del Aceite Esencial (%)		
	<i>O. comercial</i>	<i>O. vulgar ssp. hirtum</i>	<i>O. dictamnus</i>
γ -terpineno	1,32	2,07	11,41
<i>p</i> -cimeno	40,15	8,76	13,49
Timol	31,80	2,45	0,44
Carvacrol	0,43	79,58	62,44

Esta variabilidad hace necesario que los trabajos de investigación y los productos comerciales especifiquen la concentración de los principios activos de los extractos. Alternativamente, la investigación y comercialización de productos puede realizarse con los principios activos para definir actividades, dosis y mecanismos de acción de forma inequívoca.

Recientemente, el uso de una mezcla comercial de aceites esenciales (MCAE) a base de timol, eugenol, vanillina y limoneno, resultó en cambios en el metabolismo proteico ruminal. Aparentemente, esta MCAE reduce la degradación de la proteína, aunque dichos efectos dependen de la fuente de proteína, el tipo de ración y el tiempo de adaptación (Molero et al., 2004; Castillejos et al., 2005ab; McIntosh et al. 2003; Newbold et al., 2004). Aunque la reducción de la degradación de la proteína *in situ* sugiere que la proteólisis se inhibió, los pequeños cambios observados no pueden justificar los cambios en la concentración de N amoniacal en el rumen (McIntosh et al., 2003; Newbold et al., 2004), lo que sugiere que hay otros procesos involucrados. McIntosh et al. (2003) observaron que la MCAE reducía la actividad de un grupo de bacterias hiperproductoras de amoníaco (HAP: *Clostridium sticklandi* y *Peptostreptococcus anaerobius*). Estos cambios eran similares a los observados para la monensina, y pueden tener un impacto sobre la producción. Castillejos et al. (2005ab) observaron recientemente que esta MCAE también afectaba al metabolismo energético incrementando la producción total de AGV y la proporción de acético.

Durante los últimos 6 años, nuestro laboratorio ha estado involucrado en un gran proyecto cuyo objetivo principal era identificar los aceites esenciales y sus principios activos que pueden ser útiles para modificar la fermentación ruminal. El criterio de selección fue la mejora en la eficacia energética (incremento de la proporción de propionato y reducción de la proporción de acetato y metano sin reducir la producción total de AGV); y mejorar la eficacia de la utilización de la proteína (reducción de la proteólisis, peptidólisis o desaminación). Una serie de estudios *in vitro* de corta duración permitieron identificar los extractos potencialmente útiles (Cardozo et al., 2005; Busquet et al., 2004; Castillejos et al., 2005c). Los aceites seleccionados y sus principios activos se estudiaron en cultivos continuos de mayor duración (Cardozo et al., 2004; Busquet et al., 2004, 2005ab; Busquet et al., 2005c; Castillejos et al., 2005c; Cardozo, 2005). Los resultados indicaron que el extracto de ajo, el cinemaldehído (componente activo de la canela), timol (componente activo del aceite de timo y orégano), eugenol (componente activo del clavo), capsaicina (componente activo del pimiento) y el aceite de anís mejoraban la eficacia de utilización ruminal de la energía y la proteína, y se estudiaron en más profundidad. Sus efectos se presentan separadamente por principios activos:

Extracto de ajo

El extracto de ajo tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana (Reuter et al., 1996). En estudios de fermentación *in vitro* con líquido ruminal se ha mostrado de forma constante y repetida que tiene la capacidad de reducir la proporción molar de acetato y de AGV ramificados, y de aumentar las proporciones molares de propionato y butirato (Busquet et al. 2004, y 2005bc) sin afectar a la digestibilidad de nutrientes (cuadro 2).

Cuadro 2.- Efecto de dos dosis de monensina, cinemaldehido y extracto de ajo sobre el perfil de AGV en el rumen (Busquet et al., 2005b).

	Tratamientos ¹							SEM ²
	CTR	MO	MO10	CIN	CIN10	AJO	AJO10	
AGV Totales, mM Indiv., mol/100mol	87,4 ^b	89,7 ^b	104,4 ^a	85,7 ^b	88,0 ^b	93,8 ^{ab}	94,3 ^{ab}	3,28
Acetato	61,2 ^a	60,2 ^{ab}	45,9 ^d	55,8 ^c	57,0 ^{bc}	58,5 ^{abc}	46,8 ^d	0,94
Propionato	20,5 ^d	22,4 ^{cd}	45,1 ^a	24,2 ^{bc}	21,6 ^{cd}	22,6 ^{cd}	27,4 ^b	1,24
Butirato	10,8 ^c	10,3 ^c	4,3 ^d	3,1 ^{bc}	14,3 ^b	11,3 ^{bc}	19,4 ^a	1,47
Isobutirato	1,0 ^a	0,9 ^{bc}	0,6 ^d	0,9 ^a	1,1 ^a	1,0 ^a	0,7 ^{cd}	0,03
Isovalerato	1,8 ^a	1,6 ^{ab}	0,6 ^d	1,4 ^b	1,4 ^{ab}	1,6 ^{ab}	0,9 ^c	0,10
Valerato	4,5 ^a	4,4 ^a	3,3 ^b	4,5 ^a	4,3 ^a	4,8 ^a	4,9 ^a	0,18
AGV-R ³	2,8 ^a	2,5 ^{ab}	1,2 ^c	2,3 ^b	2,5 ^{ab}	2,7 ^{ab}	1,6 ^c	0,14
Acetato:Propionato	3,0 ^a	2,7 ^{ab}	1,0 ^d	2,3 ^b	2,6 ^{ab}	2,6 ^{ab}	1,7 ^c	0,14

¹CTR = control, MO = 1,25 mg/L, monensina, MO10 = 12,5 mg/L, monensina, CIN = 31,2 mg/L, cinemaldehido, CIN10= 312,0 mg/L, cinemaldehido, AJO = 31,2 mg/L, extracto de ajo, AJO10 = 312,0 mg/L, extracto de ajo.

²SEM = error estándar de la media.

³AGV-ramificados, incluye isobutirato y isovalerato.

^{abcd} Medias en la misma columna con letras distintas difieren ($P < 0,05$).

Este perfil de fermentación es distinto al mostrado por la monensina (donde el butirato también se reduce), y es coherente con los cambios observados con los inhibidores de la metanogénesis (Chalupa et al., 1980; Martin y Macy, 1985). El exceso de hidrógenos metabólicos generados por la inhibición directa de la metanogénesis debe incorporarse a otros productos finales de la fermentación como el propiónico y el butirato (Van Nevel y Demeyer, 1988). Con el objetivo de identificar los principios activos del extracto de ajo se estudiaron los efectos de cuatro de sus componentes (alicina, dialil sulfato, dialil disulfato y alil mercaptano) en condiciones *in vitro* (Busquet et al., 2005c). El extracto de ajo resultó en los efectos esperados (reducción de acetato y aumento de propiónico y butirato). Los efectos del dialil disulfato y alil mercaptano fueron similares a los observados para el extracto de ajo, sugiriendo que estos componentes eran los principales responsables de sus

efectos. Por el contrario, la alicina y dialil diltato tuvieron efectos menores. El efecto del extracto de ajo y sus principios activos sobre el metabolismo del N fue variable. Mientras Cardozo et al. (2004) sugirieron que el extracto de ajo afectaba a la peptidolisis y la desaminación, Busquet et al. (2005bc) sugirieron que el extracto de ajo tenía efectos menores sobre el metabolismo del N en el rumen. Busquet et al. (2005bc) sugirieron que los efectos antimetanogénicos del extracto de ajo se debía a un efecto directo sobre las bacterias *Archea* debido a su efecto específico sobre la estabilidad de su membrana.

Cinmaldehido

Cardozo et al. (2004) fueron los primeros en sugerir que dosis bajas de extracto de canela afectaban al metabolismo proteico del rumen mediante la inhibición de la peptidolisis, aunque no afectó al perfil de AGV. Sin embargo, Busquet et al. (2004), en un estudio *in vitro*, observaron que dosis mayores de extracto de canela y cinmaldehido redujeron la concentración total de AGV y N amoniacal. Además, mientras en extracto de canela aumentó la concentración de acetato sin afectar a propionato y butirato, el cinmaldehido aumentó la proporción de propionato y butírico sin afectar al acetato. Estos resultados sugieren que aunque el cinmaldehido es el principal componente activo del aceite de canela, otros componentes presentes en el aceite de canela también tienen efectos. En cualquier caso, quedó demostrado que el cinmaldehido tenía efectos más favorables para modificar el perfil de fermentación.

Busquet et al. (2005a) estudiaron los efectos del cinmaldehido en cultivos continuos de flujo doble y observaron las mismas tendencias (Busquet *et al.*, 2005b). Este perfil de fermentación es coherente con los inhibidores de la metanogénesis (Horton, 1980; Hino y Russell, 1985), lo que permite sugerir que el cinmaldehido es un inhibidor de este proceso. Los efectos del cinmaldehido sobre el metabolismo del N es más variable. Mientras algunos estudios observaron cambios (Cardozo et al., 2004; Busquet et al., 2004) otros no observaron efectos (Busquet et al., 2005ab), aunque parte de estas incoherencias pueden atribuirse a las diferentes dosis utilizadas en los experimentos.

Timol

El timol es el principal componente activo del extracto de orégano, y ha sido el extracto de planta más estudiado en la modificación de la fermentación ruminal. Brochers (1965) fue el primero en incubar caseína en líquido ruminal en presencia de timol, y observó una acumulación de aminoácidos y una reducción del N amoniacal, lo que sugería que el timol era un inhibidor de la desaminación. Broderick y Balthrop (1979) también concluyeron que el timol era un inhibidor de la desaminación. Más recientemente, Evans y Martin (2000) observaron que el timol afectaba al metabolismo energético de *Streptococcus bovis* y *Selenomonas ruminantium*, reduciendo la concentración de metano y

lactato, aunque a dosis elevadas resultó en una inhibición general de la fermentación ruminal y la digestión de nutrientes. En un estudio dosis-respuesta *in vitro*, Castillejos (2005) observó que 50 mg/L de timol no tenían efectos sobre la fermentación ruminal, pero que a 500 mg/L sus efectos eran tóxicos para los microorganismos ruminales, resultando en una reducción en la concentración total de AGV y de N amoniacal y en la relación acetato:propionato. Resultados similares se observaron a las mismas concentraciones cuando el experimento se replicó en cultivos continuos de flujo doble durante 8 días de fermentación. Estos resultados indican que el timol tiene un fuerte efecto antimicrobiano, que a dosis óptimas puede ser útil, pero su margen de seguridad es relativamente estrecho (Castillejos et al., 2005c).

Eugenol

El eugenol es un compuesto fenólico con actividad antimicrobiana frente a gram-positivos y negativos, y es el componente activo principal del clavo (85% de eugenol; Davidson y Naidu, 2000). En un estudio de cultivo continuo, una dosis baja de extracto de clavo (2,2 mg/L) resultó en una reducción en la proporción molar de acetato y de AGV-ramificados, y en un aumento en la proporción molar de propionato (Busquet et al., 2005a). El extracto de clavo aumentó la concentración de N peptídico y redujo numéricamente la concentración de N aminoácidos, sugiriendo que su efectos sobre el metabolismo nitrogenado se centraba en la inhibición de la peptidolisis. En un estudio de dosis-respuesta, Busquet et al. (2004) confirmaron que el extracto de clavo afectó tanto al metabolismo proteico como al energético, reduciendo la concentración de AGV totales y del N amoniacal, así como aumentando la proporción molar de propionato y butirato y reduciendo la de acetato. El eugenol tuvo efectos muy parecidos, excepto con el acetato, que su proporción no se vio afectada por el tratamiento. Este perfil de fermentación indica que, a dosis óptimas, la eficacia de utilización de la energía mejoró. El beneficio potencial del eugenol sobre la fermentación ruminal fue estudiado en más profundidad por Castillejos (2005). Los datos demostraron que en una ración 60:40 forraje:concentrado, el eugenol redujo la concentración de N amoniacal y AGV-ramificados, lo que sugiere una inhibición de la desaminación de AA. Los efectos sobre el metabolismo energéticos fueron más variables, aunque con las mismas tendencias positivas observadas anteriormente.

Cinmaldehido y eugenol

Recientemente se ha comercializado un producto a base de cinmaldehido y eugenol para su utilización en vacuno lechero. La combinación tiene como objetivo mejorar el metabolismo energético (principalmente debido al cinmaldehido) y proteico (fundamentalmente debido al eugenol). Su administración a vacas lecheras resulta en las respuestas esperadas, con una reducción en la concentración ruminal de N amoniacal, acetato y de la relación acetato:propionato, y un aumento en la proporción molar de

propiónico (Bach et al., 2005). En un trabajo preliminar realizado en vacas en producción, la administración de cinemaldehído resultó en una reducción de la ingestión de MS del concentrado (administrado en la sala de ordeño) pero la producción de leche aumentó en 1 L/d, aunque las diferencias no fueron significativas. Estos datos sugieren que el cinemaldehído respondió a los cambios esperados en el perfil de fermentación y se correspondió con un aumento no significativo de la producción, pero su utilización en condiciones comerciales requiriere su encapsulación para evitar los efectos negativos de una palatabilidad reducida (Busquet et al., 2003).

A forma de resumen, muchos aceites esenciales y componentes activos tienen una actividad antimicrobiana reconocida. En la mayor parte de los casos, dosis por encima de 500 mg/L tienen efectos negativos (Cardozo et al., 2005; Busquet et al., 2004; Castillejos, 2005). Pero a dosis moderadas, algunos aceites esenciales y sus principios activos pueden mejorar la eficiencia de utilización de energía y proteína en el rumen, mejorando el rendimiento productivo de los animales. Entre ellos, el extracto de ajo (aunque su manejo en condiciones prácticas y a las dosis óptimas es difícil), el cinemaldehído y el eugenol parecen ser opciones viables para modular la fermentación ruminal y mejorar la eficacia productiva. Sin embargo, es necesario confirmar dichos efectos en estudios de lactación.

3.4.- Anticuerpos específicos frente a microorganismos ruminales

Una nueva aproximación a la modificación de la fermentación ruminal es la utilización de anticuerpos frente a grupos bacterianos específicos (Shu et al., 1999). El sistema se basa en la vacunación frente a grupos bacterianos específicos del rumen. La administración del antígeno genera anticuerpos que alcanzan el rumen mediante la saliva, llegando a neutralizar dicha población bacteriana. Bajo estos principios, desarrollaron una vacuna frente a cepas de *S. bovis* y *Lactobacillus*, dos grupos bacterianos involucrados directamente en la producción de láctico a nivel ruminal. En este caso, el objetivo era controlar el riesgo de acidosis. La vacuna se administró intramuscularmente y consistió en una primera vacunación y dosis de recuerdo cada 2-4 semanas. El nivel de inmunoglobulinas aumentó de forma sustancial tanto en la sangre como en la saliva, y alcanzó el máximo a partir de la cuarta dosis recordatoria (figura 3).

La concentración de ácido láctico y el contaje de células de *S. bovis* y *Lactobacillus* se redujeron sustancialmente en los animales inmunizados (figura 4). Estudios posteriores confirmaron los efectos en ganado de engorde (Shu et al., 2000a) y en ovejas (Shu et al., 2000b). El mismo principio puede aplicarse mediante la utilización de anticuerpos monoclonales. Dahlen et al. (2004) utilizaron huevos de gallinas inmunizadas frente a *S. bovis* y *Fusobacterium necrophorum* para reducir la incidencia de acidosis y abscesos hepáticos. Los resultados relacionados con la reducción de la concentración de ácido láctico, contaje de bacterias y control del pH ruminal demostraron que esta estrategia

podría ofrecer una alternativa futura de interés (DiLorenzo et al., 2005a y 2005b). Además, esta estrategia abre la puerta al desarrollo de nuevos anticuerpos que permitan modular con mucha precisión la fermentación ruminal. Es posible, a partir de estos datos, especular sobre la posibilidad de modificar el metabolismo energético, proteico y de los ácidos grasos.

Figure 3.- Concentración de anticuerpos en saliva de animales control o inmunizados frente a *S. bovis* (□ = control; ■ = inmunizado) y *Lactobacillus* (○ = control; ● = inmunizado) (Shu et al., 1999)

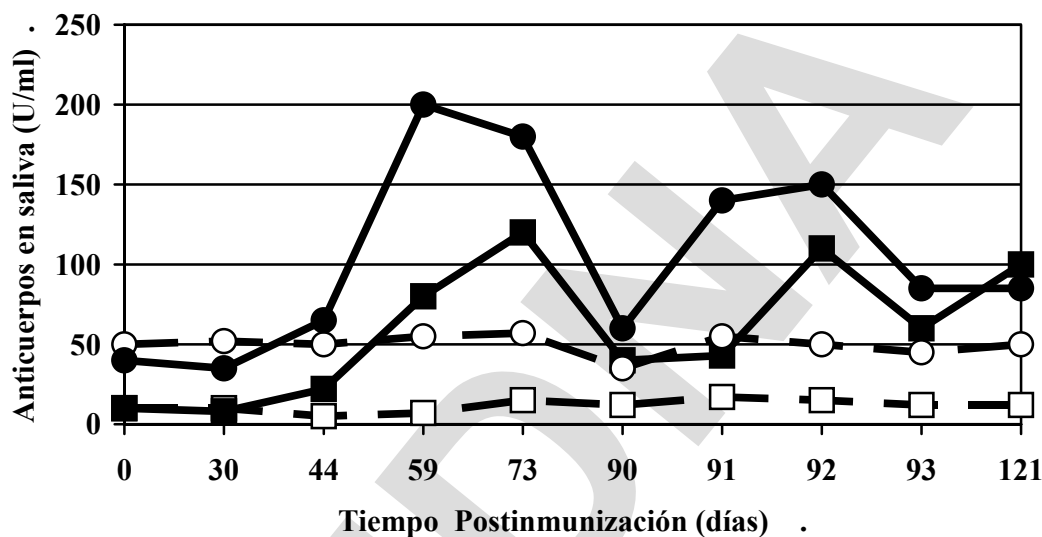
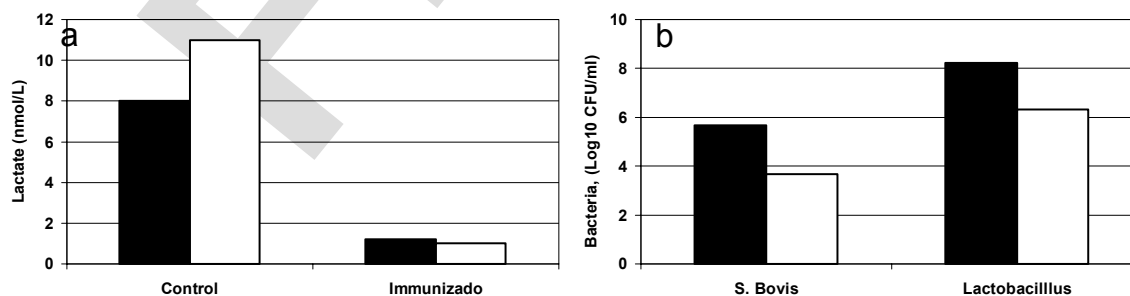


Figure 4.- a) Concentración de D-Lactato (■) y L-Lactato (□) en vacas control vs. inmunizadas frente a *S. bovis* y *Lactobacillus*; b) Contaje de *S. bovis* y *Lactobacillus* en control (■) y vacas inmunizadas (□) 92 días después de la inmunización (Shu et al., 1999)



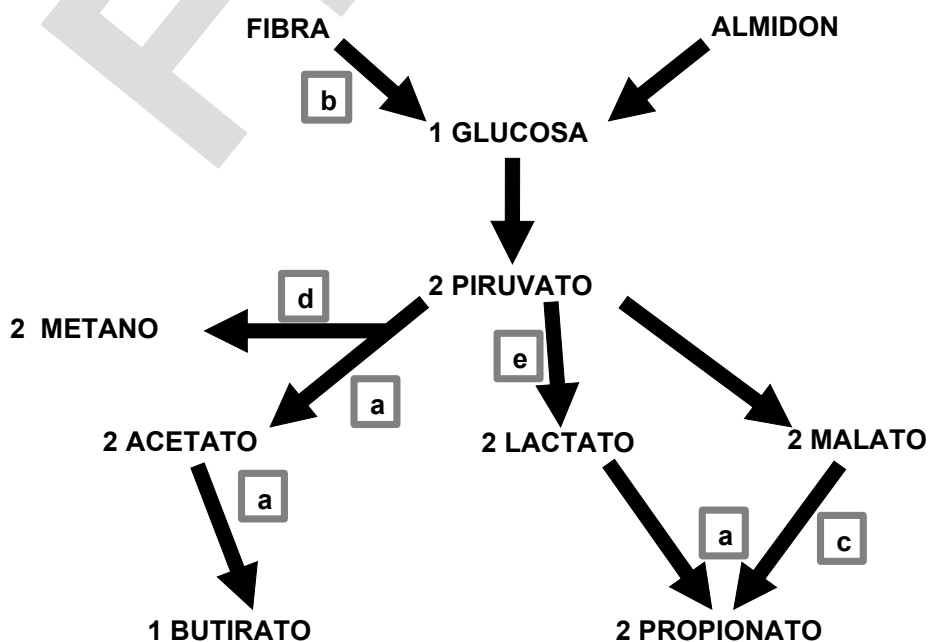
4.- INTEGRANDO LOS EFECTOS DE ADITIVOS RUMINALES: SINERGIAS Y OPORTUNIDADES

A partir de la discusión anterior, parece obvio que un aditivo universal que modifique la fermentación ruminal para optimizar la eficiencia de utilización de la energía

y la proteína no existe, en parte porque sus efectos dependen del pH y del tipo de ración (Yoon y Stern, 1995; Carro et al., 1992; Castillejos et al., 2005a; Castillejos, 2005; Cardozo et al., 2005). Ello es razonable si asumimos que ni las poblaciones microbianas en dichas condiciones (dietas forrajeras vs. dietas concentradas, pH alto vs pH bajo,...), ni los objetivos de la manipulación (vacuno de leche vs vacuno de carne) son iguales.

En base a los mecanismos de acción de los aditivos sobre el metabolismo energético y proteico en el rumen, es posible identificar posibles sinergias. En el lado de la energía, los ionóforos pueden clasificarse como inhibidores de la producción de acetato, butirato y lactato, y productores de propionato (figura 5, a). El mecanismo de acción de los aditivos microbianos es completamente distinto; en general, e independientemente del mecanismo de acción de los diferentes productos, todos ellos incrementan la degradación de la fibra (figura 5, b), lo que estimula la ingestión de alimentos y el aporte de energía, mejorando la producción sin mejorar la eficiencia de utilización de nutrientes. Los ácidos orgánicos, por el contrario, parecen tener un mecanismo de acción diferente, ya que estimulan el crecimiento de las bacterias utilizadoras de ácido láctico. Como resultado, el pH ruminal aumenta y se reduce el riesgo de acidosis (figura 5, c). El mayor pH ruminal puede estabilizar la fermentación ruminal y mejorar la degradación de nutrientes y la producción. Los extractos de plantas en general, y los aceites esenciales en particular, son un grupo de sustancias que no se pueden clasificar en un mecanismo de acción único. Sin embargo, al menos algunos de ellos parecen mejorar la eficiencia de utilización de nutrientes mediante la inhibición de la metanogénesis (i.e., como el extracto de ajo y el cinemaldehído).

Figura 5.- Objetivos de los aditivos en el metabolismo energético ruminal (a = monensina; b = aditivos microbianos; c = ácidos orgánicos; d = extractos de planta; e = inmunización/anticuerpos).



En estas condiciones, los hidrógenos metabólicos no utilizados para la producción de metano deben desviarse a otros aceptores finales, como el propionato y butirato. A través de este mecanismo, la eficiencia de utilización de la energía mejora debido a la reducción de las pérdidas de metano (figura 5, d). Finalmente, el uso de anticuerpos policlonales puede permitir controlar procesos concretos, y en la actualidad permite reducir la producción de ácido láctico y el riesgo de acidosis (figura 5, e). Este mecanismo de acción es complementario a la actividad de los ácidos orgánicos que estimulan la utilización de ácido láctico y pueden contribuir a incrementar el pH ruminal y el control del riesgo de acidosis.

En el metabolismo proteico, la degradación de proteína puede modularse en varias reacciones metabólicas. Tradicionalmente, la degradación de la proteína se ha reducido a través del tratamiento físico o químico de los alimentos. Sin embargo, la monensina mejora la utilización de la proteína mediante la inhibición de la desaminación. La defaunación puede mejorar la eficiencia de utilización del N a través de la reducción del reciclaje de N bacteriano en el rumen. En este sentido, las saponinas juegan un papel importante. Algunos extractos de plantas también han demostrado un fuerte efecto inhibitorio de la peptidólisis y la desaminación (i.e., Wallace et al., 2002; Newbold et al., 2004; Cardozo et al., 2004). La selección y combinación de varios de estos aditivos puede permitir aprovechar sinergias y modular la fermentación ruminal en favor de la optimización de la utilización de energía y proteína.

5.- CONCLUSIONES

Esta revisión debe permitir seleccionar, en base a los mecanismos de acción, qué aditivos pueden tener actividades sinérgicas en favor de una mejora en la utilización de nutrientes en el rumen. Pero el aditivo mágico no existe, ya que dependerá de las condiciones de fermentación y de los objetivos particulares en cada caso. Para ello, es esencial definir dichos objetivos con claridad y seleccionar los aditivos que nos permitan alcanzar los objetivos. Finalmente, cualquier efecto sobre la fermentación ruminal sólo se justifica si se traduce en mejoras productivas y el precio es razonable como para hacer su uso rentable. Desgraciadamente, el número de trabajos en los que se estudian los efectos productivos es aún limitado, por lo que a veces se hace difícil tomar decisiones. En este sentido, es esencial desarrollar más trabajos experimentales en condiciones productivas.

6.- REFERENCIAS

ANKRI, S. y MIRELMAN, D. (1999) *Micr. and Infect.* 2: 125-129.

- ASANUMA, N., IWAMOTO, M. y HINO, T. (1999) *J. Dairy Sci.* 82: 780-787.
- BEHARKA, A.A., NAGARAJA, T.G. y MORRILL, J.L. (1991) *J. Dairy Sci.* 74: 4326-4336.
- BEHARKA, A.A. y NAGARAJA T.G. (1993) *J. Dairy Sci.* 76: 812-818.
- BEHARKA, A.A., NAGARAJA, T.G., MORRILL, J.L., KENNEDY, G.A. y KLEMM, R.D. (1998) *J. Dairy Sci.* 81: 1946-1955.
- BERGEN, W.G. y BATES, D.B. (1984). *J. Anim. Sci.* 58: 1465-1483.
- BLADEN, H.A., BRYANT, M.P. y DOETSCH, R.N. (1961) *Appl. Microbiol.* 9: 175-180.
- BORCHERS, R. 1965. *J. Anim. Sci.* 24: 1033-1038.
- BRODERICK, G.A. y BALTHROP, J.E. (1979) *J. Anim. Sci.* 49: 1101-1111.
- BRODERICK, G.A., WALLACE, R.J. Y ØRSKOV, E.R. (1991) In: *Physiology Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants: Proceedings of the Several International Symposium on Ruminant Physiology*. T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). Academic Press, NY.
- BROUDISCOU, L.P., PAPON, Y. y BROUDISCOU, A.F. (2000) *Anim. Feed Sci. Technol.* 87: 263-277.
- BROUDISCOU, L.P., PAPON, Y. y BROUDISCOU, A.F. (2002) *Anim. Feed Sci. Technol.* 101: 183-189.
- BUSQUET, M., GREATHEAD, H., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2003) *ITEA 24* (Vol Extra): 756-758.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2004) *J. Dairy Sci.* 87 (Suppl. 1): 213.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2005a) *Anim. Feed Sci. Technol.* (In press).
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2005b) *J. Dairy Sci.* 88: 2508-2516.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., CARRO, M.D. y KAMEL, C. (2005c) *J. Dairy Sci.* 88 (In press).
- CALIXTO, J.B., BEIRITH, A., FERREIRA, J., SANTOS, A.R.S., FILHO, V.C. y YUNES, R.A. (2000) *Phytother. Res.* 14: 401-418.
- CALLAWAY, T. R., y MARTIN, S. A. (1996) *J. Anim. Sci.* 74: 1982-1989.
- CALLAWAY, E.S., y MARTIN, S. A. (1997) *J. Dairy Sci.* 80: 2035-2044.
- CARDOZO, P.W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2004) *J. Anim. Sci.* 82: 3230-3236.
- CARDOZO, P.W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y KAMEL, C. (2005) *J. Anim. Sci.* (In press).
- CARDOZO, P.W. (2005) *PhD Thesis*, Universidad Autónoma de Barcelona, Spain.
- CARRO, M.D., LEBZIEN, P. y ROHR, K. (1992) *Anim. Feed Sci. Technol.* 37: 209-220.
- CARRO, M., LÓPEZ, S., VALDÉS, C. y OVEJERO, F. (1999) *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.
- CARRO, M.D. y RANILLA, M.J. (2002) *Albéitar* 56: 46-49.

- CASTILLEJOS, L. (2005) *PhD thesis*, Universidad Autonoma de Barcelona, Spain.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y LOSA, R. (2005a) *Anim. Feed Sci. Technol.* 119: 29-41.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y LOSA, R. (2005b) *J. Anim. Sci.* 83 (Suppl. 1): W227.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., y FERRET, A. (2005c). *J. Anim. Sci.* 83 (Suppl. 1): W190
- CATON, J.S., ERICKSON, D.O., CAREY, D.A. y ULMER, D.L. (1993) *J. Anim. Sci.* 71: 779-787.
- CHALUPA, W., CORBETT, W. y BRETHOUR, J.R. (1980) *J. Anim. Sci.* 51: 170-179.
- CHAUCHEYRAS, F., FONTY, G. BERTIN, G. y GOUET, P. (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 3466-3467.
- CHAUCHEYRAS, F., FONTY, G., BERTIN, G., SALMON, J.M. y GOUET P. (1996) *Canadian Journal of Microbiology* 42: 927-933.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F. y FONTY, G. (2001) *Reprod. Nutr. Develop.* 41: 57-68.
- COUNOTTE, G.H.M., PRINS, R.A., JANSSEN, R.H.A.M. y DEBIE, M.J.A. (1981) *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 649-655.
- DAHLEN, C.R., DILORENZO, N., DICOSTANZO, A., LAMB, G.C. y SMITH, L.J. (2004) *J. Anim. Sci.* 82 (Suppl. 1): 270.
- DAVIDSON, P.M. y NAIDU, A.S. (2000) In: *Natural Food Antimicrobial Systems*. A.S. Naidu (Ed.). CRC Press LLC. Boca Raton, FL. pp 265-293.
- DAWSON, K.A., NEWMAN, K.E. y BOLING, J.A. (1990) *J. Anim. Sci.* 68: 3392-3398.
- DE ROSA, M., GAMBACORTA, A. y GLIOZZI, A. (1986) *Microbiol. Rev.* 50: 70-80.
- DILORENZO, N., GILL, R.K., DIEZ-GONZALEZ, F., LARSON, J.E. y DICOSTANZO, A. (2005a) *J. Anim. Sci.* 83 (Suppl. 1): M172.
- DILORENZO, N., DAHLEN, C.R., DICOSTANZO, A. y LAMB, G.C. (2005b) *J. Anim. Sci.* 83 (Suppl. 1): 617.
- DOREAU, M. y JOUANY, J.P. (1998) *J. Dairy Sci.* 81: 3214-3221.
- DORMAN, H.J.D. y DEANS S.G. (2000) *J. Appl. Microbiol.* 88: 308-316.
- EVANS, J.D. y MARTIN, S.A. (2000) *Curr. Microbiol.* 41: 336-340.
- FRANCIS, G., KEREM, Z., MAKKAR, H.P.S. y BECKER, K. (2002). *Br. J. Nutr.* 88: 587-605.
- GARCIA-LOPEZ, P.M., KUNG, L.J. y ODOM, J.M. (1996) *J. Anim. Sci.* 74: 2276-2284.
- GEBHARDT, R. y BECK, H. (1996) *Lipids* 31: 1269-1276.
- GOETSCH, A.L. y OWENS, F.N. (1985) *J. Dairy Sci.* 68: 2377-2382.
- GOODALL, S.R. y MATSUSHIMA, J. K. (1980) *J. Anim. Sci.* 51(suppl. 1): 363.
- GOODALL, S.R., BRADY, P., HORTON, D. y BECKNER, B. (1982) *Proc. of the Western Section of the Society of Animal Science* 33: 45-48.
- GRIFFIN, S.G., WYLLIE, S.G., MARKHAM, J.L. y LEACH, D.N. (1999) *Flav. Frag. J.* 14: 322-332.

- GROBNER, M.A., JOHNSON, D.E., GOODALL, S.R. y BENZ, D.A. (1982) *J. Anim. Sci.* (West. Sec. Proc.) 33: 64-66.
- GUSTAFSON, R.H. y BOWEN, R.E. (1997) *J. Appl. Microbiol.* 83: 531-541.
- HELANDER, I.M., ALAKOMI, H., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E.J., GORRIS, L.G.M. y WRIGHT, A. (1998) *J. Agric. Food Chem.* 46: 3590-3595.
- HINO, T. y RUSSELL, J.B. (1985) *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 1368-1374.
- HORTON, G.M.J. (1980) *J. Anim. Sci.* 50: 1160-1164.
- HRISTOV, A.N., MCALLISTER, T.A., VAN HERK, F.H., CHENG, K.J., NEWBOLD, C.J. y CHEEKE, P.R. (1999) *J. Anim. Sci.* 77: 2554-2563.
- HUSSAIN, I. y CHEEKE, P.R. (1995) *Anim. Feed Sci. Technol.* 51: 231-242.
- JUVEN, B.J., KANNER, J., SCHVED, F. y WEISSLOWICZ, H. (1994) *J. Appl. Bacteriol.* 76: 626-631.
- KLITA, P.T., MATHISON, G.W., FENTON, T.W. y HARDIN, R.T. (1996) *J. Anim. Sci.* 74: 1144-1156.
- KUNG JR., L., HUBER, J.T., KRUMMREY, J.D., ALLISON, L. y COOK, R.M. (1982) *J. Dairy Sci.* 65: 1170-1174.
- KUNG JR., L., KRECK, E.M., TUNG, R.S., HESSION, A.O., SHEPERD, A.C., COHEN, M.A., SWAIN, H.E. y LEEDLE, J.A.Z. (1997) *J. Dairy Sci.* 80: 2045-2051.
- KUNG, L. JR., SMITH, K.A., SMAGALA, A.M., ENDRESS, K.M., BESSETT, C.A., RANJIT, N.K. y YAISSE, J. (2003) *J. Anim. Sci.* 81: 323-328.
- LAWSON, L. 1996. pp 37-107. In *Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*. H. P. Koch and L. D. Lawson (Eds.). Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- LILA, Z.A., MOHAMMED, N., KANDA, S., KAMADA, T. y ITABASHI, H. (2003) *J. Dairy Sci.* 86: 3330-3336.
- LILA, Z.A., MOHAMMED, N., YASUI, T., KUROKAWA, Y., KANDA, S. y ITABASHI, H. (2004) *J. Anim. Sci.* 82: 1847-1854.
- LINEHAN, B., SCHEIFINGER, C.C. y WOLIN, M.J. (1978) *Appl. Environ. Microbiol.* 35: 317-322.
- LÓPEZ, S., VALDÉS, C., NEWBOLD, J.C. y WALLACE, R.J. (1999) *Br. J. Nutr.* 81: 59-64.
- LOWE, L.B., BALL, G.J., CARRUTHERS, V.R., DOBOS, R.C., LYNCH, G.A., MOATE, P.J., POOLE, P.R. y VALENTINE, S.C. (1991) *Aust. Vet. J.* 68: 17-20.
- MAKKAR, H.P.S. y BECKER, K. (1997) *Let. Appl. Microbiol.* 25: 243-245.
- MAKKAR, H.P.S., SEN, S., BLÜMMEL, M. y BECKER, K. (1998) *J. Agric. Food Chem.* 46: 4324-4328.
- MARTIN, S.A. y MACY, J.M. (1985) *J. Anim. Sci.* 60: 544-550.
- MARTIN, S.A. y NISBET, D.J. (1990) *J. Anim. Sci.* 68: 2142-2149.
- MARTIN, S.A. y NISBET, D.J. (1992). *J. Dairy Sci.* 75: 1736-1744.
- MARTIN, S.A. y STREETER, M.N. (1995). *J. Anim. Sci.* 73: 2141-2145.

- MARTIN, S.A., STREETER, M.N., NISBET, D.J., HILL, G.M. y WILLIAMS S.E. (1999). *J. Anim. Sci.* 77: 1008-1015.
- MCGUFFEY, R.K., RICHARDSON, L.F. y WILKINSON, J.I.D. (2001) *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.): E194-E203.
- MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., BEEVER, D.A. y NEWBOLD, C.J. (2003) *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5011-5014.
- MILLER, T.L. y WOLIN, M.J. (2001) *J. Dairy Sci.* 84: 1445-1448.
- MOHAMMED, N., AJISAKA, N., LILA, Z.A., MIKUNI, K., HARA, K., KANDA, S. y ITABASHI, H. (2004) *J. Anim. Sci.* 82: 1839-1846.
- MOLERO, R., IBARS, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. y LOSA, R. (2004) *Anim. Feed Sci. Technol.* 114: 91-104.
- MONTAÑO, M.F., CHAI, W., ZINN-WARE, T.E. y ZINN, R.A. (1999) *J. Anim. Sci.* 77: 780-784.
- NAGARAJA, T.G., AVERY, T.B., BARTLEY, E.E., ROOF, S.K. y DAYTON, A.D. (1982) *J. Anim. Sci.* 54: 649-658.
- NEWBOLD, C.J., WALLACE, R.J., CHEN, X.B., y MCINTOSH, F.M. (1995) *J. Anim. Sci.*, 73: 1811-1818.
- NEWBOLD, C.J., WALLACE, R.J. y MCINTOSH, F.M. (1996). *Br. J. Nutr.* 76: 249-261.
- NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R. y WALLACE, R.J. (2004) *Anim. Feed Sci. Technol.* 114: 105-112.
- NIKAIDO, H. (1994) *Science* 264: 382-388.
- NISBET, D.J. y MARTIN, S.A. (1990) *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3515-3518.
- NISBET, D.J. y MARTIN, S.A. (1991) *J. Anim. Sci.* 69: 4628-4633.
- NISBET, D.J. y MARTIN, S.A. (1993) *Curr. Microbiol.* 26: 133-136.
- NOCEK, J.E. (1997) *J. Dairy Sci.* 80: 1005-1028.
- OELLERMANN, S.O., ARAMBEL, M.J., KENT, B.A. y WALTERS, J.L. (1990) *J. Dairy Sci.* 73: 2413-2416.
- OH, H.K., SAKAI, T., JONES, M.B. y LONGHURST, W.M. (1967) *Appl. Microbiol.* 15: 777-784.
- OH, H.K., JONES, M.B. y LONGHURST, W.M. (1968) *Appl. Microbiol.* 16: 39-44.
- PLATA, P.F., MENDOZA, M.G.D., BARCENA, G.J.R. y GONZALEZ, M.S. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49: 203-210.
- REUTER, H.D., KOCH, J.P. y LAWSON, L. (1996) In: *Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*. H.P. Koch y L.D. Lawson (Eds.). Williams & Wilkins, Baltimore, MD. pp: 135-212.
- RICHARDSON, L.F., RAUN, A.P., POTTER, E.L., COOLEY, C.O. y RATHMACHER, R.P. (1976) *J. Anim. Sci.* 43: 657-664.
- RUSSELL, J.B. y SNIFFEN, C.J. (1984) *J. Dairy Sci.* 67: 987.
- RUSSELL, J.B. y HINO, T. (1985) *J. Dairy Sci.* 68: 1712-1721.
- RUSSELL, J.B. y STROBEL, H.J. (1988) *J. Anim. Sci.* 66: 552-558.
- RUSSELL, J.B., STROBEL, H.J. y CHEN, G. (1988) *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1-6.

- RYAN, J.P., QUINN, T. y LEEK, B.L. (1997) *J. Dairy Sci.* 81: 3222-3230.
- SHU, Q., GILL, H.S., HENNESSY, D.W., LENG, R.A., BIRD, S.H. y ROWE, J.B. (1999) *Res. Vet. Sci.* 67: 65-71.
- SHU, Q., HILLARD, M.A., BINDON, B.M., DUAN, E., XU, Y., BIRD, S.H., ROWE, J.B., ODDY, V.H. y GILL, H.S. (2000a) *Am. J. Vet. Res.* 61: 839-843.
- SHU, Q., GILL, H.S., LENG, R.A. y ROWE, J.B. (2000b) *Vet. J.* 159: 262-269.
- SIKKEMA, J., BONT, J.A.M. y POOLMAN, B. (1994) *J. Biol. Chem.* 269: 8022-8028.
- SIVROPOULOU, A., PAPANIKOLAOU, E., NIKOLAOU, C., KOKKINI, S., LANARAS, T. y ARSENAKIS, M. (1996) *J. Agric. Food Chem.* 44: 1202-1205.
- SKANDAMIS, P.N. y NYCHAS, G.E. (2000) *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1646-1653.
- SLIWINSKI, B. J., SOLIVA, C. R., MACHMÜLLER, A. y KREUZER, M. (2002) *Anim. Feed Sci. Technol.* 101: 101-114.
- STEWART, C.S. y BRYANT, M.P. (1988) In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Science Publishers LTD, Essex. UK.
- TAMMINGA, S. (1996) *J. Anim. Sci.* 74: 3112-3124.
- ULTEE, A., KETS, E.P. y SMID, E.J. (1999) *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4606-4610.
- ULTEE, A., BENNIK, M.H.J. y MOEZELAAR, R. (2002) *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1561-1568.
- VALDEZ, F.R., BUSH, L.J., GOETSCH, A.L. y OWENS, F.N. (1986) *J. Dairy Sci.* 69: 1568-1575.
- VAN NEVEL, C.J. y DEMEYER, D.I. (1988). In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 387-443.
- WALDRIP, H.M. y MARTIN, S.A. (1993) *J. Anim. Sci.* 71: 2770-2776.
- WALLACE, R.J., ARTHAUD, L. y NEWBOLD, C.J. (1994) *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1762-1767.
- WALLACE, R.J. (1996) *Journal of Nutrition* 126: 1326S-1334S.
- WALLACE, R.J. y COTTA, M.A. (1988) In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 217-249.
- WALLACE, R.J., MCEWAN, N.R., MCINTOSH, F.M., TEFEREDEGNE, B. y NEWBOLD, C.J. (2002) *Asian-Australian J. Anim. Sci.* 10: 1458-1468.
- WANG, Y., MCALLISTER, T.A., NEWBOLD, C.J., RODE, L.M., CHEEKE, P.R. y CHENG, K.J. (1998) *Anim. Feed Sci. Technol.* 74: 143-153.
- WEIMER, P. J. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 3114-3122.
- WELCH, R.P., TSAI, K-P., HARPER, E.G., CHANG, J.S., y CALZA, R.E. (1996) *Appl. Microbiol. Biotech.* 45: 811-816.
- WENDAKOON, C.N. y SAKAGUCHI, M. (1995) *J. Food Protec.* 58: 280-283.
- WILLIAMS, A.G. y COLEMAN, G.S. (1988) In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 77-128.
- WILSON, R. C., OVERTON, T.R. y CLARK, J.H. (1998) *J. Dairy Sci.* 81: 1022-1027.
- WOLIN, M.J. y MILLER, T.L. (1988) In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 343-359.

- WU, Z., SADIK, M., SLEIMAN, F.T., SIMAS, J.M., PESSARAKLI, M. y HUBER, J.T. (1994) *J. Anim. Sci.* 72: 1038-1042.
- YOON, I.K. y STERN, M.D. (1995) *Asian-Australian J. Anim. Sci.* 8: 533-555.
- ZAFRA, M.A., MOLINA, F. y PUERTO, A. (2003) *Auton. Neurosci.: Bas. Clin.* 107: 37-44.

FEDNA