

Enzimas como aditivos en la alimentación de los rumiantes

MARÍA DOLORES CARRO. MARÍA JOSÉ RANILLA. DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL I. UNIVERSIDAD DE LEÓN.



Los complejos enzimáticos se utilizan frecuentemente como aditivos en los piensos de los animales monogástricos con diferentes fines, como son eliminar factores antinutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de los nutrientes contenidos en los mismos, complementar la actividad de las enzimas endógenas de los animales, e incluso reducir la excreción de ciertos compuestos (p.e., fósforo y nitrógeno) que contaminan el medio ambiente (Bedford, 2000).

Asimismo, las preparaciones enzimáticas se añaden con frecuencia a los forrajes que posteriormente van a ser ensilados. En este caso, las enzimas actúan sobre los hidratos de carbono estructurales de la pared celular de los forrajes e inician su degradación, de tal forma que se liberan azúcares solubles. Durante el proceso de ensilado, estos azúcares son fermentados por microorganismos que producen ácido láctico, lo que ocasiona un descenso del pH y una mejor conservación durante el almacenamiento del ensilado.

En el caso de los animales rumiantes, no sólo no se utilizan enzimas como aditivos de forma habitual en sus raciones, sino que no existe mucha información sobre sus mecanismos de acción y las condiciones productivas en las que éstas pueden ser efectivas. En los años 60 se llevaron a cabo algunos experimentos que investigaron el uso de enzimas en las raciones de estos animales (Burroughs et al., 1960; Rovies and Ely, 1962), pero los resultados obtenidos fueron variables y no se continuó la investigación para analizar el modo de acción de estos productos.

Por otra parte, la producción de preparados enzimáticos comerciales resultaba muy cara y utilizarlos en las concentracio-

nes necesarias para provocar una respuesta positiva en la productividad animal no era económicamente rentable. En los últimos años se han reducido considerablemente los costes de producción de estas sustancias, y ello, unido a los avances producidos en la identificación y caracterización de estos productos, ha hecho que los investigadores se replanteen la posibilidad utilizar enzimas como aditivos en la alimentación de los animales rumiantes (McAllister et al., 2001).

Por otro lado, en la opinión pública existe una tendencia generalizada al rechazo de todo lo que no sea "natural". Las últimas crisis provocadas por las "vacas locas" y las dioxinas han sensibilizado a los consumidores europeos con el mensaje de que la seguridad de los alimentos de origen animal empieza por la seguridad de los alimentos para los animales, incluidos los aditivos. En este sentido, las enzimas son sustancias seguras, ya que no dejan residuos en los alimentos animales que serán consumidos por el hombre (Beauchemin et al., 2000).

Uno de los problemas que presenta la utilización de enzimas en la alimentación de los rumiantes es que los preparados enzimáticos comerciales que se han usado en algunos experimentos no han sufrido una caracterización previa, ni se conoce su estabilidad en el medio ruminal, aunque también es cierto que en los últimos años se han realizado algunos estudios sobre estos aspectos (Hristov et al., 1998a; Colombatto et al., 2000). Además, la actividad fibrolítica del medio ruminal es normalmente muy alta, y por ello tradicionalmente se ha asumido que no puede ser aumentada de forma significativa.

Asimismo, también se ha asumido que debido a que las enzimas son proteínas solubles, no podrían resistir la acción proteolítica de los microorganismos ruminales. Sin embargo, algunos

estudios recientes (Rode et al., 1999; Hristov et al., 2000) demuestran que ambas premisas pueden ser erróneas.

Por todas estas razones, la información existente sobre los mecanismos de acción de las enzimas y sus efectos sobre los procesos digestivos y productivos de los animales rumiantes es escasa. En este trabajo se recogen los aspectos más importantes de la información disponible hasta el momento, y se discuten los mecanismos posibles a través de los cuales estos productos pueden mejorar la utilización de los alimentos por los animales rumiantes.

¿Qué son los preparados enzimáticos?

Aunque los preparados enzimáticos comerciales que pueden ser usados como aditivos en la alimentación de los animales son muy numerosos, la amplia mayoría de ellos proceden de cuatro especies bacterianas (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus faecium*) y tres especies fúngicas (*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* y *Saccharomyces cerevisiae*; Muirhead, 1996).

Las enzimas son producidas por las células vivas para catalizar diferentes reacciones bioquímicas. En el caso de las enzimas utilizadas como aditivos en la alimentación de los rumiantes, éstas catalizan reacciones degradativas, mediante las cuales los sustratos (p.e. alimentos) son digeridos hasta sus componentes químicos (p.e. azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, etc.). Estos componentes químicos son utilizados para el crecimiento celular, bien sea por los microorganismos ruminales o por el animal hospedador. La digestión completa de los alimentos complejos

(p.e. pared celular de los forrajes o granos de cereales) se lleva a cabo con la participación de un gran número de enzimas.

En general, las preparaciones enzimáticas comerciales destinadas a los animales rumiantes son caracterizadas según su capacidad para degradar las paredes celulares de los vegetales, y por ello se clasifican principalmente como celulasas o xilanasas. Sin embargo, ninguno de los preparados comerciales está formado por una única enzima, sino que todos ellos presentan actividades enzimáticas secundarias de tipo amilasa, proteasa o pectinasa (McAllister et al., 2001).

Este hecho constituye una ventaja, ya que un mismo preparado enzimático puede ser efectivo con diferentes raciones, pero también representa un problema a la hora de controlar la calidad de los preparados enzimáticos y de extrapolar los resultados obtenidos con una preparación enzimática a otras existentes en el mercado.

Los preparados enzimáticos destinados a los animales rumiantes suelen elaborarse mezclando enzimas para obtener una o dos actividades enzimáticas concretas, en general xilanasas y/o celulasas, pero en la descripción del producto no se suele incluir información alguna sobre las actividades enzimáticas secundarias. Por otra parte, incluso dentro de una misma especie microbiana, los tipos y actividades de las enzimas producidas pueden variar ampliamente, dependiendo de la cepa seleccionada y del medio y condiciones de cultivo empleados (Gashe, 1992).

Estos hechos complican la interpretación de los resultados obtenidos en los diferentes experimentos realizados hasta el momento, ya que en muchos de ellos no se indica la actividad enzimática del preparado comercial.

MARKETING MERLO

Turbo Farmer

Capacidad hasta 3500 kg - Allura Máxima hasta 9 m - Transmisión Hidrostática - Translación Lateral del Brazo - Corrector de Inclinación Transversal
Motor Turbo 80,4 kW (ISO 3048/1) - Velocidad Máxima de 40 km/h - Homologación Para Remolcar en Carreteras Públicas hasta 17000 kg

¡ Pruébalo... y no lo Dejarás Nunca a Nadie !

Apellidos y Nombre		
Empresa		
Dirección		
Ciudad	Cp	Pr
Tel	Fax	

MERLO
Tecnología para la Agricultura

MERLO IBERICA IND. MET. S.A.

Ctra. Nacional II, km 598,4 - Nave 8 - PALLEJA - BARCELONA.

Tel: (93) 6630460 - Fax (93) 6632073 - www.merlo.com - E-mail: servicios_generales@merlo_iberica.es

Mecanismos de acción de los preparados enzimáticos en los animales rumiantes

En un principio, las enzimas utilizadas como aditivos podrían modificar la utilización de los alimentos por los animales a través de efectos directos 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 rumen y/o en el tracto digestivo post-ruminal (ver **Figura 1**).

Las enzimas pueden actuar directamente sobre los alimentos, antes de que estos sean consumidos por los animales. Así, se ha observado que tras la aplicación de enzimas se produce una liberación de azúcares reductores, provocada parcialmente por la degradación de la fibra de los alimentos (Hristov et al., 1996).

De acuerdo con estas observaciones, en algunos estudios se ha observado un aumento en el ritmo de degradación de la fibra cuando los alimentos tratados con enzimas se incubaban in situ en el rumen de los animales (Hristov et al., 1996; Yang et al., 1999). En cualquier caso, la cantidad de azúcares liberados representa solamente una pequeña parte del total de hidratos de carbono presentes en los alimentos, por lo que las respuestas productivas observadas en los animales no se pueden atribuir únicamente a este efecto.

En cuanto a los efectos de las enzimas sobre la digestión ruminal, hasta hace poco tiempo se ha asumido que las enzimas eran degradadas rápidamente por las proteasas de los microorganismos ruminales (Kung, 1996). Si bien es cierto que algunas celulasas de origen fúngico son casi totalmente degradadas tras ser incubadas durante 6 horas con líquido ruminal, existen otros productos enzimáticos cuya actividad celulasa y xilanasas permanece constante tras 6 horas de incubación en líquido ruminal (Hristov et al., 1998a). Este hecho hace que las enzimas puedan mejorar la digestión ruminal a través de la hidrólisis directa de los alimentos ingeridos por los animales.

De hecho, en numerosos estudios se ha observado que la aplicación de enzimas produjo un aumento de la degradación de la fibra, tanto en condiciones in vitro (Feng et al., 1996; Hristov et al., 1996) como in situ (Lewis et al., 1996). Este efecto se ha confirmado en numerosos estudios in vivo (Beauchemin et al., 1999; Yang et al., 1999), aunque no en todos los realizados hasta el momento.

Aunque los preparados enzimáticos pueden aumentar la actividad celulasa y xilanasas del líquido ruminal, la proporción del total atribuible a estos preparados es muy pequeña en comparación a la que presentan las enzimas producidas por los microorganismos ruminales. Por ello se piensa que es posible que los preparados enzimáticos actúen en sinergismo con dichos microorganismos.

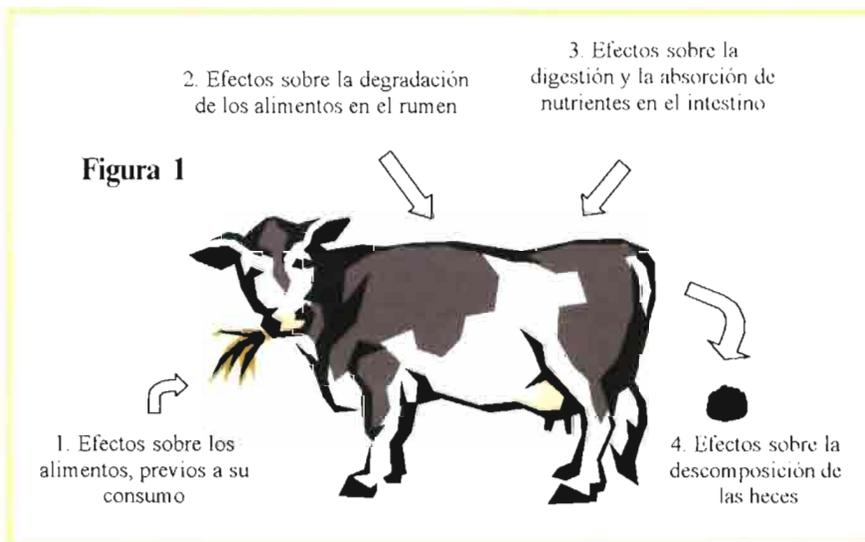
Los animales rumiantes disponen de una población microbiana ruminal que es capaz de digerir el material vegetal de una forma eficiente. Sin embargo, en muchas ocasiones estos animales se ven sometidos a prácticas de alimentación que provocan un ambiente ruminal desfavorable para la degradación de la fibra.

Cuando los animales reciben raciones que contienen un elevado porcentaje de concentrados y un bajo contenido en fibra (p.e. vacas lecheras y terneros en cebo), en el rumen se puede producir una acumulación de ácido láctico que provoca una disminución del pH. Si el pH ruminal disminuye por debajo de 6,2 durante períodos de tiempo prolongados se produce una disminución de la digestión microbiana de los alimentos fibrosos, ya que la mayoría de los enzimas fibrolíticos producidos por los

microorganismos ruminales presentan un pH óptimo superior a 6,2 (Matte and Forsberg, 1992). Por el contrario, el pH óptimo de los enzimas fibrolíticos producidos por los hongos anaeróbicos suele oscilar entre 4,0 y 6,0 (Gashe, 1992).

Bajo estas circunstancias los enzimas fúngicos utilizados como aditivos pueden jugar un gran papel aumentando la degradación del alimento y su utilización (Morgavi et al., 2000). Morgavi y sus colaboradores (2000) analizaron el efecto de enzimas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum*) sobre la degradabilidad in vitro del ensilado de maíz a valores de pH de 6,5, 6,0 y 5,5. La adición de estas enzimas no tuvo efecto sobre la degradabilidad del ensilado a valores de pH óptimos para el normal funcionamiento de la flora ruminal celulolítica, pero aumentó significativamente la degradabilidad de la materia seca del ensilado a pH 5,5 y 6,0 (en un 35% y un 40%, respectivamente).

Esta teoría podría explicar que en algunos estudios (Beauchemin et al., 1997) se hayan observado efectos positivos de los enzimas cuando terneros en cebo recibían cebada en grano, pero



no cuando recibían maíz. El mayor contenido en fibra de la cebada, comparado con el del maíz, justificaría que en los animales que recibían cebada las enzimas provocarían una mejora en el índice de transformación de los alimentos.

En algunos experimentos (Hristov et al., 1998b, 2000) se ha observado que la utilización de preparados enzimáticos como aditivos puede provocar un aumento de la actividad xilanasas y celulasas en el intestino delgado de los animales. Dado que las enzimas son solubles, abandonan el rumen con la fase líquida, a menos que estén asociadas a las partículas de alimento, y pueden así continuar con su acción en el tracto digestivo postruminal.

Sin embargo, estos aumentos observados en la actividad enzimática del intestino delgado han sido pequeños, ya que las celulasas y xilanasas son inactivadas en gran medida por el bajo pH y la pepsina del abomaso.

En el intestino delgado se ha observado también que las enzimas provocan una disminución de la viscosidad de la digesta (Hristov et al., 1998b, 2000), lo que podría favorecer la absorción de los nutrientes. Este hecho resultaría especialmente beneficioso en el caso de los animales que reciben raciones con un alto contenido en granos de cereales, ya que en estos casos la viscosidad de la digesta intestinal suele ser mayor que en los animales alimentados con raciones ricas en forrajes.

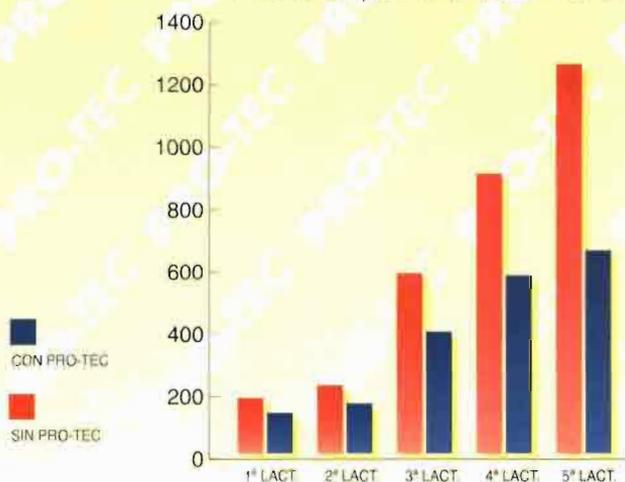
Por último, en algunas pruebas realizadas con animales que recibían altas dosis de enzimas (Hristov et al., 2000) se observó que la actividad xilanasas de las heces aumentaba linealmente al

PRO-TEC

INMUNIDAD POTENCIADA DE AMPLIO ESPECTRO

reducir el número de células somáticas en el ordeño (mamitis subclínicas) es mejorar la rentabilidad de toda explotación de vacuno lechero

ESTUDIOS DE R.C.S.
Estudio comparativo de niveles medios



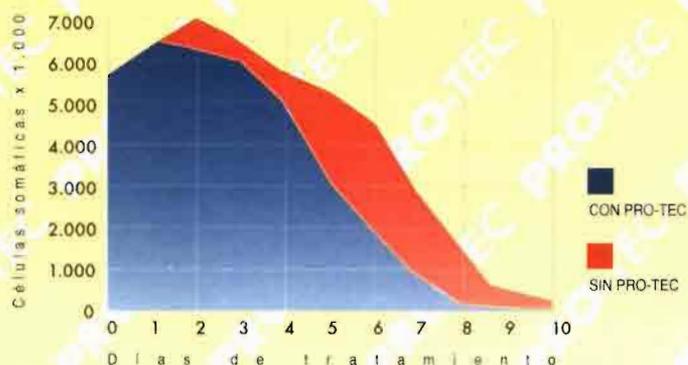
En periodo de secado:

Administración de una dosis de PRO-TEC (5 ml.) a la entrada en Secado y una segunda aplicación de 5 ml. transcurridos 15 días, genera una reducción de la incidencia de mamitis en las cuatro primeras semanas de secado, de aproximadamente 36%.

En el momento del parto:

Una dosis (5 ml.) 15 días antes de la fecha del parto y la repetición de una segunda dosis en el mismo momento del parto, aseguran una disminución de cuadros clínicos de mamitis en un 43% en los 3 meses posteriores al parto.

EVOLUCIÓN DE MAMITIS
Contaje de células somáticas



Una nueva solución en el control efectivo de mamitis clínicas y subclínicas



Nº Reg. 98/ 5266

PRO-TEC, puede ser administrado por vía subcutánea e intramuscular.
Composición: Proteínas procedentes de lisados de propionibacterium acnes e inmunomoduladores naturales, en concentraciones de 250mg/100 ml.
Presentación: Envases de 100 ml.

más soluciones



hacerlo los niveles de enzimas aportados en la ración. Los autores de estos trabajos sugieren que este aumento de la actividad fibrolítica de las heces podría acelerar el ritmo al que el material fecal se descompone en el medio ambiente.

Efecto de los preparados enzimáticos sobre los parámetros productivos

El hecho de que las enzimas pueden mejorar la ganancia diaria de peso y la eficiencia de utilización de los alimentos en el ganado vacuno de engorde fue constatado por primera vez hace 40 años, en una serie de diez pruebas de alimentación (Burroughs et al., 1960).

En estos experimentos se utilizaron diferentes alimentos (maíz molido, ensilado de avena, ensilado de maíz y heno de alfalfa), que se trataron con un preparado enzimático con actividades amilolítica, proteolítica y celulolítica. Los animales que recibieron los alimentos tratados presentaron ganancias de peso que fueron entre un 6,8 y un 24% mayores que las presentadas por los animales que recibieron los alimentos sin tratar, y la eficiencia de utilización del alimento aumentó entre el 6,0 y el 21%.

En otros experimentos realizados en la misma época (Nelson and Damon, 1960; Rovics and Ely, 1962) se obtuvieron respuestas similares. Pero no todos los estudios encontraron respuestas positivas a la adición de enzimas, ya que en algunos de ellos no se observaron variaciones en la ganancia diaria de peso (Leatherwood et al., 1960; Clark et al., 1961) o incluso la adición de enzimas redujo la ganancia de peso (Perry et al., 1960).

Un grave problema a la hora de interpretar las respuestas contradictorias obtenidas en estos primeros estudios es el hecho de que en muchos de ellos no se define la composición exacta de las raciones, el tipo y niveles de actividades enzimáticas de los preparados utilizados o el método de aplicación de los mismos, cuando todos estos factores pueden afectar a la efectividad de los productos utilizados.

Por el contrario, en los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios en los que se ha investigado el efecto de factores como el tipo de alimentos, el tipo de enzimas, y la dosis y el método de aplicación de las mismas, siempre bajo condiciones controladas. Así, por ejemplo, un preparado con actividades xilanas y celulasa aumentó la ganancia diaria de peso de novillos en un 30 y un 11% cuando éstos recibieron heno de alfalfa o cebada en grano, respectivamente (Beauchemin et al., 1995), pero no se observó efecto alguno cuando los animales fueron alimentados con maíz en grano (Beauchemin and Rode, 1996).

Sin embargo, el tratamiento de raciones compuestas por un 82,5% de maíz con un preparado con múltiples actividades enzimáticas provocó un aumento de la ganancia de peso de terneros del 10% (Weichenthal et al., 1996). Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de elaborar productos enzimáticos específicos para los diferentes alimentos que reciben los animales.

En cuanto a la utilización de preparados enzimáticos en animales en la alimentación del ganado vacuno lechero, las primeras experiencias se llevaron a cabo a mediados de los años 90, y

desde entonces han sido muy numerosos los experimentos realizados en este sentido, aunque, al igual que en el caso del vacuno de engorde, los resultados obtenidos han sido contradictorios.

En varios experimentos en los que las raciones administradas a las vacas lactantes contenían entre un 39 y un 50% de forraje, se observó que la utilización de preparados enzimáticos con actividades xilanas y celulasa aumentó la producción de leche entre un 4 (Rode et al., 1999) y un 15% (Lewis et al., 1999; Zheng et al., 2000), sin que se observaran modificaciones en la composición de la misma. Los autores de estos trabajos atribuyeron los efectos positivos de las enzimas a mejoras en la digestibilidad de las raciones, lo que aumentaría la cantidad de nutrientes disponibles para la producción de leche.

Sin embargo, en otros experimentos en los que también se utilizaron preparados enzimáticos con actividades xilanas y celulasa y los animales recibieron raciones con un 45-50% de forrajes, no se observó efecto alguno sobre la producción de leche (Luchini et al., 1997; Nussio et al., 1997).

Parte de la disparidad de estos 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 el método de aplicación de los preparados enzimáticos también afectan a los resultados obtenidos (Yang et al., 2000).

En resumen, los preparados enzimáticos pueden aumentar el rendimiento productivo de los animales, tanto en la producción de carne como la de leche, pero la efectividad estos preparados depende de numerosos factores.

Perspectivas de futuro de los preparados enzimáticos en la alimentación de los animales rumiantes

Como ya se ha comentado, no todos los preparados enzimáticos son igual de efectivos a la hora de digerir substratos complejos como son los alimentos que reciben los animales rumiantes. Además, en muchos casos no se conocen bien todos los factores que limitan el ritmo y amplitud de la digestión de muchos alimentos, lo que impide "diseñar" preparaciones enzimáticas adecuadas para eliminar o paliar estos factores limitantes.

En algunos casos, estos factores limitantes sí están identificados. Así, por ejemplo, en el caso del maíz, la matriz proteica que rodea los gránulos de almidón es la que regula el ritmo y extensión de la digestión del almidón (McAllister et al., 1993). Por ello, un preparado enzimático que posea actividad amilasa pero no posea actividad proteasa, probablemente no mejore la utilización del maíz por los animales rumiantes (McAllister et al., 2001).

En el caso de los forrajes de baja calidad (p.e. paja) la situación se complica, ya que en este tipo de alimentos los factores limitantes de la digestión microbiana de los mismos suelen ser compuestos como la lignina, sílice, ceras y cutinas. En estos casos, las preparaciones enzimáticas deben ser más específicas, ya 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). Por ello, en última instancia, las preparaciones enzimáticas deberían ser diseñadas para superar los factores que limitan la digestión de cada tipo de alimentos.

Los recientes avances en el campo de la biotecnología han hecho posible desarrollar preparados enzimáticos que poseen actividad xilanasas y β -glucanasas, pero todavía no se posee la tecnología necesaria para la producción específica de otras enzimas que pueden jugar un gran papel en la digestión de los forrajes, como son las cutinasas, estearasas del ácido ferúlico y arabinofurinasas (McAllister et al., 2001).

En resumen, el reto para la industria es desarrollar productos basados en la comprensión científica de su modo de acción en los animales rumiantes, de tal forma que éstos puedan utilizarse con una alta probabilidad de éxito (Beauchemin et al., 2000).

Una vez que se hayan identificado los mecanismos de acción de cada preparado enzimático y el tipo de alimento con el que resulta efectivo, todavía existen algunos puntos en los que se puede optimizar la utilización de estas preparaciones. Un punto crítico es determinar la dosis óptima para cada preparación enzimática, ya que en ocasiones se han observado respuestas negativas a la utilización de dosis muy altas de enzimas (Beauchemin et al., 1996), en particular una disminución de la digestibilidad de la fibra y de la eficiencia de utilización de los alimentos.

Mientras que administradas a bajos niveles, las enzimas pueden aumentar la digestibilidad de la fibra favoreciendo la colonización de las partículas de alimentos por los microorganismos y estimulando la actividad enzimática endógena del rumen, a altas concentraciones pueden competir con los microorganismos ruminales por sus lugares de unión a las partículas de alimento, de tal forma que disminuyan la actividad fibrolítica endógena (Beauchemin et al., 2000).

Por otra parte, las preparaciones enzimáticas son caras, por lo que la utilización de dosis superiores a las óptimas disminuiría las posibles ventajas económicas producidas por su uso. En este sentido, las industrias tienen ante sí el reto de abaratar el coste de estas preparaciones.

Otra de las cuestiones que permanecen sin resolver es la forma de aplicación de las preparaciones enzimáticas a la ración (Yang et al., 2000), aunque sí se ha observado que aplicación directa de enzimas en el rumen es menos efectiva que si se aplican al alimento antes de ser administrado a los animales (Beauchemin et al., 1996).

En cuanto a la legislación vigente, existen numerosos preparados enzimáticos cuyo uso está permitido en la Unión Europea (Directiva 70/524/CEE y sus posteriores modificaciones), y en principio no parece que este tipo de aditivos pueda presentar problemas de aceptación por el consumidor.

Sin embargo, la lista de preparados enzimáticos permitidos en la alimentación animal se ve modificada constantemente. En el Diario Oficial de las Comunidades Europeas se publican con frecuencia Reglamentos que autorizan el uso temporal de nuevos preparados enzimáticos que, tras ser sometidos a una estricta evaluación por expertos de la CE, cumplen las condiciones necesarias para ser utilizados como aditivos en la alimentación animal. En estos Reglamentos figura el número CE del aditivo, los microorganismos que lo producen, la descripción de su actividad enzimática, la especie o categoría de animales a la que va destinado, la edad máxima de dichos animales, las dosis recomendadas y el tipo de raciones para las que se recomiendan, así como la duración de la autorización.

Si la investigación sobre los preparados enzimáticos destinados a rumiantes continúa, es de prever que aumente el número de preparados autorizados y su uso en la alimentación animal. ■



Gouda



Manchego



Idiazábal



Gruyere



Cabrales



Teta gallega

Racumin[®] Pasta
un bocado irresistible
para las ratas



**Es tierno, es fresco,
es irresistiblemente
apetitoso para las ratas.**

Es el nuevo **Racumin Pasta** de Bayer. Cebo fresco en cómodas bolsitas muy fáciles de utilizar que resulta terriblemente eficaz para las ratas pero de alta seguridad para las personas y los animales y respetuoso con el medio ambiente.

**Lo último para
las ratas**

QUÍMICA FARMACÉUTICA BAYER, S.A.
División AH - Sanidad Ambiental - Calabriz, 268 - 08029 Barcelona - Tel. 93 495 65 00

