

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MICROFLORA RUMINAL EN GANADO BOVINO

POR

JESUS MANUEL MEZA SALINAS

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DEL 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MICROFLORA RUMINAL EN GANADO BOVINO

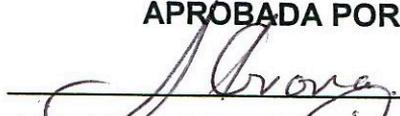
POR

JESUS MANUEL MEZA SALINAS

MONOGRAFÍA QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

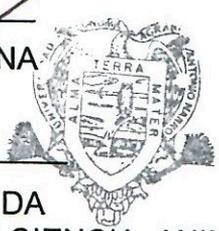
APROBADA POR



MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA
PRESIDENTE DEL JURADO



MC. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

UAAAN - UL

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DEL 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

MICROFLORA RUMINAL EN GANADO BOVINO

**MONOGRAFÍA QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H.
JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE DEL JURADO



MC. JOSE LUIS CORONA MEDINA
PRESIDENTE DEL JURADO



DR. RAFAEL RODRÍGUEZ MARTÍNEZ



MC. GERARDO ARELLANO RODRÍGUEZ



MC. PEDRO ANTONIO ROBLES TRILLO

Dedicatoria:

Dedicada a Dios y a la gran Madre de Dios. A mis Padres, Hermana. A mis Maestros a mis Amigos y Compañeros del trabajo, a mis Compañeros y Amigos de Clase que me acompañan siempre en estos años de mi vida. Y que han saturado mi espíritu de una inmensa esperanza en Dios Nuestro Señor. En Señal de gratitud y amor filial.

Paz y Bien.

Índice.

1. Introducción.	4
2. Los rumiantes y sus características anatomofisiológicas.	5
3. La alimentación del rumiante.	8
3.1. COSTOS Y BENEFICIOS DE LA DIGESTIÓN DE LOS RUMIANTES.	8
3.2. TRANSFORMACIÓN MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS.	9
4. Desarrollo ruminal.	10
5. Contenido ruminal.	11
6. Microorganismos ruminales.	12
6.1. CRECIMIENTO MICROBIANO.	13
6.2. LAS BACTERIAS RUMINALES.	16
6.2.1. <i>Clasificación de las bacterias.</i>	16
6.2.2. <i>Concentración de bacterias.</i>	16
6.2.3. <i>Mezcla de la población microbiana ruminal.</i>	17
6.2.4. <i>Bacterias fibrolíticas</i>	17
6.2.5. <i>Bacterias celulolíticas.</i>	19
6.3. LOS HONGOS RUMINALES.	22
6.4. LOS PROTOZOARIOS RUMINALES.	25
7. Colonización de los alimentos por los microorganismos ruminales.	28
8. Actividad ruminal fermentativa.	29
8.1. FERMENTACIÓN MICROBIANA.	29
8.2. PROTEÍNA MICROBIANA.	32
8.2.1. <i>La urea en los rumiantes.</i>	35
8.3. ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV).	37
8.3.1. <i>Grasas protegidas y su función.</i>	38
9. Digestión microbiana.	39
9.1. FACTORES QUE REGULAN LA DIGESTIÓN.	41
9.2. TAMAÑO DE LA PARTÍCULA.	43
10. La metanogénesis en los bovinos.	44
11. Metabolismo de las plantas tóxicas.	47
12. La acidosis ruminal y la composición de la microflora.	49
12.1. EL USO DE ANTIBIÓTICOS EN EL GANADO.	50

13. Conclusión.-----50

14. Glosario.-----51

15. Literatura citada.-----54

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
Figura 1	El tracto digestivo de un rumiante adulto demuestra los diferentes compartimientos (rumen, retículo, omaso, abomaso, intestino delgado, ciego, colón y recto). (Russell J. B y Rychlik, 2001).	5
Figura 2	Vías de Fermentación.	30
Figura 3	Resumen de la fermentación y el destino de los principales componentes del alimento de los rumiantes. Los principales ácidos grasos volátiles (AGV's) son los ácidos acéticos (Ac), propionico (Pr) y butírico (Bu).	31

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág
Cuadro 1	Agrupamiento de las especies bacterianas rúminales de acuerdo con el tipo de sustratos que fermentan (Swenson y Reece., 1999).	15
Cuadro 2	Plantas tóxicas y principales bacterias que las metabolizan (Weimer, 1998).	48

1. Introducción.

Los ungulados son mamíferos con pezuñas o cascos, constituyen el más numeroso e importante grupo de herbívoros grandes que se alimentan de pastos (Swenson y Reece., 1999). Los animales terrestres han desarrollado una solución evolutiva diferente: relaciones simbióticas con bacterias, protistas y hongos. El material lignocelulolítico es duro y dificultoso para digerir. Los herbívoros terrestres pueden contar con una serie de enzimas que pueden digerir la celulosa y otros polisacáridos estructurales de las plantas. El hospedero provee calor, humedad y alimento, mientras que los microorganismos contribuyen la proteína como biomasa microbiana y con productos de la digestión tales como ácidos grasos volátiles que el animal usa (Garcia-Vallve *et al.*, 2000).

Los animales rumiantes tienen la habilidad de convertir alimentos de baja calidad en proteínas de alta calidad. Ésto puede ser posible por que los microorganismos rumiales sintetizan y secretan la enzima β - 1-4 celulasa, mediante la hidrólisis de la fibra (Varga y Kolver, 1997). Se ha demostrado que las bacterias, protozoarios y hongos son los microorganismos involucrados en la digestión ruminal de las células de la corteza de las plantas en el rumen (Lee *et al.*, 2000). En términos de evolución molecular, el rumen es un complejo ecosistema en el que la transferencia natural de genes y el tráfico de material genético puede ocurrir (Garcia-Vallve *et al.*, 2000).

El conocimiento, la distribución y composición de las bacterias ruminales se afecta por las necesidades dietéticas al ser incorporado dentro de modelos mecanísticos de la fermentación ruminal para mejorar la predicción de la síntesis de proteína microbiana en el ganado lechero (Yang *et al.*, 2001).

2. Los rumiantes y sus características anatomofisiológicas.

Si bien los rumiantes están distribuidos sobre todo el mundo, únicamente poco de ellos son habitantes de la zona glacial, ya que los mamíferos herbívoros necesitan una gran cantidad de plantas como alimento, y la zona glacial es un área pobre para el crecimiento de plantas. Esta característica de los rumiantes es espectacular por tener un rumen caracterizado por flora y fauna (Imai *et al.*, 2004).

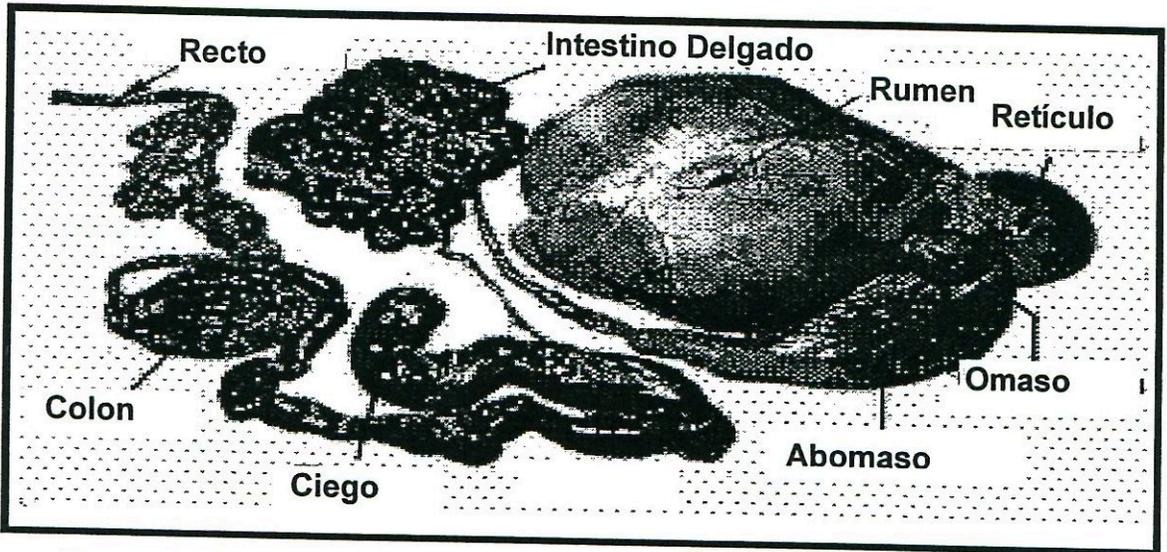


Figura 1. El tracto digestivo de un rumiante adulto demuestra los diferentes compartimentos (rumen, retículo, omaso, abomaso, intestino delgado, ciego, colón y recto). (Russell J. B y Rychlik, 2001).

Anatómicamente, los complejos más especializados son encontrados entre los rumiantes, tales como los bovinos y ovejas, que elaboraron estómagos multicompartidos, especializados para una dieta de hierba (García-Vallve *et al.*, 2000). Los ungulados son mamíferos con pezuñas o cascos, constituyen el más numeroso e importante grupo de herbívoros grandes que se alimentan de pastos (Swenson y Reece., 1999). Los rumiantes, llamados así por que rumian (mastican el bolo de la rumia), tienen un estómago que consiste en un estómago anterior no secretor y un compartimento estomacal secretor (abomaso) (Swenson y Reece., 1999).

Los verdaderos rumiantes tienen un estómago con cuatro cavidades. El estómago anterior consta de tres compartimentos (el rumen, el retículo y el omaso) y es un saco donde se lleva a cabo la fermentación microbiana de los alimentos ingeridos, principalmente por hidrólisis y oxidación anaeróbica (Swenson y Reece., 1999). El omaso es un órgano pequeño que tiene una alta capacidad de absorción. Es el tercer estómago, órgano pequeño que tiene una alta capacidad de absorción. Permite el reciclaje de agua y minerales tales como el fósforo y el sodio que pueden volver al rumen por la saliva. Este es un órgano de transición entre el rumen y el abomaso (Wattiaux y Howard, 2001).

El rumen y el retículo son los primeros preestómagos de los rumiantes (Wattiaux y Howard, 2001), el rumen es el principal órgano digestivo del rumiante en donde la digestión se lleva a cabo (Wallace, 1997); el contenido del retículo y del rumen se mezcla constantemente (una vez por minuto). Los dos estómagos comparten una densa población de microorganismos (bacterias, protozoos y hongos) (Wallace, 1997; Wattiaux y Howard, 2001). La extrema complejidad de la microbiota del rumen ha sido dada a conocer en numerosas publicaciones empleando el aislamiento de cultivos puros y descripción de esta fisiología (Tajima *et al.*, 2001). Las partículas de fibra permanecen en el rumen de 20-48 horas por lo que la fermentación bacteriana es un proceso lento (Wattiaux y Howard, 2001) en el cual se lleva a cabo la digestión por medio de enzimas secretadas por esta variedad de microorganismos que incluye bacterias, protozoarios y hongos (Wallace, 1997). Sin embargo, el pH ruminal está influenciado por la edad del becerro; el pH es bajo en las 2 primeras semanas de vida y se incrementa a las 10 semanas de edad (Beharka *et al.*, 1998).

El abomaso secreta ácidos fuertes y muchas enzimas digestivas (Wattiaux y Howard, 2001). Es el cuarto estómago, el cual se parece al estómago de la mayoría de los animales, al igual que el hombre. Los alimentos que entran al abomaso se componen principalmente de partículas de alimentos

no-fermentados, algunos productos de la fermentación bacteriana (Wattiaux y Howard, 2001) y los microbios que crecieron en el rumen (Araque, 2001).

El cambio de becerro neonato a un rumiante funcional incluye un número de cambios anatómicos y fisiológicos de los cuatro estómagos. Si bien, el desarrollo de los cuatro estómagos es innato, la edad sólo tiene un efecto pequeño sobre el desarrollo papilar en el rumen (Beharka *et al.*, 1998). El tracto del recién nacido debe pasar por cierta maduración durante las primeras semanas de vida y continúa creciendo y madurando por un periodo prolongado. Ni el rumen ni el retículo son funcionales en el recién nacido, por lo tanto, el animal es técnicamente un monogástrico (Heinrichs, 1997).

El desarrollo generalmente del rumen ocurre durante las 4-8 primeras semanas de edad (Quigley, 1999). El desarrollo del rumen y del retículo depende del alimento que consume el animal. Los alimentos líquidos como el calostro, la leche y el sustituto de leche, sobrepasan el rumen por medio de la canaladura esofágica y llegan directamente al abomaso para ser digeridos (Heinrichs, 1999).

El desarrollo de las papilas ruminales es el resultado de los productos de la fermentación microbiana (principalmente butirato y propionato) y de la estimulación física. El crecimiento de las papilas ruminales es mínimo en becerros alimentados únicamente con leche (Beharka *et al.*, 1998).

Los rumiantes han adoptado una gran variedad de microorganismos, formando un nicho microbiológico ruminal, el cual consiste principalmente de bacterias, protozoarios y hongos (Varga y Kolver, 1997). El rumen provee un ambiente apropiado, con un suministro generoso de alimentos para el crecimiento y la producción de los microbios (Wattiaux y Howard, 2001; Weimer, 1998). El rumen es un ecosistema abierto autosuficiente en el cual el alimento consumido se fermenta a ácidos grasos volátiles y biomasa microbiana que le

sirve al animal como fuente de energía y proteína respectivamente (Weimer, 1998).

3. La alimentación del rumiante.

Los rumiantes tienen la habilidad de convertir alimentos de baja calidad en proteínas de alta calidad. Esto puede ser posible por que los microorganismos rúminales sintetizan y secretan la enzima β -1-4 celulasa, mediante la hidrólisis de la fibra (Varga y Kolver, 1997). Ni el rumen ni el retículo del becerro recién nacido son funcionales. Por lo tanto, el becerro es técnicamente un monogástrico y la fuente de energía, proteína, vitaminas y minerales deben ser altamente nutritivas y fáciles de digerir (Heinrichs, 1997).

En las leguminosas hay bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico que tienen una gran cantidad de proteínas, pero en las plantas no leguminosas, los carbohidratos constituyen cerca del 66% de la materia seca (Asanuma *et al.*, 1999), tanto en los forrajes (heno y pastos) como en granos, los componentes principales de los alimentos concentrados (Swenson y Reece., 1999). Sobrealimentar con proteínas, es desperdiciar un producto caro y causa la sobreproducción de amoníaco (Swenson y Reece., 1999).

De acuerdo con Varga y Kolver, (1997) únicamente 10-35% de la energía consumida se transforma a energía neta, por que el 20-70% de la celulosa no puede ser digerida por el animal. Por lo tanto los carbohidratos y las proteínas son dos factores nutricionales que probablemente limitan más la síntesis de proteína microbiana en el rumen (Shabi *et al.*, 2000).

3.1. Costos y beneficios de la digestión de los rumiantes.

Los animales terrestres han elaborado una solución evolutiva diferente relaciones simbióticas con bacterias, protistas, y hongos. El ecosistema microbiano ruminal comprende alrededor de 30 especies predominantes de bacterias en una concentración de 10^{10} o 10^{11} /ml de fluido ruminal, algunas 40 especies de protozoarios (10^5 o 10^7 /ml), y cinco especies de hongos (< de

10^5 /ml) (Miron *et al.*, 2001). El material lignocelulolítico es duro y difícil de digerir. Los herbívoros terrestres cuentan con una serie de enzimas que pueden digerir la celulosa y otros polisacáridos estructurales de las plantas (García-Vallve *et al.*, 2000).

El éxito ecológico de los rumiantes se debe a los beneficios de una cámara pregástrica de fermentación, el estómago anterior, que 1) permite el uso de alimentos que podrían ser demasiado fibrosos para animales no rumiantes; 2) confiere la capacidad para degradar celulosa; 3) permite la síntesis de proteínas microbianas de gran valor biológico a partir de proteínas vegetales de poco valor biológico, a partir de nitrógeno no proteico de la dieta y a partir de productos terminales nitrogenados metabólicos reciclados; 4) proporciona todos los componentes del complejo de la vitamina B, siempre y cuando haya suficiente cobalto disponible para la síntesis de vitamina B12 (Araque, 2001) (Swenson y Reece., 1999). Se considera que existen cinco elementos necesarios para mejorar el desarrollo del rumen: 1) el establecimiento de bacterias en el rumen, 2) la presencia de líquido (Agua), 3) movimiento de material en el rumen (acción muscular), 4) habilidad de absorción del tejido, 5) sustrato disponible en el rumen.

3.2. Transformación microbiana de los alimentos.

De acuerdo con Orskov (1994) existen tres aspectos importantes en la transformación microbiana de los alimentos:

- 1) como extraer la máxima cantidad de nutrientes de los alimentos.
- 2) como asegurar los productos de la fermentación, particularmente los AGV's y las proteínas microbianas.
- 3) como asegurar que el animal permanezca en un estado saludable.

El requerimiento de proteína degradable en rumen por los microorganismos ruminales pueden ser calculados y es dependiente de la

presencia de una adecuada cantidad de amoníaco. Sin embargo, los niveles de proteína dietética degradable en el rumen y en la dieta no influyen en la digestibilidad de la materia orgánica por la microflora ruminal (Fu *et al.*, 2001). Aunque esta aseveración es discutible, ya que si no hay proteína degradable suficiente en rumen ¿de dónde sacan las bacterias del rumen el nitrógeno necesario para su reproducción? si no hay reproducción bacteriana ¿quién degrada la materia seca?. También pueden influir los efectos de las interacciones entre los microorganismos que pueden extenderse desde el sinergismo al antagonismo y que dependen de los grupos microbianos y de las especies involucradas y el tipo de sustrato utilizado (Lee *et al.*, 2000).

4. Desarrollo ruminal.

Quigley (1998a) señala que el desarrollo del rumen ocurre generalmente durante las primeras 4 a 8 semanas de edad. El proceso de desarrollo del rumen es principalmente debido a la materia seca consumida, existiendo cinco requerimientos (o ingredientes) para el desarrollo del rumen (Quigley, 1998b).

- 1) establecimiento de bacterias en el rumen.
- 2) líquido en el rumen.
- 3) acción muscular.
- 4) habilidad de absorción del tejido.
- 5) sustratos.

Al nacer el becerro, el rumen es estéril, esto es no hay bacterias presentes. En el primer día de edad una gran cantidad de bacterias entra al rumen (Quigley, 1998d). Así mismo la secuencia del establecimiento de las poblaciones bacterianas ruminales se presenta principalmente por la dieta de la cual el becerro es dependiente (Beharka *et al.*, 1998).

El desarrollo de las funciones del rumen depende de muchos factores. Uno de estos incluye la habilidad del rumen a sufrir las contracciones ruminales

normales (Quigley, 1998a); otro el desarrollo anatómico y fisiológico por la estimulación de los ácidos grasos volátiles ruminales lo cual sugiere una relación entre el desarrollo ruminal y la actividad microbiana (Beharka *et al.*, 1998).

Los becerros alimentados con una dieta molida tiene pocas bacterias celulolíticas y grandes cantidades de bacterias amilolíticas en el rumen que en becerros que son alimentados con una dieta sin moler (Beharka *et al.*, 1998). La concentración de nitrógeno amoniacal disminuye con la edad del becerro, que es un indicativo del incremento en su utilización por las bacterias. Adicionalmente, el pH ruminal está influenciado por la forma física de la dieta. El pH ruminal es bajo durante la 4^a y 6^a semana de edad para los becerros que son alimentados con dietas molidas respecto a los que son alimentados con dietas sin moler (Beharka *et al.*, 1998).

Las diferencias en el tamaño de la partícula de la dieta causan variaciones en el pH y corresponden a un cambio en la cantidad de la población bacteriana tan evidente por la disminución de bacterias celulolíticas y por un incremento de las bacterias amilolíticas para becerros alimentados con dieta molida. Adicionalmente, la forma física de la dieta afecta el desarrollo omasal y el desarrollo papilar pero no el desarrollo del rumen y del retículo (Beharka *et al.*, 1998).

5. Contenido ruminal.

El contenido ruminal puede considerarse distribuido en cuatro fracciones, cada una con una composición muy diferente: 1) las partículas fibrosas de la masa flotante con gran cantidad de microorganismos en el interior, donde los microorganismos se desplazan a partículas nuevas conforme las viejas se desintegran; 2) la fracción líquida de la masa flotante, la cual transporta principalmente materiales solubles hacia adentro; 3) el material líquido que ocupa el retículo y los sacos craneales y ventrales del rumen; 4) la capa límite que se encuentra contra la superficie luminal del retículo - rumen, a través de la

cual se establece intercambio entre la sangre y el líquido ruminal en las dos direcciones (Swenson y Reece., 1999).

En relación a cuando los animales son alimentados con una restricción en el consumo, y alimentados solo una vez al día, el número de alimentaciones por día (1, 6 o 24), tiene poco o ningún efecto sobre las concentraciones de bacterias y hongos en el rumen. En contraste, la alimentación continua disminuye el pH ruminal e incrementa el porcentaje de materia seca en el rumen. Los resultados sugieren que esto no es práctico o biológicamente ventajoso, ya que si hay un pequeño efecto sobre la concentración de bacterias y hongos en el rumen, en la alimentación de animales más que una vez o dos veces por día (Dehority y Tirabasso, 2001).

6. Microorganismos ruminales.

El complejo simbiótico de la microbiota del rumen es responsable de la degradación de la fibra, una habilidad necesaria de los animales rumiantes hospedadores (Tajima *et al.*, 2001). Los microorganismos consisten principalmente en una población mixta interdependiente de bacterias, pero también de hongos del tipo de levaduras y de protozoarios (Swenson y Reece., 1999). Los microorganismos del rumen producen una gran cantidad de actividades de las hidrolasas glicosiladas (HGs) que trabajan sinérgicamente. Por lo que, un número de genes y/o cDNAs que codifican endoglucanasas, exoglucanasas, xilanasas, lignasas, y manasas han sido clonadas y secuenciadas de diferentes especies, incluyendo los hongos anaerobios *Neocallimastix*, *Piromyces*, y *Orpinomyces* (García-Vallve *et al.*, 2000). Las bacterias absorben nutrientes sobre las células de la corteza de las plantas y la hidrólisis ocurre en este sitio. La hidrólisis de nutrientes por la fracción protozoaria del rumen puede ocurrir intracelularmente, y los factores que afectan el tragado son más importante (Lee *et al.*, 2000).

Las metanógenas, que pueden estar por arriba del 3-5% de la población y requiere un medio de hidrogeno para crecer, bacterias de crecimiento lento y que requieren de aminoácidos para la fermentación que son aproximadamente el 1% de la población y protozoarios. Mientras los análisis moleculares ecológicos de ecosistemas microbianos fueron durante la década de los 1990s un nuevo y emergente campo, estos han tenido un gran énfasis sobre el desarrollo de nuevas y mejoradas técnicas (Krause D. O *et al.*, 1999).

6.1. Crecimiento microbiano.

La microbiota normal en este medio ambiente ruminal anóxico está compuesta de bacterias, protozoarios ciliados y flagelados, y hongos citridiomietos anaerobios (Garcia-Vallve *et al.*, 2000). La ausencia de aire (oxígeno) en el rumen favorece el crecimiento de especies de bacterias especiales, entre ellas las que pueden digerir las paredes de las células de plantas (celulosa) para producir azúcares sencillos (Wattiaux y Howard, 2001). Pero el crecimiento de microorganismos del rumen es dependiente de la disponibilidad de nitrógeno en forma de péptidos, aminoácidos y NH_3 (Griswold *et al.*, 2003).

En el rumen la sincronía fermentativa de los carbohidratos y la proteína degradable en rumen, el adecuado amoniaco, el pH, y la velocidad de pasaje son los factores que más afectan la eficiencia y el crecimiento microbiano (Fu *et al.*, 2001). La eficiencia del crecimiento microbiano y la producción de proteína microbiana puede ser mejorarse por un balance en la ración diaria de la energía ruminal útil y del nitrógeno en la dieta (Henning, 1994), ya que la síntesis *de novo* de aminoácidos varía de acuerdo con las concentraciones de péptidos y aminoácidos en el medio: esto no es un simple interruptor de apagar y encender para la síntesis *de novo* de aminoácidos (Atasoglu *et al.*, 1998).

El número y el tipo de bacterias cambian de acuerdo al alimento consumido (Quigley, 1998d). Las especies de bacterias en el rumen son

consideradas más importantes que los protozoarios y hongos ya que determinan la degradación y el porcentaje de degradación del alimento y la utilización para la producción de proteína microbiana y AGV's (Miron *et al.*, 2001). Sin embargo, hay reportes que indican un incremento en las concentraciones de protozoarios conforme se incrementa el número de alimentaciones por día, mientras otros no reportan diferencias (Dehority y Tirabasso, 2001).

Solo pocos estudios conducen a cuantificar los cambios de composición en las poblaciones de bacterias celulolíticas del rumen con cambios en la dieta. Sin embargo, se han publicado varios estudios sobre los efectos de la frecuencia de la alimentación y la concentración de protozoarios en el rumen (Dehority y Tirabasso, 2001).

Al establecerse las demandas de nitrógeno de los microbios ruminales, la NRC (National Research Council) (1989) recomendó de 60 a 65% de proteína cruda (PC) como proteína degradable en el rumen (PDR), y 50% en bruto de la PDR como proteína soluble (Griswold *et al.*, 2003). Estos resultados indican que la disponibilidad de energía en el rumen es el factor principal que influencia la extensión del crecimiento y la composición química de las bacterias, Craig *et al.*, (1987) también reportan que la disponibilidad de energía y proteína son importantes para determinar los cambios composicionales de bacterias, hongos y protozoarios del rumen (Yang *et al.*, 2001). Como aparece en el *cuadro 1* de acuerdo al sustrato que fermentan.

Cuadro 1. Agrupamiento de las especies bacterianas ruminales de acuerdo con el tipo de sustratos que fermentan (Swenson y Reece., 1999).

Principales especies celulolíticas	<i>Fibrobacter succinogenes.</i> <i>Ruminococcus flavefaciens.</i> <i>Ruminococcus albus.</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens.</i> <i>Clostridium lochheadii.</i>
Principales especies hemicelulolíticas	<i>Butyrivibrio fibrisolvens.</i> <i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Ruminococcus sp.</i>
Principales especies pectinolíticas	<i>Butyrivibrio fibrisolvens.</i> <i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Lachnospira multiparus.</i> <i>Succinivibrio dextrinosolvens.</i> <i>Treponema bryantii.</i> <i>Streptococcus bovis.</i>
Principales especies amilolíticas	<i>Bacteroides amylophilus.</i> <i>Streptococcus bovis.</i> <i>Simonas amylolytica.</i> <i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Prevotella ruminicola.</i>
Principales especies ureolíticas	<i>Succinivibrio dextrinosolvens.</i> <i>Selenomonas sp.</i> <i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Ruminococcus bromii.</i> <i>Butyrivibrio sp.</i> <i>Treponema sp.</i>
Principales especies productoras de metano	<i>Methanobrevibacter ruminantium.</i> <i>Methanobacterium formicicum.</i> <i>Methanomicrobium mobile.</i>
Principales especies que utilizan azúcar	<i>Treponema bryantii.</i> <i>Lactobacillus vitulinus.</i> <i>Lactobacillus ruminis.</i> <i>Lactobacillus sp.</i>

Principales especies que utilizan el ácido	<i>Megasphaera elsdenii.</i> <i>Selenomonas ruminantium.</i>
Principales especies productoras de amoniaco	<i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Megasphaera elsdenii.</i> <i>Selenomonas ruminantium.</i>
<i>Continuación...</i>	
Principales especies proteolíticas	<i>Bacteroides amylophilus.</i> <i>Bacteroides ruminicola.</i> <i>Butyrvibrio fibrisolvens.</i> <i>Streptococcus bovis.</i> <i>Clostridium lochheadii.</i>
Principales especies que utilizan lípidos	<i>Anaerovibrio lipolytica.</i> <i>Butyrvibrio fibrisolvens.</i> <i>Treponema bryantii.</i> <i>Eubacterium sp.</i> <i>Fusocillus sp.</i> <i>Micrococcus sp.</i>

6.2. Las Bacterias ruminales.

6.2.1. Clasificación de las bacterias.

Las bacterias habitantes del rumen han sido clasificadas dentro de cinco grupos dependiendo de su existencia en el medio ambiente: 1) bacterias que viven libremente asociadas con la fase líquida del rumen; 2) bacterias libres asociadas con partículas de alimento; 3) bacterias firmemente adheridas a las partículas de alimento; 4) bacterias asociadas con el epitelio ruminal; 5) bacterias unidas a la superficie de protozoarios o esporangios fungales (Miron *et al.*, 2001). Las bacterias primarias son las que degradan los componentes efectivos celulosa y hemicelulosa del alimento y se denominan celulolíticas o amilolíticas, según su preferencia por las celulosas o el almidón respectivamente (Swenson y Reece., 1999), sin embargo, la estimación del tamaño de las poblaciones en el rumen es un tema de discusión porque las poblaciones microbianas fluctúan dramáticamente durante el día (Krause D. O *et al.*, 1999).

6.2.2. Concentración de bacterias.

Martin *et al* (1999) mencionan que la concentración de bacterias contenidas en el rumen se estima por el conteo de colonias, las cuales se

encuentran en gran cantidad en el saco dorsal del rumen. También las bacterias ruminales contribuyen con una considerable proporción de materia orgánica (MO) y nitrógeno que pasa al duodeno del ganado, por lo que la composición y distribución de bacterias ruminales son importantes en términos de alimentación y de los requerimientos de nutrientes de los rumiantes (Yang *et al.*, 2001).

Así mismo, estudios en nutrición animal con cultivos puros de bacterias celulolíticas, indican que la incorporación de nitrógeno a la proteína microbiana es equivalente a la desaparición de nitrógeno amoniacal del medio, y esto es por lo tanto concluyente de que el amoniaco es la principal fuente de nitrógeno para el crecimiento de estas especies (Atasoglu *et al.*, 1998).

6.2.3. Mezcla de la población microbiana ruminal.

En la mezcla de la población microbiana ruminal, el grado en que la proteína microbiana es sintetizada *de novo* varía enormemente dependiendo de la cantidad relativa de energía y nitrógeno para el crecimiento microbiano. Algunos aminoácidos son sintetizados *de novo* en grandes cantidades a partir de otros (Atasoglu *et al.*, 1998). Las bacterias secundarias utilizan como sustrato a los productos terminales de la degradación bacteriana primaria; este grupo incluye a las bacterias que sintetizan el propionato a partir del lactato, las cuales producen parte del propionato, y las bacterias metanógenicas que utilizan hidrógeno (Swenson y Reece., 1999).

6.2.4. Bacterias fibrolíticas

Las bacterias fibrolíticas incluyen: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*, *Butirivibrio fivisolvens* también producen celulasa (Varga y Kolver, 1997). Las bacterias fibrolíticas contribuyen a degradar más rápidamente estructuras digestibles tales como células mesófilas, aunque *F. succinogenes* digiere el parénquima de la vaina, las células epidermales y el esclerénquima de la hoja (Varga y Kolver, 1997). Empero *R. albus* y *R. flavefaciens* son los mayores contribuyentes para la degradación de la fibra en el rumen y se requiere (o es esencial) una firma distintiva

que cubre a estas especies para nuestro conocimiento comparativo de su papel en la ecología ruminal (Krause D. O *et al.*, 1999).

Varias poblaciones microbianas asociadas con las partículas de alimento son estimadas por ser responsables del 88% al 90% de la actividad endoglucanasa ruminal y la xilanasas activa, del 70% de la amilasa activa, y el 75% de la proteasa activa en el rumen (Miron *et al.*, 2001). Por lo tanto varios géneros de bacterias son involucrados en la degradación de la fibra y está es degradada completamente por *Butyrivibrio*, *Fibrobacter* y *Ruminococcus spp.* *Fibrobacter* y *Ruminococcus spp.* son los más fibrolíticos posiblemente relacionado por su habilidad de adhesión a la partícula de alimento, mientras *Butyrivibrio fibrosolvens* es un organismo libre flotante (Krause D. O *et al.*, 1999).

Los resultados sugieren que al inicio de la incubación de las bacterias ruminales está presente el número suficiente de células de estas tres especies celulolíticas para dirigirse a los fragmentos de plantas la unión a la nueva materia vegetal se completa dentro de diez minutos y entonces el crecimiento bacteriano y la acción fibrolítica sigue a *F. succinogenes* que fue el más dominante tanto en la digesta ruminal total como en la suspensión de tallos de heno demostrando la importancia ecológica y funcional de estas especies en la digestión ruminal de la fibra (Koike *et al.*, 2003).

A diferencia de las especies fermentadoras de azúcar de rápido crecimiento (*Streptococcus bovis* o *Selenomonas ruminantium*) la relación de estos productos finales para una especie celulolítica particular, no varía mucho con la velocidad de crecimiento o el pH (Weimer, 1998) por lo que, en principio, controlando la población relativa de estas especies celulolíticas principales, puede permitirnos modificar la relación de AGV's ruminales (Weimer, 1998).

La prolina puede ser formada a partir de glutamato y ornitina, y esta síntesis no es relacionada con la síntesis de otros aminoácidos. El nitrógeno total de la célula es siempre formado *de novo* por un alto grado de aminoácidos. El

glutamato y el aspartato son los aminoácidos más comunes en las bacterias, en consistencia, la existencia de glutamato deshidrogenasa es la principal ruta de asimilación del amoniaco en muchas bacterias ruminales (Atasoglu *et al.*, 1998), además, *Butyrivibrio fibrisolvens* produce butirato a partir de la fermentación primaria y sus productos finales y ha sido bien demostrado principalmente en el rumen de ovejas durante la adaptación a la alimentación con granos (Goad *et al.*, 1998). No está claro el por que la biosíntesis de la prolina debe ser apagada (suspendida) mucho más rápido que para otros aminoácidos (Atasoglu *et al.*, 1998).

La transaminación del oxalacetato y piruvato puede acontecer por un enriquecimiento subsecuente de aspartato y alanina en *S. ruminantium*, *S. bovis*, y en *P. ruminicola* por enriquecimiento de serina y un menor grado de glicina que indican una activa síntesis de 3-fosfoglicerato, involucrando la transaminación de glutamato.

La disponibilidad de aminoácidos preformados suprime en forma más marcada la *novosíntesis* en *S. bovis* que en otras especies. La *P. bryantii* demuestra una clara preferencia por la utilización de péptidos sobre los aminoácidos, mientras *S. ruminantium* y *S. bovis* usan péptidos y aminoácidos simultáneamente. La preferencia de *P. bryantii* por los péptidos, fue reportada por Ling y Armetead, quienes observaron que *P. ruminicola* requiere péptidos para su crecimiento (Atasoglu *et al.*, 1998).

6.2.5. Bacterias celulolíticas.

F. succinogenes interactúa sinérgicamente con bacterias no celulolíticas durante la digestión del forraje (Varga y Kolver, 1997). La competencia microbiana ha sido observada en estudios *in vitro* demostrando que la adhesión de *F. succinogenes* se inhibe por una cantidad limitada de celulosa, cuando las especies de *Ruminococcus* se adhieren en forma simultánea (Miron *et al.*, 2001). Las bacterias celulolíticas se adhieren al substrato por medio del glicocalyx y posiblemente por protuberancias llamadas celulosomas (Varga y Kolver, 1997).

Empero, por medio de evidencias logradas con microscopía electrónica y métodos de inmunohistoquímica se obtuvieron evidencias de la presencia de celulosomas como organelos complejos en *R. albus* (Miron *et al.*, 2001).

La adhesión de tres especies celulolíticas es completamente inhibida por temperaturas debajo de 4°C y la adhesión de *R. albus* y *F. succinogenes* también disminuye en temperaturas superior a los 50°C, y su máxima adhesión se logra entre los 30 y 38°C. El efecto del pH sobre la adhesión a la celulosa de las bacterias celulolíticas, varía de acuerdo a la bacteria (Miron *et al.*, 2001). Las especies celulolíticas ruminales (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flaveciens* y *Ruminococcus albus*), en rangos constantes de 0.5 a 0.10h⁻¹, digieren rápidamente la celulosa (Weimer, 1998). En el rumen, *R. albus* y *R. flavefaciens* son usualmente las especies celulolíticas predominantes, mientras *R. bromii*, *R. callidus*, *Ruminococcus torques*, *Ruminococcus gnavus*, *Ruminococcus lactaris* y *Ruminococcus obeum* son usualmente aisladas del intestino posterior de no rumiantes (Krause D. O *et al.*, 1999).

El *Ruminococcus flavefaciens* (aislado por primera vez por Sijpelsteijn en 1951), crece en cadenas sobre la celobiosa, y es Gram positivo y posee un pigmento amarillo cuando crece sobre la celulosa. *Ruminococcus albus* (aislado por primera vez por Hungate en 1957), no produce el pigmento amarillo, y tiene formas diplocócica sobre la celobiosa y es también Gram positivo (Krause D. O *et al.*, 1999).

El *Clostridium longisporum*, es una bacteria altamente celulolítica que ocasionalmente está presente en el rumen pero que nunca alcanza la abundancia de las especies celulolíticas predominantes, tales como el *F. succinogenes* o el *Ruminococcus* (Weimer, 1998). Las bacterias celulolíticas son más sensitivas al pH bajo, pero las bacterias amilolíticas son más tolerantes (Beharka *et al.*, 1998). Se han encontrado altas concentraciones de bacterias celulolíticas cuando los animales se alimentan con dietas que son una mezcla de

o paja de arroz tratadas con amoníaco y peróxido de hidrógeno (Dehority y Tirabasso, 1998).

Un estudio en un quimiostato con escasez de celulosa, reveló que el metabolismo bacteriano no es tan afectado como con la celobiosa y que el *Clostridium cellulolyticum* parece bien adaptado a un estilo de vida celulolítica. Mientras los efectos de las condiciones ácidas sobre el crecimiento de bacterias celulolíticas en el rumen ha sido el objeto de estudio en considerables investigaciones, el conocimiento es escaso de cómo estas condiciones afectan el metabolismo de *clostridios* celulolíticos (Desvaux M *et al.*, 2001).

Sin embargo, la fermentación de carbohidratos y el perfil de productos finales de *R. flavefaciens* y *R. albus* son igualmente idénticos, únicamente *R. flavefaciens* produce succinato, el cual es uno de los principales productos finales de la fermentación (Krause D. O *et al.*, 1999). Así mismo, el lactato ruminal es utilizado por *Megasphaera elsdenii*, ya que es uno de los principales productores de butirato a partir de lactato, y la producción de butirato puede servir como un electrón debilitado durante la oxidación de lactato a piruvato (Goad *et al.*, 1998).

MacAllan y Smith en 1976 y Hvelplund diez años después 1986 demostraron que es posible la alteración de la composición química de las bacterias ruminales *in vivo* mediante la manipulación de la dieta (Yang *et al.*, 2001).

Kopencny *et al* (2003) aislaron dos nuevas bacterias Gram-negativas, anaerobias, que no forman esporas, y que producen butirato, cuyas cepas, Mz 5T y JK 615T, fueron aisladas del fluido ruminal de vaca y oveja. Ambas cepas comunes en el ecosistema microbiano son bastones curvos que deben su motilidad a un solo flagelo polar o subpolar. La cepa es Mz 5T, utiliza un gran rango de carbohidratos, fermenta la glucosa a formato, butirato, láctato, succinato y etanol. Y fue llamada *Pseudobutirivibrio xylanivorans*. El nombre

propuesto para la cepa JK 615T es *Butyrivibrio hungatei*. La cual no posee actividades fibrolíticas, pero fermenta una gran cantidad de carbohidratos (Kopečný *et al.*, 2003). Ambas cepas se clasifican por sus relaciones filogenéticas con otras bacterias, por ejemplo, con *Clostridium proteoclasticum*, *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Eubacterium halii* para *Butyrivibrio hungatei*, y con *Pseudobutyrvibrio ruminis*, *Butyrivibrio crossotus*, *Roseburia cecicola* y *Eubacterium rectale* para *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* (Kopečný *et al.*, 2003).

Usando un medio que contenía caseína pancreática hidrolizada como única fuente de carbono y energía Wallace *et al* (2003) demostraron la presencia de dos bacterias Gram positivas similares a un bastón que fueron aisladas de una dilución de 10^6 de fluido ruminal de una oveja que recibió una dieta de heno/concentrado. Estas bacterias no fermentan azúcar, pero crecen sobre piruvato o tripticasa, formando caproato como el principal producto de la fermentación y valerato en menor cantidad, aunque utilizan acetato y propionato.

Actualmente se reconocen una serie de manuales de PCR designados y validados para la detección y cuantificación de *Prevotella ruminicola*, *Prevotella albensis*, *Prevotella bryantii*, *Fibrobacter succinogenes*, *Selenomonas ruminantium*, *Mitsuokella multiacida*, *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminobacter amylophilus*, *Eubacterium ruminantium*, *Treponema bryantii*, *Succinivibrio dextrinosolvens*, y *Anaerovibrio lipolytica* (Tajima *et al.*, 2001).

6.3. Los hongos ruminales.

Aproximadamente el 8% de la biomasa microbiana del rumen son hongos (Varga y Kolver, 1997). El alto porcentaje de hongos celulolíticos es probablemente un reflejo del hecho de que casi todas las especies y cepas de hongos del rumen son celulolíticas (Dehority y Tirabasso, 2001). Los hongos ayudan a reducir la fuerza tensil del tejido y suministra sitios de adhesión para el ataque bacteriano (Varga y Kolver, 1997). Incluso se ha sugerido que los

hongos anaerobios tienen una habilidad para penetrar profundamente dentro de los tejidos de la planta que no son normalmente accesibles para las bacterias, sugiriendo que ellos juegan un papel especial en la digestión de la fibra (Lee *et al.*, 2000).

Los hongos tienen un papel importante en la digestión de la fibra por que son capaces de penetrar la cutícula y el tejido lignificado (Varga y Kolver, 1997); (Dehority y Tirabasso, 2000) y que además pueden degradar a los materiales más resistentes de las paredes celulares, incluyendo el esclerénquima y el tejido vascular (Varga y Kolver, 1997). Sin embargo, a pesar de la muy particular habilidad de los hongos para atacar y digerir a las paredes celulares más resistentes de las plantas, su papel e importancia en el proceso total de la fermentación ruminal permanece como la principal pregunta a responder (Dehority y Tirabasso, 2000).

Los hongos degradan cerca del 37 al 50% de la fibra, y las bacterias sólo del 14 al 17% (Varga y Kolver, 1997). La actividad fibrolítica del hongo, la cual incluye actividad celulósica, y hemicelulósica, es aumentada por las bacterias metanogénicas que utilizan hidrógeno (Varga y Kolver, 1997). Incubaciones mixtas de protozoarios y hongos han demostrado que los primeros son capaces tanto de ingerir y digerir hongos. En contrasate, el *Fibrobacter succinogenes* parece tener poco efecto sobre cualquier actividad de los hongos (Dehority y Tirabasso, 2000). Por otra parte, las levaduras son hongos especializados que han perdido la habilidad de formar micelios (Wallace, 1997).

El crecimiento de los hongos ruminales se inhibe marcadamente en cocultivos con bacterias ruminales, sin embargo también pueden proliferar y digerir celulosa purificada, además de la celulosa de la alfalfa. En los hongos, tanto el porcentaje de crecimiento como el porcentaje y grado de digestión de la celulosa son bajos (Dehority y Tirabasso, 2000).

Y se ha sugerido que el término de antibiosis para este tipo de relaciones, que se describe como "una asociación antagónica entre dos microorganismos por el detrimento de uno de ellos". Ésto parece describir correctamente las relaciones observadas entre las bacterias y hongos (Dehority y Tirabasso, 2000).

Los hongos forman a menudo cocultivos totalmente estables con bacterias metanogénicas del rumen lo que tiene como consecuencia en una alta producción de hidrógeno. En general, estos cocultivos producen un incremento en la cantidad de biomasa fungal y exhiben un incremento tanto, en el porcentaje como en el nivel de degradación de celulosa (Dehority, 2000), por lo que, cuando los hongos son removidos del rumen, tanto el consumo de alimento como la digestibilidad de la fibra disminuyen; sin embargo, las bacterias permanecen viables, y las concentraciones de bacterias celulolíticas, o protozoarios ciliados no se afectan (Dehority y Tirabasso, 2000).

A pesar de lo planteado, en una serie de estudios clásicos, Orpin determinó que estos organismos son realmente zoosporas flageladas de hongos anaerobios. Así mismo, las concentraciones de hongos son relativamente bajas en comparación, las de bacterias y protozoarios, y poseen un gran rango de enzimas capaces de hidrolizar muchos polisacáridos estructurales encontrados en las células de la corteza de las plantas (Dehority y Tirabasso, 2000).

Se ha demostrado que en los animales defaunados, se incrementa el número de hongos anaerobios. También se ha demostrado un incremento de zoosporas y zoosporangios de hongos anaerobios en ovejas defaunadas. Así mismo, se ha encontrado incrementos en las poblaciones de hongos en animales defaunados en los cuales, se observó un incremento en la digestión de dietas ricas en fibra. Aunque también se ha reportado únicamente un pequeño incremento de zoosporas de hongos (Lee *et al.*, 2000).

6.4. Los protozoarios ruminales.

Originalmente se creía que los microorganismos flagelados observados, por Liebetanz en 1910 y Braune en 1913 en el contenido ruminal eran protozoarios flagelados (Dehority y Tirabasso, 2000). Los protozoarios representan más del 50% del total de la biomasa microbiana del rumen. Ellos se involucran particularmente en la digestión de la celulosa, almidón y proteínas en el rumen y contribuyen activamente en el control de la población bacteriana y en la formación de productos finales de la fermentación (Nsabimana *et al.*, 2003). Es también conocido que muchos ciliados son habitantes de varios rumiantes, y la fauna de ciliados es diferente entre las especies y/o área de manejo de los animales (Gurung *et al.*, 2002). Del 19 al 28% del total de la actividad celulósica se atribuye a los protozoarios (Varga y Kolver, 1997). Los protozoarios ciliados no están presentes en becerros recién nacidos, a causa del destete temprano (Beharka *et al.*, 1998).

La mayoría de los microorganismos, en especial los protozoarios, son anaerobios estrictos y por consiguiente, sus principales vías de fermentación son la hidrólisis y la oxidación anaeróbica, que incluyen la eliminación de hidrógeno en vez de la adición de oxígeno (Swenson y Reece, 1999). Estos microorganismos, juegan un papel importante en la biodegradación de toxinas de las plantas y micotoxinas y en la regulación de las condiciones ruminales tales como pH y el potencial redox. También se ha demostrado que eliminan ciertos patógenos del tracto digestivo de los rumiantes, protegiéndolos así, de las enfermedades y por lo tanto mejorando la seguridad de los productos comestibles (Nsabimana *et al.*, 2003).

Los diferentes tipos de protozoarios participan con una enzima 1,4-beta-glucanasa endógena en la digestión de la celulosa en el ecosistema ruminal (Lee *et al.*, 2000). Así, el ambiente del rumen tiene una notable necesidad de varias reacciones que acepten hidrógeno para reoxidar coenzimas reducidas, como la reacción $\text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADP} + 2\text{H}^+$. El hidrógeno potencial se libera como

hidrógeno gaseoso sólo en circunstancias excepcionales (Swenson y Reece., 1999), pero la mezcla ruminal de las poblaciones de protozoarios ciliados tiene efecto negativo sobre la utilización del nitrógeno por los rumiantes (Ivan *et al.*, 2000).

Los protozoarios se alimentan de las bacterias y hongos ruminales, de gránulos de almidón y otros materiales de fácil digestión que incluyen probablemente a los ácidos grasos polinsaturados (AGPI), ácido linoleico y linolénico de los alimentos, de nutrientes del medio de cultivo, productos de la fermentación microbiana, y de otros protozoarios, además de partículas pequeñas de alimento son también ingeridas fácilmente por protozoarios (Swenson y Reece., 1999);(Lee *et al.*, 2000).

Los protozoarios son muy sensibles a las condiciones anormales del interior del rumen. La mayoría de ellos están en el saco ruminal dorsal separados en el conjunto flotante del contenido fibroso. Aquí, 1) forman un depósito de proteína microbiana, útil en situaciones de nutrición intermitente; 2) ayudan a evitar una sobreproliferación de bacterias en tiempos de carga de almidón, lo que restringe a los indeseables índices altos de degradación de almidón por bacterias amilolíticas; 3) cuando salen del estómago anterior y se dirigen al tracto gastrointestinal inferior, le proporcionan al rumiante hospedero: a) una mejor calidad de proteínas microbianas; b) pequeñas cantidades de almidón no fermentado y, c) posiblemente, algunos AGPI que de otro modo hubieran sido hidrogenados por las bacterias ruminales, por lo que serían inaccesibles para el rumiante (Swenson y Reece., 1999).

En referencia a los protozoarios, que son mayormente asociados con la fase líquida del contenido ruminal. Los protozoarios del rumen, producen butirato a partir del almidón y pueden explicar parcialmente la elevada proporción de butirato ruminal en novillos adaptados al heno a las 72 h, debido a que éstos tienen más de dos veces el número de protozoarios ruminales totales (Goad *et al.*, 1998). Los hóltricos se han evaluado más sobre el comportamiento, con

relación a los protozoarios principalmente asociados con la fase líquida del contenido ruminal de las diferentes partes del rumen y del retículo (Martin, 1998).

Existen diferencias entre las especies y/o entre los hospederos respecto a los ciliados del rumen, y han sido consideradas estrechamente relacionadas a la filogenia de estos ciliados y sus hospederos, las investigaciones sobre la fauna ciliada ruminal de animales no examinados y su composición con los resultados ya conocidos parecen ofrecer información útil para una discusión más detallada sobre la relación filogenética entre los ciliados ruminales (Gurung *et al.*, 2002).

Otras especies de ciliados (considerados cosmopolitas) han sido encontradas en ganado Cebú (*Bos taurus indicus*) de la india y Sri Lanka tales como: *Entodinium brevispinum*, *E. rectangulatum* forma *rectangulatum*, *D. psittaceum* y *O. quadrivesiculatum*. Las especies de ciliados que más predominan en las cabras de Nepal son *E. parvum*, *E. rectangulatum* F. *rectangulatum* y *E. longinucleatum* F. *longinucleatum*. También los ciliados encontrados en un estudio hecho en cabras de Nepal son similares a los reportados en otras partes del mundo (Gurung *et al.*, 2002).

Imai *et al.*, (2004) también aislaron de renos salvajes y semidomesticados veintiséis especies de ciliados que han sido descritas. Todas las especies de ciliados se han encontrado en los anteriormente descritos, excepto *Entodinium parvum*, el que ha sido extensamente descrito en animales moderadamente domesticados. Además este ciliado es el primero encontrado en renos. Las otras especies de ciliados estudiados, son cuatro, *Entodinium anteronucleatum*, *E. bicornanutum*, *Enoploplastron confluens*, y *Epidinium gigas* los que han sido considerados como característicos de los renos (Imai *et al.*, 2004).

Todas las otras especies de ciliados, incluyendo *E. parvum*, el cual aparece con incidencia relativamente baja fueron comunes con otros rumiantes domésticos como los bovinos y las ovejas, sugiriendo que estas especies

invaden el interior del rumen del reno a partir de los rumiantes domésticos mediante cualquier oportunidad de contacto entre ellos (Imai *et al.*, 2004).

7. Colonización de los alimentos por los microorganismos ruminales.

En los animales la digestión de la fibra (lignocelulosa) es un proceso anaerobio y usualmente tiene lugar en el rumen o en el intestino posterior (ciego) (Krause D. O *et al.*, 1999). La fibra es la estructura que les da fuerza y rigidez a las plantas y es el componente principal de los tallos de gramíneas y otros vegetales (Wattiaux y Howard, 2001). Debido a la cubierta impermeable de la mayoría de las superficies vegetales, los microorganismos pueden fermentar sólo después de entrar en la planta por los poros de la hoja y los extremos rotos, de aquí la importancia de la masticación del alimento y el bolo de la rumia (Swenson y Reece., 1999). Por lo tanto, la contribución relativa de las fracciones microbianas del proceso total de la digestión de la corteza celular es en el siguiente orden: hongos, bacterias, protozoarios (Lee *et al.*, 2000).

Aunque se ha observado que los protozoarios actúan durante las primeras horas después de la alimentación, al atacar la ingesta fresca de las partículas encontradas en el SD (saco dorsal), las bacterias se adhieren sobre partículas pequeñas en las partes bajas del rumen y son más activas mucho tiempo después de la alimentación (Martin *et al.*, 1999).

Un poco de oxígeno atrapado entra con el alimento y el agua y algo de oxígeno se difunde a través de la pared del estómago anterior, pero las especies de bacterias anaerobias facultativas lo utilizan rápidamente (Swenson y Reece., 1999).

Las bacterias celulolíticas se adhieren al substrato por medio del glicocalyx y posiblemente por las protuberancias llamadas celulosomas (Varga y Kolver, 1997). Sin embargo, los estudios realizados sobre las interacciones entre hongos anaerobios y bacterias celulolíticas del rumen, en las bacterias se ha observado la capacidad de inhibir la habilidad de los hongos para hidrolizar

celulosa. La inhibición se debe una proteína extracelular producida por bacterias celulolíticas que tiene la capacidad de inhibir la actividad de los hongos (Lee *et al.*, 2000). Para monitorear la velocidad y la extensión de la unión a la fibra por las bacterias celulolíticas ruminales, representativas mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se incubaron en el rumen de tres ovejas fistuladas tallos de heno de zacate colocado en bolsas (Koike *et al.*, 2003).

8. Actividad ruminal fermentativa.

La actividad ruminal incluye; contracción ruminal, rumia, presión ruminal, síntesis de proteína microbiana en el rumen (Quigley, 1998c). Los rumiantes tienen la habilidad de utilizar la celulosa de los forrajes. En adición a la fermentación de la celulosa, la función del rumen también produce una gran cantidad de proteínas bacterianas que pueden ser digeridas y absorbidas por el rumiante (Quigley, 1998a).

La rumia reduce el tamaño de las partículas de fibra y expone los azúcares a la fermentación microbiana (Wattiaux y Howard, 2001). Cuando una vaca mastica de 6 a 8 horas la vaca produce de 160 a 180 litros de saliva por día, pero menos de 30 a 50 litros de saliva si el rumen no se estimula (demasiado concentrado en la dieta) (Wattiaux y Howard, 2001). Por otra parte los amortiguadores en la saliva (bicarbonato y fosfato) neutralizan a los ácidos producidos por la fermentación microbiana, manteniendo una acidez neutral que favorece la digestión de fibra y el crecimiento de microbios en el rumen (Wattiaux y Howard, 2001).

8.1. Fermentación microbiana.

La figura 2 es un esquema simplificado de las principales vías de fermentación. Por conveniencia, la fermentación se considera como las primeras tres etapas de un proceso microbiano de cuatro etapas. La primera etapa incluye la hidrólisis de los polisacáridos vegetales en sus componentes monosacárido y posteriormente, la conversión de estos en fructosa-1-6-

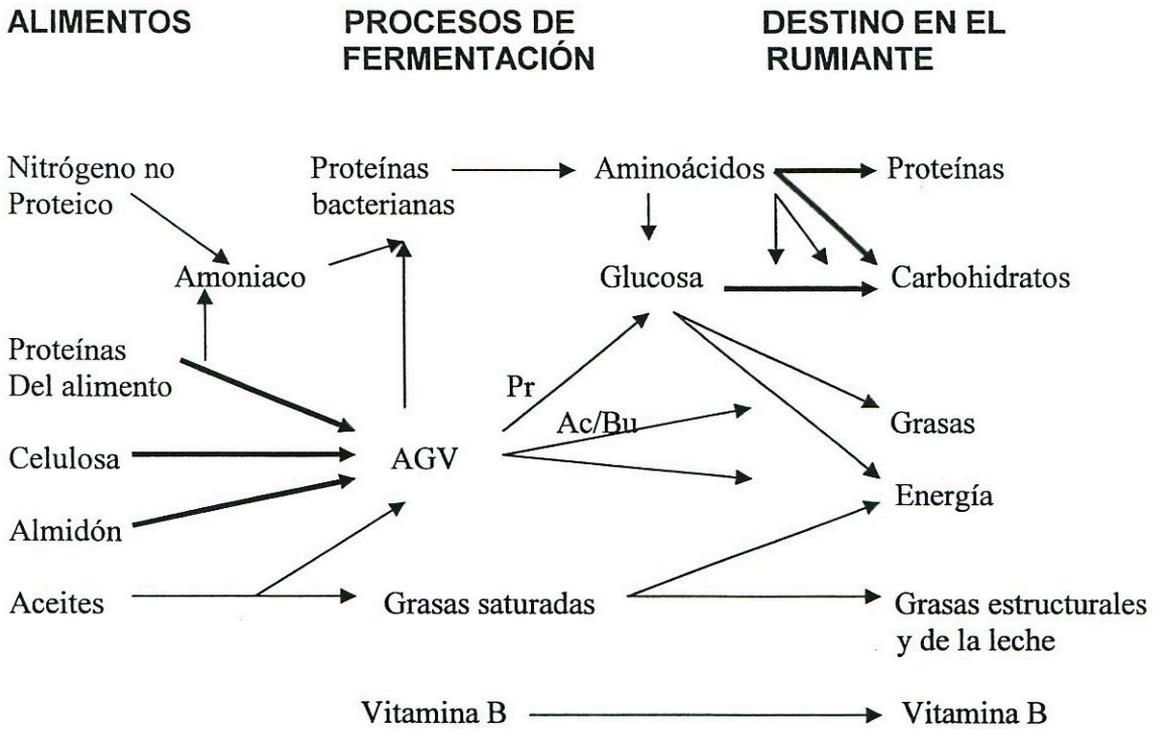


Figura 3. Resumen de la fermentación y el destino de los principales componentes del alimento de los rumiantes. Los principales ácidos grasos volátiles (AGV's) son los ácidos acéticos (Ac), propionico (Pr) y butírico (Bu).

La fermentación microbiana produce (1) ácidos grasos volátiles (AGV's) como producto final de la fermentación de celulosa y hemicelulosa y otros azúcares y (2) una masa de microbios con proteína de alta calidad (Wattiaux y Howard, 2001). Durante la fermentación se producen hasta 1,000 litros de gases cada día que se eliminan a través del eructo (Wattiaux y Howard, 2001). El grado en que el amoníaco se usa para la síntesis de proteínas tiene implicaciones importantes para la eficiencia de la fermentación ruminal (Atasoglu *et al.*, 1998).

El valerato es uno de los endoproductos de la fermentación ruminal a partir del catabolismo de la lisina y arginina y ambos aminoácidos contienen dos grupos amino. Estos aminoácidos pueden ser preferentemente desaminados cuando el nitrógeno amoniacal está limitado porque ellos tienen un gran

potencial para generar nitrógeno amoniacal (Griswold *et al.*, 2003). Empero, la desaminación de aminoácidos en el rumen conduce a la pérdida de NH_3 a través de las paredes del rumen, lo que es una de las mayores causas de la ineficiente retención de nitrógeno en los rumiantes (Eschenlauer *et al.*, 2002). Así mismo, la actividad de desaminación está significativamente disminuida cuando el *Isotricha spp* es el único protozooario ciliado presente en el rumen (Ivan *et al.*, 2000).

8.2. Proteína microbiana.

La proteína microbiana consiste de líquido ruminal (Desvaux M *et al.*, 2001) y la asociación partícula bacteria (Eschenlauer *et al.*, 2002), y protozoarios (Korhonen, 2002). La proteína metabolizable consiste de proteína microbiana sintetizada en el rumen, proteína de la dieta que escapa a la degradación ruminal y proteína endógena (Oba y Allen, 2003). Además la proteína cruda microbiana (PCB) suministra de 59 al 81% del total de la proteína verdadera que entra al duodeno de la vaca lechera (Mabjeesh *et al.*, 1997).

No es de esperar que la proteína microbiana es la que tiene un impacto más importante en ambas cantidad y calidad de proteína metabolizable absorbida en el intestino delgado (Oba y Allen, 2003). La contribución de alguna fracción del total de la circulación microbiana y diferencias en aminoácidos y marcadas concentraciones entre las asociaciones microbianas son afectadas por la dieta (Korhonen *et al.*, 2002). En los rumiantes, la cantidad de aminoácidos disponibles por absorción se determina por la cantidad sintetizada por los microorganismos en el rumen, la cantidad de proteína sin degradar en la dieta y la proteína de sobrepaso que llega hasta el duodeno (Ahvenjarvi *et al.*, 2002).

En años recientes debido a que suplementan tanto a la proteína microbiana como a la proteína de la dieta, se han desarrollado un sin número de sistemas de proteínas metabolizables (Ahvenjarvi *et al.*, 2002), sin embargo, la proteína microbiana es altamente digestible en el intestino delgado y este perfil

de aminoácidos es semejante al que los rumiantes requieren (Oba y Allen, 2003). Se considera a los aminoácidos esenciales metionina y lisina como los más importantes en muchas raciones alimenticias para la producción de leche y de proteína láctea. Sin embargo, la proteína cruda microbiana (PCB) es rica en aminoácidos esenciales (Mabjeesh *et al.*, 1997).

Las proteínas de los alimentos se degradan por los microorganismos del rumen vía aminoácidos, para formar amoníaco y ácidos orgánicos (Group Digital Quantum, 2000). Más aún según la digestibilidad de la dieta, la síntesis de proteína bacteriana puede variar entre 400 gr/día a aproximadamente 1500gr/día (Group Digital Quantum, 2000) y se considera que los carbohidratos y las proteínas son los dos factores nutricionales que mas probablemente limitan a la síntesis de proteína microbiana en el rumen (Shabi *et al.*, 2000). Otra hipótesis sugiere que las dietas altas en proteína degradable en rumen (PDR) pueden proveer de nitrógeno péptidico para optimizar el crecimiento microbiano y mantener los niveles de NH_3 en rumen alrededor de 5 mg/dl, pero una cantidad baja de proteína degradable en rumen (PDR) en forma de urea puede limitar el nitrógeno péptidico, y al reducir la PDR sin urea, se puede limitar a ambos (Griswold *et al.*, 2003).

La suplementación de las dietas con ensilaje de cebada disminuye la proporción molar de acetato y propionato e incrementa el butírate (Ahvenjarvi *et al.*, 2002). Conociendo la proporción de proteína de paso libre, las bacterias, los protozoarios y la PC endógena que pasan al duodeno, se puede aumentar nuestra comprensión de los efectos de la dieta sobre la síntesis de proteína microbiana, y mejorar nuestra habilidad para manipular el perfil de aminoácidos de la proteína circulante en el rumen y el retículo (Shabi *et al.*, 2000).

Aproximadamente el 60% de los aminoácidos absorbidos en el intestino delgado se derivan de la proteína bacteriana y el 40% restante de la proteína no degradada en el rumen. (Group Digital Quantum, 2000). Las proteínas bacterianas producidas en el rumen se digieren en el intestino delgado y

constituyen la principal fuente de aminoácidos para los bovinos (Wattiaux y Howard, 2001). Las proteínas bacterianas contienen una gran cantidad de aminoácidos esenciales y son una fuente excelente de proteínas para el animal (Quigley, 1998d). La suplementación de las dietas con altas cantidades de ensilaje de zacate y con cebada incrementan la síntesis de proteína microbiana, mientras la suplementación con harina de semilla de algodón resulta en un gran suministro de proteína no degradable en el rumen. Sin embargo todos los sistemas utilizados en la formulación de dietas para rumiantes predicen el suministro microbiano con base en el suministro de energía fermentable, asumiendo una eficacia energética constante en la síntesis proteína microbiana. (Ahvenjarvi *et al.*, 2002).

De acuerdo a lo anterior, pueden surgir dos escenarios para el ganado que consume grandes cantidades de carbohidratos no estructurales y proteína degradable en rumen: 1) la rápida velocidad de pasaje ruminal descendiendo los péptidos ruminales, los aminoácidos, y las concentraciones de NH_3 e incrementando la circulación de proteína ruminal sin degradar (PRSD); o 2) los péptidos son rápidamente metabolizados por bacterias que degradan carbohidratos no estructurales, limitando el NH_3 para bacterias fibrodegradadoras (Griswold *et al.*, 2003). No obstante, la eficiencia óptima se logra por la sincronización y la fermentación de PC en el rumen, a través de la estimulación del crecimiento bacteriano y la estabilización de la fermentación ruminal (Mabjeesh *et al.*, 1997). Sin embargo, las concentraciones ruminales de NH_3 son bajas cuando los rumiantes reciben ionoforos en la dieta, por lo que se deduce que las nuevas especies de hongos son fuente de una significativa producción de NH_3 *in vivo* (Eschenlauer *et al.*, 2002).

Las dietas para vacas lecheras que contienen altas concentraciones de carbohidratos no estructurales y de proteína degradable ruminalmente (13.7 y 38% en MS, respectivamente), no exhiben una alta eficiencia en la síntesis de PC microbiana o en la producción de PC microbiana comparada con vacas que

fueron alimentadas con bajas concentraciones de estos componentes. Por lo que, esto es importante para maximizar el crecimiento microbiano, para lograr una utilización más eficiente de los nutrientes existentes suministrados al hospedero animal y para incrementar la circulación de proteína cruda bacteriana (PCB) al duodeno (Mabjeesh *et al.*, 1997). Shabi *et al.*, (2000) informan que al revisar los efectos de 152 tratamientos dietarios, la PC microbiana suministra un promedio de 59% (en un rango de 34 a 89%) del nitrógeno no amoniacal que pasa al duodeno.

El conocimiento de la distribución y composición de las bacterias ruminales es afectada por las necesidades dietéticas del bovino al ser incorporado dentro de modelos mecanísticos de la fermentación ruminal para mejorar la predicción de síntesis de proteína microbiana del ganado lechero. Además las interacciones de factores dietéticos sobre la composición bacteriana y colonización o síntesis de proteína microbiana ha sido también notificada (Yang *et al.*, 2001).

Lo que probablemente este correlacionado con el porcentaje de pasaje de la partícula la que está representada por el almidón y la fibra neutro detergente (FND) indigestible, probablemente por sufrir una reducción brusca de la proteína microbiana en el rumen (Voelker y Allen, 2003).

8.2.1. La urea en los rumiantes.

Los compuestos de nitrógeno no-proteico (NNP) no pueden ser utilizados por los animales no rumiantes, pero las bacterias del rumen los utilizan como precursores para la síntesis de proteína (Wattiaux y Howard, 2001).

La habilidad para transferir urea de la sangre al tracto gastrointestinal es común en muchas especies de mamíferos, pero en rumiantes, el suplemento de nitrógeno puede suplir a los microorganismos ruminales y por lo tanto proporcionar al hospedero con aminoácidos (Marini y Van Amburgh, 2003). Sin embargo, el descubrimiento de transportadores de urea (TU) en el tracto

intestinal de rumiantes puede ser el mecanismo responsable del incremento en la transferencia de urea dentro del tracto intestinal (Marini y Van Amburgh, 2003).

Las bacterias pueden utilizar amoníaco o urea como fuentes de nitrógeno para producir aminoácidos (Wattiaux y Howard, 2001). La flora microbiana necesita como mínimo 1.0 % de nitrógeno en la dieta para que exista una digestión adecuada de la fibra (Araque, 2001).

La urea es una fuente de nitrógeno para los rumiantes. Sin embargo, su uso depende de la habilidad de la flora microbiana del rumen para incorporarla en la formación de sus propios tejidos (Araque, 2001). Cambios fisiológicos, tales como la reducción en la filtración del plasma en el riñón y un incremento en la reabsorción de urea en la parte interior inicial de los conductos colectores de la médula del riñón ha sido reportada de animales que consumieron dietas bajas en urea, salvaguardando así la excreción de ésta (Marini y Van Amburgh, 2003).

El incremento en la digestión de nitrógeno con infusión de urea causa elevaciones en el nitrógeno amoniacal, en el nitrógeno uréico soluble en ácido tricloroacético, y en el nitrógeno proteico soluble (Griswold *et al.*, 2003).

Cuando el rumiante consume urea, ésta se hidroliza principalmente en amoníaco y anhídrido carbónico mediante la enzima *ureasa*, la cual es producida por ciertas bacterias (Araque, 2001).

El amoníaco liberado en el rumen, se combina con los cetoácidos, que a su vez se incorporan a la proteína bacteriana (Araque, 2001). Para que exista la síntesis de proteína microbiana en el rumen, es necesaria una relación propicia entre la cantidad de nitrógeno amoniacal y los compuestos energéticos que se encuentran en la dieta (cereales, melaza, almidón) como fuente energética para los microorganismos del rumen y así poder utilizar eficientemente el amoníaco en la síntesis de aminoácidos (Araque, 2001).

El nivel de urea administrado en la dieta se basó en los niveles fisiológicos encontrados en la saliva de rumiantes, y la administración de urea en la saliva

artificial incrementó el nitrógeno potencial total disponible en los tratamientos en aproximadamente un 35 a un 44% (Griswold *et al.*, 2003). Empero, en animales en crecimiento, se reporta que del 13 al 15% de la urea que entra se excreta en la orina mientras que en animales viejos, el porcentaje va del 67 al 74% (Marini y Van Amburgh, 2003).

8.3. Ácidos grasos volátiles (agv).

El rumiante absorbe AGV's (en su mayor parte por las paredes del rumen) y digiere proteínas, lípidos, y carbohidratos constituyentes de los microbios y residuos de alimentos que pasan al intestino delgado para suplir y mantener las necesidades para la producción de carne y leche (Miron *et al.*, 2001). Los productos finales de la fermentación (ácidos grasos volátiles), que el rumiante absorbe y utiliza como sus principales sustratos metabólicos, son muy diferentes de los productos terminales de la digestión (glucosa, etc) en los no rumiantes (Swenson y Reece., 1999; Wattiaux y Howard, 2001).

Los AGV's son absorbidos a través de la pared del rumen y se utilizan como la fuente principal de energía para la vaca y como precursores de la grasa de la leche (triglicéridos) y azúcares de la leche (lactosa) (Wattiaux y Howard, 2001). Cuando los granos empiezan a fermentarse en el rumen, algunos de los principales productos finales de la digestión son el ácido propiónico y el ácido butírico. Los forrajes son digeridos para formar principalmente otro tipo de ácido graso volátil: el ácido acético (Heinrichs, 1999). Además en función del pH los AGV's se disocian totalmente y no en forma parcial y por consiguiente, los términos ácido acético y acetato son intercambiables (Swenson y Reece., 1999).

El ácido butírico producido en el rumen por los microorganismos se absorbe a través de las paredes ruminales como parte del metabolismo normal del rumen. Así, el ácido butírico proporciona energía para la pared ruminal y esta energía propicia el crecimiento y desarrollo de este órgano de fermentación (Heinrichs, 1999). La adición de grasa suplementaria a vacas en lactancia se

puede hacer sin efectos negativos sobre la proporción de los AGV's ruminales mediante la sustitución del concentrado o del forraje, (Plascencia *et al.*, 1999).

Los microbios fermentan glucosa y producen AGV's como productos finales de la fermentación para obtener la energía para crecer (Wattiaux y Howard, 2001). Por ejemplo, *Propionibacterium* puede tener efectos semejantes ya que esta bacteria convierte lactato y glucosa a acetato y propionato (Ghorbani *et al.*, 2002), además, debido a que las proporciones de bacterias ácido productoras y fermentadoras en el rumen de animales adaptados a dietas altas en heno o altas en grano son diferentes, la respuesta potencial y los cambios ruminales por una sobrealimentación serán diferentes en estos animales (Goad *et al.*, 1998); Eun *et al.*, (2004a) recientemente evaluaron las concentraciones de AGV's determinando que no son afectados por las dietas. Cinco dietas fueron probadas: 1) heno de pasto gama sin maíz, 2) ensilaje de pasto gama sin maíz, 3) ensilaje más poco maíz, 4) ensilaje más medio de maíz y 5) ensilaje más alta cantidad maíz.

En los estudios realizados por Eun *et al.*, (2004b) encontraron que la concentración total de AGV's no son afectados por la dieta y que la adición de maíz disminuyó linealmente la proporción molar de acetato mientras que en contraste, la concentración molar de propionato se redujo en la dieta con poco maíz. La suplementación de maíz incrementó proporcionalmente la producción molar de butirato y la relación acetato más butirato a propionato fue mayor en los cultivos con bajo maíz. Sin embargo, Eun *et al.*, (2004b) observaron que al aumentar las tasa de dilución se incrementa la producción microbiana y al aumentar la proporción de concentrado, aumenta la eficiencia microbiana.

8.3.1. Grasas protegidas y su Función.

Las grasas protegidas se utilizan para aumentar el consumo diario de grasas por parte del rumiante. El rumen puede tolerar un incremento en las cantidades de grasas saturadas si se administran con frecuencia durante el día; siendo la cantidad normal de 650 grs (Gil, 2001). Las grasas protegidas

permanecen inertes en el rumen y sin embargo, son totalmente digeribles en el tracto inferior.

9. Digestión microbiana.

La degradación biológica de materiales celulósicos es importante en pantanos, sedimentos, compostas y tratamientos residuales anaeróbicos, y en el tracto intestinal de animales hervíboros e insectos (Desvaux M *et al.*, 2001), proceso complejo que involucra la adhesión de microorganismos a la celulosa de las células, la hidrólisis de la celulosa, y la fermentación resultando en las celodextrinas, AGV's, metano y CO₂ (Mouriño *et al.*, 2001).

En los pastos el soporte físico de tallos y hojas lo proporcionan las paredes gruesas que envuelven a cada célula y que están compuestas de carbohidratos, celulosa y compuestos relacionados, algunos de los cuales son reemplazados al envejecer por la lignina (Swenson y Reece., 1999). La celobiosa, uno de los mayores productos de degradación de la celulosa, puede ser metabolizada por muchas especies de bacterias ruminales celulolíticas y no celulolíticas (Kajikawa y Masaki, 1999). Solamente los microorganismos (bacterias, hongos y protozoarios) y unos pocos invertebrados pueden digerir la celulosa y, con gran dificultad, la lignina. Los ungulados han establecido una relación simbiótica con ciertos microorganismos adecuados mediante la aparición de estructuras anatómicas que funcionan como cámaras de fermentación (Swenson y Reece., 1999).

El proceso de digestión comienza con la asociación del microbio con un alimento en particular el ataque al suministro ocurre también con el proceso de adhesión vía complejo de proteína llamada adhesina, la adhesión en seguida por una colonización microbiana sucesiva (Varga y Kolver, 1997). Así mismo, se ha demostrado que los protozoarios digieren del 25 al 30% del total de la fibra (Lee *et al.*, 2000).

Los carbohidratos estructurales de las plantas son los mayores aportadores para el requerimiento de energía de los rumiantes (Weimer, 1998). Así pues, los rumiantes pueden utilizar carbohidratos estructurales de los tejidos de las plantas, incluyendo celulosa y hemicelulosa, por la actividad microbiana en el rumen. Así mismo, estos componentes no pueden ser degradados por las enzimas digestivas de los mamíferos (Kajikawa y Masaki, 1999). Como la celulosa es el principal componente de la fibra y es fácilmente disponible en forma purificada, ya que se han realizado mayores estudios sobre la degradación de ésta, que los demás polisacáridos de las plantas (Weimer, 1998).

Hay muchos reportes sobre los sistemas de transporte de carbohidratos de algunas especie de bacterias ruminales, pero únicamente unas pocas especies (por ejemplo., *Fibrobacter succinigenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Streptococcus bovis*) han sido estudiadas con relación al transporte de celobiosa (Kajikawa y Masaki, 1999).

Las bacterias ruminales poseen enzimas hidrolíticas, incluyendo la celulasa y la hemicelulasa. Los hongos anaerobios también poseen un amplio rango de enzimas fibrolíticas; incluyendo celulasas y xylasas. Los protozoarios también poseen celulasas, xylasas y un amplio rango de glucosidasas (Varga y Kolver, 1997). Ivan *et al.*, (2000) manifiestan que los ciliados holótricos (*Isotricha* y *Dasytricha spp*) afectan muy poco a los suplementos alimenticios, mientras que *Entodinium spp.* parece ser el más destructivo de la alimentación proteica del hospedero rumiante es considerada. Así cinco miligramos por decilitro de amoniaco ruminal, se consideran necesarios para una adecuada digestibilidad de la fibra.

Sin embargo, las bacterias hemicelulolíticas pueden ser capaces de competir efectivamente con bacterias que digieren carbohidratos no estructurales por aminoácidos nitrogenados en el rumen, y el amoniaco ruminal puede ser únicamente necesario para mantener a las bacterias celulolíticas (Griswold *et al.*, 2003).

En las bacterias ruminales se considera al transporte de celobiosa como energéticamente más eficiente que el transporte de glucosa. Mientras el consumo de la celobiosa esta inhibido por la glucosa. Los efectos inhibidores de la glucosa sobre el transporte de celobiosa también se ha demostrado en *R. flavefaciens*, pero a parte de la glucosa, otras azúcares inhiben de cualquier modo, el consumo de celobiosa, así mismo, la sacarosa y la maltosa inhiben en varias bacterias ruminales no celulolíticas la utilización de celobiosa por mecanismos reguladores de catabolitos (Kajikawa y Masaki, 1999). Mas sin embargo, la colonización bacteriana de las partículas en el rumen es un prerequisite importante para la degradación de la fibra y también está probablemente correlacionado para que las bacterias lleguen hasta el duodeno (Yang *et al.*, 2001). Los datos sugieren que el efecto negativo asociado sobre la digestibilidad de la fibra puede ser atribuido a varios factores, incluyendo las características ruminales, el tiempo de retención de las partículas, y la actividad microbiana (Michalet-Doreau *et al.*, 2002).

9.1. Factores que regulan la digestión.

En los rumiantes existen cuatro factores que regulan la digestión de la fibra:

- 1) la estructura y composición de la planta, que regula el acceso bacteriano a los nutrientes.
- 2) la naturaleza de la densidad poblacional de microorganismos predominantes de acuerdo a la digestión de la planta.
- 3) los factores microbianos que controlan la adhesión y la hidrólisis por enzimas hidrolíticas complejas y,
- 4) el factor animal, que incrementa la habilidad de los nutrientes a través de la masticación, la salivación y la cinética de la digestión (Varga y Kolver, 1997)

Para el proceso de la digestión, los microorganismos frecuentemente deben penetrar las barreras resistentes tales como la serosa epicuticular y la cutícula que pueden restringir el ataque enzimático (Varga y Kolver, 1997). El sílice y los taninos de los forrajes tienen capas adicionales de material recalcitrante a la penetración de los microorganismos (Varga y Kolver, 1997). En otras palabras, la digestión de la celulosa es limitada no solamente por la población o por la actividad de los microorganismos celulolíticos, sino más bien por la cantidad proveniente de la celulosa que es atacada por los microbios (Weimer, 1998). A su vez, el pasaje de alimento fibroso en el rumen y retículo es lento desde que es consumido hasta el intestino, y éstos a su vez son expuestos por un extenso periodo de tiempo a las actividades de los microorganismos fibrolíticos (Martin *et al.*, 1999).

Debido a que la digestión de la celulosa en el rumen no está al parecer limitada por la densidad o actividad de las especies celulolíticas nativas, es improbable que una cepa "hipercelulolítica" genéticamente diseñada pueda competir efectivamente con las poblaciones celulolíticas nativas debido a la cantidad limitada de celulosa disponible (Weimer, 1998), debido a que la celulosa y la hemicelulosa de las plantas son las fuentes más abundantes de carbón y energía en el rumen, las hidrolasas glicosiladas (HGs) de estos organismos deben tener un papel importante en su homeostasis (García-Vallve *et al.*, 2000).

Dehority y Tirabasso, (1998) mencionan los factores asociados con el forraje en sí, o con la tasa de hidrólisis de la celulosa por la celulasa, pueden tener una influencia mayor sobre la cantidad de celulosa digerida en el rumen. La concentración de bacterias celulolíticas en el rumen se incrementa cuando se alimentan con una dieta que contiene 55 a 65% de celulosa purificada; sin embargo, el pH ruminal tiene una marcada caída (Dehority y Tirabasso, 1998). Y es necesario recordar que la digestión ruminal de la fibra se inhibe por un pH

bajo, considerándose un pH menor de 5.9 como mínimo para el crecimiento (Rusell and Dombrowski, 1980) (Weimer, 1998).

El diseño de una bacteria con funciones celulolíticas y que además tolere un pH bajo (por ejemplo, *Prevotella ruminicola*) puede proporcionar una ruta para aumentar la digestión de la fibra bajo condiciones ácidas. Así como un organismo no puede ser diseñado para digerir la celulosa tan rápidamente como las especies celulolíticas predominantemente especialistas a un pH > de 6, pero puede ser hábil para crecer a un pH menor por la degradación de las partículas de fibra accesibles (no colonizadas) (Weimer, 1998).

9.2. Tamaño de la partícula.

En los rumiantes, la digestión de la fibra ocurre principalmente en el rumen, pero también en el ciego, especialmente cuando la digestión en los preestómagos es limitada (Martin *et al.*, 1999). El tamaño de la partícula es un factor determinante en el pasaje de la partícula; por lo tanto, el rompimiento de la partícula grande juega un papel importante en el control del pasaje de la partícula (Martin *et al.*, 1999). Las dietas que consisten en forraje largo, proporcionan un impulso positivo al sistema como resultado de las consecuencias refleja de masticar inicialmente el material ingerido y después el bolo de la rumia. Las consecuencias incluyen aumentos en la salivación, en la motilidad retículo-ruminal, en el eructo, en la rumia, en el llenado omasal, abomasal y en menor grado, en el duodenal (Swenson y Reece., 1999).

Las partículas más grandes y de baja densidad se encuentran en el saco dorsal, mientras las partículas pequeñas y densas se presentan en la parte ventral del rumen (Martin *et al.*, 1999), por eso, el insuficiente tamaño de las partículas disminuye la relación acetato-propionato y el pH, lo cual tiene como consecuencia una disminución de la grasa en la leche. Al reducir el tamaño de las partículas del forraje se provoca un consumo bajo y se ocasiona una tendencia a disminuir el pH ruminal (Heinrichs, 1997).

La reducción en el tamaño de la partícula disminuyen el consumo de materia seca y bajan la digestibilidad y el tiempo de retención en el rumen (Heinrichs, 1997). En raciones para vacas lecheras altas productoras el tamaño de las partículas grandes es de más de 0.75 pulgadas y constituyen del 6 al 10% de la dieta, las medianas del 3 al 50% y las chicas o pequeñas del 40 al 60% (Heinrichs, 1997). Las razones para una alta colonización microbiana de las partículas finas no son claras. Este fenómeno no se explica totalmente solo por la longitud de la partícula y el incremento del área superficial, debido a que la colonización microbiana no se incrementa progresivamente con la reducción de la longitud de la partícula (Yang *et al.*, 2001).

Las partículas grandes deben medir 0.75 pulgadas, y las medianas menos de 0.75 a no menos de 0.31 pulgadas, y las chicas menos de 0.31 pulgadas (Heinrichs, 1997). La alta colonización bacteriana de partículas de alimento puede incrementar el volumen de bacterias que salen del rumen (Yang *et al.*, 2001).

10. La metanogénesis en los bovinos.

El ecosistema microbiano de los preestómagos de los rumiantes está compuesto por una compleja comunidad anaeróbica de bacterias, protozoarios, hongos y arqueobacterias metanogénicas (Miller y Wolin, 2001). Sin embargo, se han aislado varias especies de metanógenas de los rumiantes, pero pocas han sido consistentemente encontradas en grandes cantidades y es probable que las principales especies metanógenas ruminales estén aún por ser identificadas (Whitford *et al.*, 2001b). En el rumen, las bacterias metanogénicas utilizan hidrógeno (Asanuma *et al.*, 1999) y reducen dióxido de carbono (Ghorbani *et al.*, 2002) para formar metano (Miller y Wolin, 2001) cuya reacción química es: $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ (Le Van *et al.*, 1998). El metano se eructa hacia la atmósfera y representa una pérdida del 6 al 13% de la energía de la alimentación del animal (Miller y Wolin, 2001), además de que el metano eructado por los

rumiantes contribuye en gran medida al efecto invernadero y al calentamiento global (Asanuma *et al.*, 1999). Teóricamente, la metenogénesis puede ser reducida por una disminución en la producción de H₂ y formato, los principales sustratos para formar metano. El fumarato actúa como un aceptor de electrones en una mezcla de microorganismos incubados *in vitro*, aunque no se ha demostrado la reducción en la producción de metano. El fumarato es un intermediario en la formación de propionato (vía succinato), y el propionato es una sustancia glucogénica importante en la nutrición de los animales hospederos (Asanuma *et al.*, 1999).

Una novedosa aproximación es el involucramiento de la acetogénesis reductiva. Las bacterias acetogénicas reductivas reducen por oxidación de H₂ a 2 mol de CO₂ a acetato cuya reacción química es: $2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$. A su vez, la transformación del (metano) CH₄ eructado a acetato por bacterias acetogénicas consumidoras de H₂/CO₂ pueden potencialmente aumentar la eficiencia energética de los rumiantes y disminuir las emisiones de metano (Le Van *et al.*, 1998). Se ha demostrado la presencia de H₂/CO₂ utilizado por las bacterias acetogénicas en el rumen. La *Acetitomaculum ruminis* produce acetato vía heterotrófica para formar, por ejemplo, glucosa y ácido ferúlico y vía autotrófica para formar formatato, monóxido de carbono (CO) y H₂/CO₂. Sin embargo, las bacterias acetogénicas reductivas habitantes del ecosistema ruminal tienen una insignificante actividad endógena en el consumo de H₂/CO₂. (Le Van *et al.*, 1998).

Por consiguiente las metanógenas son las únicas Arqueobacterias en el rumen. Las metanógenas y otras Arqueobacterias tienen una membrana única de lípidos que contiene glicerol unido por eslabones de éter a grandes cadenas de alcoholes isoprenoicos (Miller y Wolin, 2001). (Whitford *et al.*, 2001b) describen a las metanógenas como miembros del dominio de las Arqueobacterias, que caen dentro del reino Eucariota. Estas bacterias son anaerobias obligadas y pueden ser ambiguamente diferenciadas de otros

organismos aunque todas producen metano como principal producto del catabolismo, así mismo, las metanógenas son frecuentemente encontradas en asociación con protozoarios (Whitford *et al.*, 2001b).

Los antibióticos ionóforos son usados en las dietas para reducir la falta de energía asociada con la metanogénesis en el rumen (Martin, 1998). En un intento para reducir la metanogénesis, la adición de químicos, tales como los compuestos de halógeno y los ionóforos, han tenido éxito, los ionoforos, tales como monensin y el lasalocid, han tenido un uso exitoso en la práctica (Asanuma *et al.*, 1999). La reducción en la producción de hidrógeno disminuye la metanogénesis ruminal y aumenta la utilización del alimento al incrementar la cantidad de energía metabolizable disponible para el animal, en forma de propionato (Martin, 1998). El uso de fumarato y malato como aditivos alimenticios puede reducir la metanogénesis e incrementar la producción de propionato ruminal. La estimulación del crecimiento de bacterias que utilizan fumarato, tales como *F. succinogenes*, *Selenomonas spp.*, *V. parvula*, y *W. succinogenes*, promueven la reducción de la metanogénesis por superar a las metanógenas en competición por H₂ y formato. Otra posibilidad para reducir la metanogénesis es incrementar la utilización de H₂ y formato por otros organismos no metanógenos (Asanuma *et al.*, 1999).

Asanuma *et al.*, (1999) utilizaron fumarato de una mezcla bacteriana pero no de una mezcla de protozoarios fumarato se utilizó por una mezcla de bacterias pero no por la mezcla de protozoarios. Sin embargo, *Fibrobacter succinogenes*, *Selenomonas ruminantium spp. ruminantium*, *Selenomonas ruminantium spp. lactilytica*, *Veillonella parvula*, y *Wollinella succinogenes* oxidaron H₂ usando al formato como el aceptor de electrones final, resultados que sugieren que estas bacterias compiten con las metanógenas por el H₂, el cual es el principal sustrato ruminal para la metanogénesis.

La coexistencia de bacterias metanogénicas y acetogénicas reductivas en el rumen sugiere que las acetógenas crecen sobre sustratos diferentes al H₂ y

el CO₂ (por ejemplo, sustratos no competitivos tales como componentes orgánicos) *in situ*, o que hay una abundancia de sustratos en el rumen competitivos (por ejemplo, H₂) debido a las fluctuaciones diurnas de H₂ y/o a la yuxtaposición entre los microorganismos productores de H₂ y los consumidores H₂ (Le Van *et al.*, 1998). Por lo tanto, varios estudios se han enfocado a evaluar los efectos de proporción de la relación (forraje : concentrado) y el porcentaje de gas producido por los microbios (Eun *et al.*, 2004b).

11. Metabolismo de las plantas tóxicas.

El Monofluoroacetato aparece en algunas plantas de Australia con niveles por encima de 5g/ Kg (de MS) y la dosis letal media (LD 50) en rumiantes es de alrededor de 0.3 mg/Kg de peso corporal. Sin embargo, los niveles intraruminales de bacterias modificados alcanzados demostraron su efecto protector sobre los hospederos pero un nivel incrementado de protección puede ser deseable para con un gran número de experimentos (Gregg *et al.*, 1998).

A su vez, el desarrollo de bacterias ruminales genéticamente modificadas que pueden proveer protección contra el envenenamiento con fluoroacetato por ejemplo tres cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens* (OB156, OB29, y 10/1), fueron transformadas por electroporación con plásmidos pBHf y expresaron actividad Fluoroacetato dehalogenasa a 10 nmol de fluorido, liberando 1 mg de proteína bacteriana (Gregg *et al.*, 1998).

El metabolismo de las plantas tóxicas ejemplifica varios conceptos ecológicos a través de:

1) el uso de los agentes tóxicos como fuentes de energía o aceptor de electrones en el metabolismo microbiano o, 2) por la destoxificación de un compuesto que inhibe una o más especies de la población microbiana. (Weimer, 1998).

Cuadro 2. Plantas tóxicas y principales bacterias que las metabolizan (Weimer, 1998).

Plantas toxicas	Bacterias especializadas
<i>Leucaena leucocephala</i>	<i>Synergistes jonessi</i>
Ácido oxálico (ciertos forrajes >30%)	<i>Oxalobacter formigenes</i>
<i>Astrogalus cicer</i> (bajo contenido de lignina pobre digestibilidad)	Susceptible a especies celulolíticas
Alcaloides tóxicos (perbleno, phenanthridieno)	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>

Sin embargo, las prácticas de alimentación moderna dirigidas hacia una alta producción han presentado algunos nuevos retos para la microflora ruminal (Weimer, 1998).

Otras sustancias de las plantas aunque no tóxicas, son los taninos condensados, los cuales están más extensamente distribuidos en las plantas que los tipos hidrolizables y son por lo tanto, considerados como un importante problema nutricional. Los taninos hidrolizables están ausentes en plantas no vasculares, y presentes en plantas vasculares, se restringen a las plantas dicotiledoneas y algunas clases de monocotiledones y a plantas con flores. Las cepas de bacterias capaces de degradar proteína, pueden por lo tanto, proliferar en respuesta a dietas ricas en taninos tal como la *calliandra* (McSweeney *et al.*, 1999).

El medio de nutrientes que contiene precipitado de complejos de tanino-proteína ha sido usado para aislar bacterias entéricas capaces de degradar estos complejos. Se ha usado esta técnica para aislar una bacteria ruminal, el *Streptococcus caprinus* (Whitford *et al.*, 2001a), que produce zonas de no crecimiento en este medio y es tolerante a los taninos (McSweeney *et al.*, 1999). Sin embargo, estas plantas a menudo contienen taninos condensados (polifenólicos) compuestos de proteína, que reducen la disponibilidad de nitrógeno para los microorganismos del rumen. También los polifenólicos inhiben el crecimiento de bacterias predominantes del rumen (*Fibrobacter succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter amylophilus*, y *Streptococcus bovis*), pero

la tolerancia a los taninos ha sido demostrada en algunos microorganismos ruminales (McSweeney *et al.*, 1999).

Una razón de por que las bacterias que degradan *calliandra* los cuales es un complejo tanino-proteína no han sido aisladas, es probablemente por la diferencia en la estructura química de estas dos clases de taninos. La suplementación proteica puede ponerse a disposición vía forraje y mediante tres leguminosas como la *Calliandra calothyrsus*, altas en proteína y que producen gran cantidad de material fibrosos (McSweeney *et al.*, 1999).

12. La acidosis ruminal y la composición de la microflora.

Los cambios microbiológicos en el rumen, asociados con la acidosis aguda y durante la etapa de adaptación a dietas con mucho concentrado están bien documentadas (Goad *et al.*, 1998). Por ejemplo, *S. bovis* es altamente amilolítico, crece rápidamente, es tolerante al ácido, es una bacteria gram positiva que fermenta principalmente almidón a ácido láctico. *S. bovis* es de particular interés por su papel en el desarrollo de la acidosis láctica en el ganado y ovejas alimentadas con un exceso de almidón (Whitford *et al.*, 2001a). El cambio en la fermentación ruminal en la acidosis subaguda hacia concentraciones incrementadas de ácidos grasos volátiles, más que por acumulación de lactato, sugieren que los cambios microbianos asociados con la acidosis subaguda, excepto a que los ocasionados por protozoarios ciliados se parecen a aquellos que ocurren durante la adaptación a la alimentación con grano (Goad *et al.*, 1998). Las bacteriocinas son un grupo heterogéneo de péptidos antibacterianos y de proteínas, caracterizadas por su habilidad para inhibir cepas de bacterias estrechamente relacionadas y algunas menos relacionadas, además de ser un antibiótico producido por algunas cepas de *Staphylococcus aureus*. Inhibe algunas bacterias gram-positivas, pero no gram-negativas. También llamada estafilococina (Whitford *et al.*, 2001a).

12.1. El uso de antibióticos en el ganado.

La microbiota es altamente sensible a los cambios en la dieta, la edad, el uso de antibióticos, la salud del hospedero y varía de acuerdo a la ubicación geográfica, la temporada y el régimen alimenticio (Tajima *et al.*, 2001). Para animales con altos niveles de producción, el consumo de energía de alta densidad predispone una disminución en la digestibilidad de la fibra ruminal, lo que debe aumentar la contribución de la digestibilidad en el ciego para la digestión total de la fibra (Michalet-Doreau *et al.*, 2002). El uso muy difundido de antibióticos como aditivos alimentarios por la industria de ganado estabulado de Norteamérica, para maximizar la eficiencia productiva, a promovido un interés en posibles opciones, tales como la alimentación directa con microorganismos. Esta opción también conocida como probióticos son suplementos bacterianos vivos y naturales (Ghorbani *et al.*, 2002).

En ganadería, el concepto de la alimentación bacteriana se basa principalmente en los beneficios potenciales y en los efectos postruminales, incluyendo el desarrollo y el establecimiento de microflora benéfica en el intestino (Ghorbani *et al.*, 2002). Hay reportes que indican una reducción de la acidosis en vacas lecheras al hacer una combinación entre alimento y bacterias productoras de lactato, *Lactobacillus* y *Enterococcus*, presumiblemente porque la presencia de estas últimas en el rumen, causan la adaptación de la microflora por la presencia de lactato intraruminal (Ghorbani *et al.*, 2002).

13. Conclusión.

El rumen es un ecosistema altamente complejo que contiene muchas especies microbianas diferentes y con un gran potencial para las asociaciones intermicrobianas. No obstante, en las interrelaciones complejas entre los microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos) en el ecosistema ruminal. Se cree que las bacterias juegan un papel importante por su predominancia numérica y por su diversidad metabólica. La fermentación microbiana tiene una

contribución substancial en el debilitamiento de la partícula a incrementar la fragilidad de las partículas fibrosas, lo que incrementa la eficiencia en su debilitamiento durante la rumia.

Sabiendo la proporción de proteína de paso libre, de bacterias, de protozoarios y de PC endógena que pasan al duodeno, se puede aumentar nuestra comprensión de los efectos de la dieta sobre la síntesis de proteína microbiana y mejorar así, nuestra habilidad para manipular el perfil de aminoácidos de la proteína circulante en el rumen y el retículo.

14. Glosario.

Aminoácidos: Son ácidos orgánicos que contienen un grupo amino básico y grupo ácido carboxílico¹ Son los bloques con los que se construyen las proteínas. Forman parte esencial de todas las células del organismo y se usan para la síntesis de la proteína de la leche y de los músculos. Se usa también para la síntesis de glucosa en el hígado.

Amoniaco: Un gas incoloro de nitrógeno e hidrógeno producido como nitrógeno proteico y no proteico que se degrada o cataboliza en el rumen. Puede ser usado para sintetizar proteína bacteriana en el rumen.

Anión: Un ion con carga negativa o partícula como el cloruro o el sulfato. Las sales aniónicas son importantes en nutrición en las raciones de vacas secas para ayudar en la prevención de la hipocalcemia.

Autotrófico: Capaz de sintetizar los nutrientes necesarios a partir de agua, dióxido de carbono, sales inorgánicas y una fuente de energía.

Bacteriocina: Antibiótico producido por algunas cepas de *Staphylococcus aureus*. Inhibe algunas bacterias Gram-positivas, pero no Gram-negativas. También llamada estafilococina.

¹ Juo, P-S. 1996 Concise dictionary of biomedicine and molecular biology, CRC Pres, USA. pp. 983

Carbohidratos: Un aldehído o cetona derivados de un alcohol polihidróxido que es sintetizado por las células del hígado, por ejemplo azúcar y almidón. Incluye los azúcares, almidón, celulosa, gomas y sustancias relacionadas. Los carbohidratos son los componentes más numerosos en la dieta de las vacas lecheras y contribuyen con el 60 a 70% de la energía neta usada para la producción de leche. Su abreviatura, CHO, indica que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno.

Carbohidratos no estructurales: Es la porción altamente digestible de los carbohidratos, constituida por almidón, azúcares y pectinas. Restando el porcentaje (en base a materia seca), la fibra detergente neutro (FDN), la proteína cruda (PC), el extracto etéreo o grasa (EE) y las cenizas (C) de 100, se tiene una estimación del porcentaje de los CNF en los alimentos.

Catión: Un ion o partícula cargado positivamente. En la preparación de formulas para raciones es importante el equilibrio entre aniones y cationes.

Celulosa: Un polímero de la glucosa consistiendo de 1,4- β -enlaces glucosídicos de glucosa con un peso molecular de 20,000 a 40,000; el carbohidrato principal en las membranas celulares de las plantas. Es aprovechable para los rumiantes por medio de la actividad de bacterias celulolíticas en el rumen.

Concentrado (alimento balanceado): Una amplia clasificación de ingredientes alimenticios que son altos en energía y bajos en fibra cruda (menos del 18%). Incluye granos de cereales, harina de soya, harina de semilla de algodón (también llamada harinolina) y subproductos de la industria de molinería como el gluten de maíz y el salvado de trigo. Un concentrado puede ser bajo o rico en proteína.

Fibra: La porción de celulosa de los forrajes que es baja en total de nutrientes digestibles (TND) y difícil de digerir por los animales monogástricos.

Filogenia: Historia de la evolución de una raza o grupo de organismos.

- Forraje:** La porción vegetativa de las plantas en estado fresco, seco o ensilado que es suministrada como alimento al ganado. Pastos y leguminosas cortados en la fase apropiada de madurez y almacenados para preservar su calidad.
- Fluoracetato:** Una sustancia tóxica encontrada en algunas plantas cuya fórmula es FCH_2COOH . Rodenticida empleado a gran escala en la agricultura, en forma de sal sódica. Siempre se presenta como componente natural de las plantas *Gastrolobium grandis*, *Florum* y *Oxylobium spp.* y en la *Acacia georginea*.
- Glicocálix:** Cubierta de polisacárido y glicoproteínas que envuelve numerosos tipos de células.
- Heno:** Forraje seco (alfalfa, pastos y tréboles) usado para alimentar el ganado. En ocasiones se le usa genéricamente, de manera incorrecta, por supuesto como sinónimo de alfalfa.
- Heterotrófico:** Incapaz de sintetizar productos metabólicos a partir de materiales inorgánicos; requieren sustancias orgánicas complejas (factores de crecimiento) para su nutrición.
- Ionóforo:** Cualquier molécula capaz de unir iones metálicos y difundirlos a través de una membrana, como medicamentos que incrementan la permeabilidad de las membranas celulares a un ion específico. Antibióticos polieter monocarboxílico. Pueden ser monovalentes (monensina, salinomycin) o divalentes (lasolocido). Facilitan el transporte a través de membranas biológicas formando complejos hipo-solubles con cationes mono o divalentes.
- Lignina:** Un compuesto polimérico que, con la celulosa, forman paredes celulares de las plantas. Es prácticamente indigerible.
- Mesófilo:** Microorganismo que crece bien entre 20° y 55°C .

Nitrógeno no proteico: Usado por los microorganismos del rumen para sintetizar proteína. Generalmente se administra a las raciones en forma de urea.

Proteína cruda: La proteína total de un alimento. Para calcular el porcentaje de proteína, un alimento es analizado primero para determinar su contenido de nitrógeno.

Proteína degradable en el rumen (PDR): La proteína que es degradada en el rumen por los microorganismos e incorporada a sus células formando proteína microbiana o es liberada como amoníaco.

Sílice: Dióxido de silicio, compuesto que aparece en la naturaleza como cuarzo y en otras formas.

Tanino (ácido tánico): Un grupo de compuestos obtenidos de la corteza y frutos de muchas plantas, usados como astringentes. Hay dos grupos de taninos: taninos hidrolizables (ésteres de un azúcar con uno o más ácidos trihidroxibenzano) y taninos no hidrolizables.

Urea: Compuesto orgánico de nitrógeno no proteico. Se puede hacer sintéticamente combinando amoníaco y bióxido de carbono.

Zooespora: Un flagelo, espora de reproducción asexual, flagelo celular.

15. Literatura citada.

Ahvenjarvi, S., A. Vanhatalo y P. Huhtanen.(2002) **Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: I. Rumen degradability and microbial flow.** *J Anim Sci* 80(8):2176-2187.

Araque, C. **Uso de la Urea en alimentación de rumiantes.**; [Consulta: 2001]

Asanuma, N., M. Iwamoto y T. Hino.(1999) **Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro.** *J Dairy Sci* 82(4):780-787.

- Atasoglu, C., C. Valdes, N. D. Walker, C. J. Newbold y R. J. Wallace.(1998) **De novo synthesis of amino acids by the ruminal bacteria *Prevotella bryantii* B14, *Selenomonas ruminantium* HD4, and *Streptococcus bovis* ES1.** *Appl Environ Microbiol* 64(8):2836-2843.
- Beharka, A. A., T. G. Nagaraja, J. L. Morrill, G. A. Kennedy y R. D. Klemm.(1998) **Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves.** *J Dairy Sci* 81(7):1946-1955.
- Dehority, B. A. y P. A. Tirabasso.(1998) **Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on in situ digestion of forage cellulose.** *J Anim Sci* 76(11):2905-2911.
- Dehority, B. A. y P. A. Tirabasso.(2000) **Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi.** *Appl Environ Microbiol* 66(7):2921-2927.
- Dehority, B. A. y P. A. Tirabasso.(2001) **Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen.** *J Anim Sci* 79(11):2908-2912.
- Desvaux M, E. Guedon y y. H. Petitdemange.(2001) **Metabolic flux in cellulose batch and cellulosefed continuous cultures of *Clostridium cellulolyticum* in response to acidic environment.** *Microbiology* 147:1461–1471.
- Eschenlauer, S. C. *et al.*(2002) **Ammonia production by ruminal microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen.** *Appl Environ Microbiol* 68(10):4925-4931.
- Eun, J. S., V. Fellner, J. C. Burns y M. L. Gumpertz.(2004a) **Fermentation of eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides* [L.] L.) by mixed cultures**

- of ruminal microorganisms with or without supplemental corn. *J Anim Sci* 82(1):170-178.**
- Eun, J. S., V. Fellner y M. L. Gumpertz.(2004b) **Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermentors.** *J Dairy Sci* 87(1):112-121.
- Fu, C. J., E. E. Felton, J. W. Lehmkuhler y M. S. Kerley.(2001) **Ruminal peptide concentration required to optimize microbial growth and efficiency.** *J Anim Sci* 79(5):1305-1312.
- Garcia-Vallve, S., A. Romeu y J. Palau.(2000) **Horizontal gene transfer of glycosyl hydrolases of the rumen fungi.** *Mol Biol Evol* 17(3):352-361.
- Ghorbani, G. R., D. P. Morgavi, K. A. Beauchemin y J. A. Leedle.(2002) **Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle.** *J Anim Sci* 80(7):1977-1985.
- Gil, R. F. **Grasas Protegidas (Rumen By-Pass).** [En línea]; 2001 <www.mundofree.com> [Consulta: 2001].
- Goad, D. W., C. L. Goad y T. G. Nagaraja.(1998) **Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers.** *J Anim Sci* 76(1):234-241.
- Gregg, K., B. Hamdorf, K. Henderson, J. Kopečný y C. Wong.(1998) **Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning.** *Appl Environ Microbiol* 64(9):3496-3498.
- Griswold, K. E., G. A. Apgar, J. Bouton y J. L. Firkins.(2003) **Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture.** *J Anim Sci* 81(1):329-336.

- Group Digital Quantum. **Metabolismo de Proteínas en las Vacas Lecheras.**
[En línea]; 2000 <www.infocarne.com/bovino/metabolismo_proteinas.asp>
[Consulta: 26 de abril de 2001].
- Gurung, Y. B., N. Parajuli, Y. Miyazaki, S. Imai y K. Kobayashi.(2002) **Rumen ciliate faunae of water buffalo (*Bubalus bubalis*) and goat (*Capra hircus*) in Nepal.** *J Vet Med Sci* 64(3):265-267.
- Heinrichs, J. A. 1997. **"Using feed Particle Size in Ration Formulation."** En: Dairy nutrition Conference. p 137-150.
- Heinrichs, J. A. 1999. **"Por qué Debemos Darles Grano a las becerras Desde los Primeros Días de Edad."** Hoard's Dairyman No. 6. p 402-403.
- Henning, H. P., Steyn G. D., Meissner H. H. .(1994) **"Effect of Synchronization of Energy and Nitrogen Supply on Ruminant Characteristics and Microbial Growth."** *J. Anim. Sci.* 71::2516-2528.
- Imai, S., Y. Oku, T. Morita, K. Ike y Guirong.(2004) **Rumen ciliate protozoal fauna of reindeer in Inner Mongolia, China.** *J Vet Med Sci* 66(2):209-212.
- Ivan, M. *et al.*(2000) **Effects of *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets.** *J Dairy Sci* 83(4):776-787.
- Kajikawa, H. y S. Masaki.(1999) **Cellobiose transport by mixed ruminal bacteria from a Cow.** *Appl Environ Microbiol* 65(6):2565-2569.
- Koike, S., J. Pan, Y. Kobayashi y K. Tanaka.(2003) **Kinetics of in sacco fiber-attachment of representative ruminal cellulolytic bacteria monitored by competitive PCR.** *J Dairy Sci* 86(4):1429-1435.
- Kopečný, J., M. Zorec, J. Mrazek, Y. Kobayashi y R. Marinsek-Logar.(2003) ***Butyrivibrio hungatei* sp. nov. and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans***

sp. nov., butyrate-producing bacteria from the rumen. *Int J Syst Evol Microbiol* 53(Pt 1):201-209.

- Korhonen, M., S. Ahvenjarvi, A. Vanhatalo y P. Huhtanen.(2002) **Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: II. Amino acid profile of microbial fractions.** *J Anim Sci* 80(8):2188-2196.
- Krause D. O, B. P. Dalrymple, W. J. Smith, R. I. Mackie y y. C. S. McSweeney.(1999) **16S rDNA sequencing of Ruminococcus albus and Ruminococcus flavefaciens: design of a signature probe and its application in adult sheep.** *Microbiology* 145:1797–1807.
- Le Van, T. D. *et al.*(1998) **Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and Acetitomaculum ruminis.** *Appl Environ Microbiol* 64(9):3429-3436.
- Lee, S. S., J. K. Ha y K. Cheng.(2000) **Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to in vitro degradation of orchard grass cell walls and their interactions.** *Appl Environ Microbiol* 66(9):3807-3813.
- Mabjeesh, S. J., A. Arieli, I. Bruckental, S. Zamwell y H. Tagari.(1997) **Effect of ruminal degradability of crude protein and nonstructural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cows.** *J Dairy Sci* 80(11):2939-2949.
- Marini, J. C. y M. E. Van Amburgh.(2003) **Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers.** *J Anim Sci* 81(2):545-552.
- Martin, A. S.(1998) **"Manipulation of ruminal Fermentation With Organic Acid: A Review."** *J. Anim. Sci.* 76:: 3123-3132.
- Martin, C., E. Devillard y B. Michalet-Doreau.(1999) **Influence of sampling site on concentrations and carbohydrate-degrading enzyme activities of protozoa and bacteria in the rumen.** *J Anim Sci* 77(4):979-987.

- McSweeney, C. S., B. Palmer, R. Bunch y D. O. Krause.(1999) **Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed the tannin-containing shrub legume Calliandra calothyrsus.** *Appl Environ Microbiol* 65(7):3075-3083.
- Michalet-Doreau, B., I. Fernandez y G. Fonty.(2002) **A comparison of enzymatic and molecular approaches to characterize the cellulolytic microbial ecosystems of the rumen and the cecum.** *J Anim Sci* 80(3):790-796.
- Miller, T. L. y M. J. Wolin.(2001) **Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl-SCoA reductase inhibitors.** *J Dairy Sci* 84(6):1445-1448.
- Miron, J., D. Ben-Ghedalia y M. Morrison.(2001) **Invited review: adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria.** *J Dairy Sci* 84(6):1294-1309.
- Nsabimana, E., S. Kisidayova, D. Macheboeuf, C. J. Newbold y J. P. Jouany.(2003) **Two-step freezing procedure for cryopreservation of rumen ciliates, an effective tool for creation of a frozen rumen protozoa bank.** *Appl Environ Microbiol* 69(7):3826-3832.
- Oba, M. y M. S. Allen.(2003) **Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows.** *J Dairy Sci* 86(1):195-207.
- Orskov R.(1994) **Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants.** *Civestock production science* 39:53-60.
- Plascencia, J. A., Barreras S. A. y A. Z. R. 1999. **"Adición de Grasas Suplementarias es Sustitución de Forraje en Dietas para Vacas en Lactancia: Digestión de Nutrientos y Función Ruminal."** *Vét. Méx.* No. 30.

- Quigley, J. **How Calf Starter Intake Drive Rumen Development.** [En línea] *American Protein Corporation*; 1998 <www.americanprotein.com/calf/calnotes/APCCN.htm> [Consulta: 31 de marzo de 2001].
- Quigley, J. **Microbial Protein Synthesis in the Rumen.** [En línea] *American Protein Corporation*; 1998 <www.americanprotein.com/calf/calnotes/APCCN.htm> [Consulta: 31 de marzo de 2001].
- Quigley, J. **Palatability of Calf Starters.** [En línea] *American Protein Corporation*; 1998 <www.americanprotein.com/calf/calnotes/APCCN.htm> [Consulta: 31 de marzo de 2001].
- Quigley, J. **Rumen Bacteria in Calves.** [En línea] *American Protein Corporation*; 1998 <www.americanprotein.com/calf/calnotes/APCCN.htm> [Consulta: 31 de marzo de 2001].
- Quigley, J. **Development of the rumen Epithelium.** [En línea] *American protein corporation*; 1999 <www.americanprotein.com/calf/calnotes/APCCN.htm> [Consulta: 31 de marzo de 2001].
- Russell J. B y y. J. L. Rychlik.(2001) **Factors That Alter Rumen Microbial Ecology.** *SCIENCE (292)* 1119-1122.
- Shabi, Z. *et al.*(2000) **Partitioning of amino acids flowing to the abomasum into feed, bacterial, protozoal, and endogenous fractions.** *J Dairy Sci* 83(10):2326-2334.
- Swenson, J. M. y W. O. Reece. 1999. *Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes.* 2 ed. Noriega Editores. UTEHA.
- Tajima, K. *et al.*(2001) **Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR.** *Appl Environ Microbiol* 67(6):2766-2774.

- Varga, A. G. y S. E. Kolver.(1997) **Microbial and Animal Limitations to Fiber Digestion and Utilization.** *J. Nutrition* 127(5):819s-823s.
- Voelker, J. A. y M. S. Allen.(2003) **Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. Effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows.** *J Dairy Sci* 86(11):3562-3570.
- Wallace, J. R., . 1997. **"The Mode of Action of Yeast Culture in Modifying Rumen Fermentation."** En: R. R. Institute (ed.). p 217-229, Greenburn Road. Bucksburn, Aberdeen, UK.
- Wallace, R. J. *et al.*(2003) **Eubacterium pyruvativorans sp. nov., a novel non-saccharolytic anaerobe from the rumen that ferments pyruvate and amino acids, forms caproate and utilizes acetate and propionate.** *Int J Syst Evol Microbiol* 53(Pt 4):965-970.
- Wattiaux, A. M. y T. W. Howard. 2001. **Digestión en la Vaca Lechera.** En: I. B. p. I. I. y. d. I. Lechera (ed.). Universidad de Wisconsin-Madison.
- Weimer, J. P.(1998) **"Manipulating Ruminal Fermentation: A Microbial Ecological Perspective."** *J. Anim. Sci.* 76:3114-3122.
- Whitford, M. F., M. A. McPherson, R. J. Forster y R. M. Teather.(2001a) **Identification of bacteriocin-like inhibitors from rumen *Streptococcus* spp. and isolation and characterization of bovicin 255.** *Appl Environ Microbiol* 67(2):569-574.
- Whitford, M. F., R. M. Teather y R. J. Forster.(2001b) **Phylogenetic analysis of methanogens from the bovine rumen.** *BMC Microbiol* 1(1):5.
- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin y L. M. Rode.(2001) **Effect of dietary factors on distribution and chemical composition of liquid- or solid-associated bacterial populations in the rumen of dairy cows.** *J Anim Sci* 79(10):2736-2746.