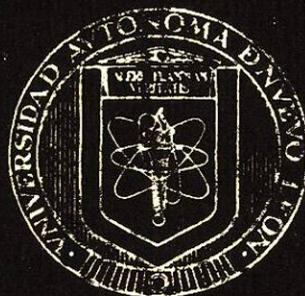


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA**



**EVALUACION E IDENTIFICACION DE MICROFAUNA RUMINAL  
COMO CONSECUENCIA DE LA ADMINISTRACION DE DIFERENTES  
DIETAS EN BOVINOS FISTULADOS.**

**TRABAJO PRACTICO  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO**

**PRESENTA**

**ROBERTO GARZA PEÑA**

**MARIN, N. L.**

**JUNIO DE 1982**

7  
SE 203  
G3  
C.1



1080060602

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACION E IDENTIFICACION DE MICROFAUNA RUMINAL  
COMO CONSECUENCIA DE LA ADMINISTRACION  
DE DIFERENTES DIETAS EN BOVINOS FISTULADOS

TRABAJO PRACTICO  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO  
PRESENTA  
ROBERTO GARZA PEÑA

MARIN, N.L.

JUNIO DE 1982

T  
SF203.5  
G3

040.636  
FA 2  
1982



Biblioteca Central  
Magna Solidaridad



UANL  
FONDO  
TESIS LICENCIATURA

A la memoria de mi padre

A mi madre con  
respeto y cariño

A mis hermanos

LAURA  
JAVIER  
VELIA IRMA  
MA. CRISTINA  
JUAN CARLOS  
JAIME  
MARTHA

Con todo mi amor  
para mi esposa  
MA. DEL ROCIO

A mis hijos  
ROBERTO  
Y  
JUAN CARLOS

A mis tios

# I N D I C E

I.	INTRODUCCION.	1
II.	REVISION DE LITERATURA.	4
II.1	Los microorganismos del rumen.	4
II.2	Técnicas de muestreo para la obtención de líquido ruminal en bovinos.	7
II.2.1	Método de sacrificio del animal.	7
II.2.2	Método de la sonda gástrica.	7
II.2.3	Método de bolos alimenticios.	8
II.2.4	Método de fistulación ruminal.	8
II.3	Métodos de cultivo para evaluar el contenido ruminal.	10
II.3.1	Contaje directo.	10
II.3.2	Método de densidad óptica.	11
II.4	Clasificación de las bacterias del rumen.	12
II.4.1	Bacterias celulolíticas.	12
II.4.2	Bacterias hemicelulolíticas.	12
II.4.3	Bacterias amilolíticas.	13
II.4.4	Bacterias que utilizan azúcares.	13
II.4.5	Bacterias que utilizan ácidos.	13
II.4.6	Bacterias que producen amoníaco.	14
II.4.7	Bacterias que producen metano.	14
II.4.8	Bacterias lipolíticas.	14
II.4.9	Bacterias proteolíticas.	14
II.5	Clasificación de los protozoarios del rumen.	16
II.6	Requerimientos nutricionales de los microorganismos del rumen.	19
II.6.1	<u>Bacteroides succinogenes.</u>	20
II.6.2	<u>Butyrivibrio fibrisolvens.</u>	20
II.6.3	<u>Clostridium lochheadii.</u>	20
II.6.4	<u>Ruminococcus albus.</u>	21
II.6.5	<u>Streptococcus bovis.</u>	21

11.6.6 <u>Bacteroides amylophilus.</u>	22
11.6.7 <u>Bacteroides ruminicola.</u>	22
11.6.8 <u>Methanobacterium ruminantium.</u>	22
11.7 Factores dietéticos que afectan al número y a la especie de microorganismos del rumen.	25
III. MATERIALES Y METODOS.	28
IV. RESULTADOS.	32
V. CONCLUSIONES.	35
VI. CITAS BIBLIOGRAFICAS.	36

## INDICE DE CUADROS

CUADRO 1.	27
CUADRO 2.	34

## I. INTRODUCCION

Por mucho tiempo se ha reconocido la importancia que tienen los rumiantes en el aporte de alimentos de alto valor biológico como la carne y la leche, además de otros productos como la lana, pieles, pelo, etc. - La preponderancia de estos animales se ve acrecentada a medida que pasa el tiempo debido a la desproporcionada relación entre producción de alimentos y crecimiento de la población. Razón por la cual el hombre se ha visto en la necesidad de destinar cada vez una mayor parte de la producción agrícola exclusivamente a la alimentación humana restringiendo ésta y complementando con subproductos de aquélla, a la alimentación animal.

Desde este punto de vista los rumiantes, más -- que competir con el hombre por alimentos básicos, se complementan ya que tienen la capacidad de utilizar y aprovechar eficientemente los esquilmos y subproductos agrícolas, que por su alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, son prácticamente indigeribles por el humano. Estos animales poseen una cámara de fermentación (rumen) donde existen los microorganismos y las enzimas necesarias para desdoblar y metabolizar los constituyentes de la pared celular de los vegetales, que de esta forma se constituyen en fuentes primordiales de energía para el rumiante a través de la-

producción de ácidos grasos volátiles (AGV). Asimismo, por medio de su flora y fauna ruminal, estos animales están capacitados para utilizar fuentes de nitrógeno no proteico (NNP) para la síntesis de proteína microbiana de alto valor biológico. Además, los microorganismos del rumen sintetizan la mayor parte de las vitaminas y ácidos grasos esenciales para el huésped. (Hungate, 1966).

Por las anteriores características, los rumiantes presentan un especial interés fisiológico en lo relacionado a su nutrición. El estudio de los microorganismos del rumen es un tema extremadamente complejo, por lo cual muy pocos investigadores se han dedicado a este campo; sin embargo, en los últimos años se ha desarrollado rápidamente, por lo que es un campo en continua y rápida extensión. (Church, 1974).

Por otro lado, cada vez es más urgente la necesidad de proporcionar a los rumiantes dietas que sean más aprovechables, que permitan un mayor consumo y en consecuencia, propicien una mayor producción animal. Para alcanzar esta meta, es necesario tener un amplio conocimiento de las interacciones entre el animal, los microorganismos del rumen y las propiedades físicas y químicas de los alimentos.

Hespell y Bryant, (1979) indican que el ecosistema del rumen es uno de los más estudiados y entendidos, debido a que presenta la ventaja de poderse manipular a través de la dieta o aditivos alimenticios, - sin embargo, es esta propiedad lo que lo hace complejo y claramente indica que el conocimiento presente - es insuficiente para explicar muchos de los cambios, - interacciones, crecimiento microbiano, que ocurren - bajo diferentes regímenes alimenticios.

El objetivo del presente trabajo es el de identificar los cambios en la microfauna ruminal como consecuencia de la administración de dietas con diferente-relación forraje-concentrado en bovinos fistulados.

## II. REVISION DE LITERATURA

Cuando se piensa en la alimentación adecuada de los rumiantes, hay varias premisas que se deben conocer para poder comprender en mejor forma las interacciones entre los factores que inciden de un modo definitivo en hacer que el ganado alcance mayor aumento de peso, mayor producción de leche y en general una mayor productividad.

### II.1. Los Microorganismos del Rumen.

Blaxter(1964), menciona que el ambiente del rumen está bien adaptado para el mantenimiento de una abundante y diversa población microbiana dada su temperatura relativamente constante y pH bastante uniforme, por la continua llegada de alimentos, agua, saliva tamponada; baja tensión de oxígeno; continua eliminación de los productos de la actividad microbiana por fermentaciones secundarias absorción hacia la corriente sanguínea o por paso hacia el resto del tracto digestivo. Este autor señala que las cifras de microorganismos por cada gramo de contenido ruminal son del orden de  $10^{10}$  para las bacterias y de  $10^6$  para los protozoos, y que estos microorganismos incluyen por lo menos 30 especies (ssp) diferentes de protozoarios y el número de cepas de especies definidas-

de bacterias debe exceder los millares. Indica además que las cifras totales y las especies dominantes de estos microorganismos dependen principalmente del tipo y cantidad de alimento consumido y del tiempo -- transcurrido desde su ingestión y que de su actividad depende la degradación de los carbohidratos y otros -- constituyentes de la dieta, siendo los productos fina les ácidos grasos volátiles (AGV),  $\text{CO}_2$ , metano,  $\text{NH}_3$  y células bacterianas.

Hungate (1966), señala que existen organismos al -- tamente especializados que compiten por algunos ali -- mentos y ocupan un nicho limitado, mientras que otros microorganismos están ampliamente adaptados y son ca -- paces de usar muchos nutrientes. Según este autor, -- la hipótesis de selección para máximo trabajo bioquí -- mico postula que en un sistema como el rumen, abierto a la invasión por innumerables microorganismos, pre -- liferán aquellos organismos que son capaces de utili -- zar en forma más eficiente los sustratos para lograr -- un mayor desarrollo.

La distribución de los microorganismos ruminales es limitada debido a que las características del -- rumen son difíciles de encontrar en otro lado. Es po -- sible hallar una cierta especificidad relativa al -- huésped (bacterias de ovinos no se desarrollan en --

líquido ruminal de bovinos) y los microorganismos - -  
tienden a estratificarse en el rumen al igual que el-  
alimento.

En relación a los tipos de bacterias, este autor encuentra que en un animal alimentado predominantemente con heno o con forraje, la mayoría de las bacte- -  
rias son gram(-), pero que con raciones altas en gra-  
nos hay un incremento en la proporción de bacterias -  
gram(+), lo que refleja un incremento de lactobacilos  
bajo condiciones ácidas. Agrega, que la mayoría de -  
las bacterias ruminales son cocos y cadenas (rosarios)  
que ocurren en varios tamaños, pero generalmente den-  
tro del rango de 0.4-1.0 micras de diámetro y 1-3 mi-  
cras de longitud.

## 11.2 Técnicas de muestreo para la obtención de líquido ruminal de bovinos.

### 11.2.1 Método de sacrificio del animal.

Consiste en sacrificar al animal, extirparle el rumen con su contenido y tomar la muestra después de mezclar. Si se mezcla perfectamente el contenido total del rumen antes de tomar la muestra, entonces, este método es el óptimo para obtener muestras representativas. El método se ha utilizado en muchos experimentos, pero naturalmente el punto de vista económico es prohibitivo y su aplicación es limitada (Lewis-1962)

### 11.2.2 Método de la sonda gástrica.

Este método se ha utilizado en muchas ocasiones pero con frecuencia se desconoce la localización exacta del extremo terminal de la sonda. La muestra puede contaminarse en grado variable con saliva y con mucus del esófago del animal. Gall, ( 1949 ) comparó los contajes de bacterias totales y variables de muestras tomadas de ovejas con sonda gástrica y vía cánula y halló que el contaje total de la muestra obtenida con la sonda gástrica fue siempre más bajo; Moir, (1951) amplió este trabajo comparando muestras obtenidas del contenido completo del rumen de ovejas sacrificadas con las obtenidas mediante sonda gástri-

ca inmediatamente antes del sacrificio, éste encontró que las muestras fueron más bajas con sonda gástrica y que la diferencia entre ambos valores fue una fracción constante, por lo tanto el método de sonda gástrica puede utilizarse para comparar los contajes de las bacterias del rumen de los mismos durante un período.

### 11.2.3 Método de bolos alimenticios.

Consiste en recoger muestras de los bolos alimenticios regurgitados durante la rumia. Este método ha sido investigado por Davey y Briggs, (1959) quienes compararon los contajes viables de las bacterias de las muestras tomadas de los bolos alimenticios de vacas, con las obtenidas de los mismos animales vía cánula ruminal, encontraron que no existieron diferencias marcadas entre los contajes de bacterias individuales de ambas muestras; sin embargo, el método no se ha probado con suficiente rigor para admitir plenamente su validez.

### 11.2.4 Método de fistulación ruminal.

Este método consiste en tomar muestras a través de una cánula ruminal, las muestras pueden obtenerse sin interferencia alguna con el animal y sin exposición indebida de la muestra al aire. La muestra del

rumen debe ser lo más representativa posible y se - -  
toma mediante un tubo, su diámetro será lo suficientemente  
mente grande para que no se obstruya con facilidad y-  
el tapón actúe como filtro. (Lewis 1962).

### 11.3 Método de cultivo para evaluar el contenido ruminal.

Se han publicado numerosos datos acerca de la microbiología del rumen derivado de la toma de muestras del contenido ruminal, análisis de su contenido, etc., sin embargo, el interés de los bacteriólogos se ha concentrado en los últimos años en técnicas que permitan aislar especies bacterianas y cultivarlas en cultivos puros bajo condiciones controladas en el laboratorio.

#### 11.3.1 Contaje directo.

Según Hungate (1966) es el método más útil para determinar el número total de bacterias, cuantificar tanto las muertas, como las vivas. Además, pueden aparecer fácilmente organismos desconocidos que no crecen normalmente en el laboratorio, dado que hay un gran porcentaje de bacterias unidas a las partículas del rumen; para el contaje directo se necesita diluir el contenido ruminal, dadas las grandes cantidades de células, éstas se suelen fijar con Formol y teñir para hacerlos más visibles, el líquido diluido puede entonces fijarse en una cámara de contaje diseñada para bacterias (similar a las cámaras de contaje de glóbulos rojos y blancos de la sangre) o extenderse sobre un porta-objetos que se seca, fija y tiñe (método menos exacto). (Church 1974).

### 11.3.2 Método de densidad óptica.

Para los contajes aproximados puede emplearse un colorímetro o espectrofotómetro, utilizando una longitud de onda de 600 micras, se sigue la regla de que - una densidad óptica de 0.3 es igual a aproximadamente un billón de células/ml. (Church 1974).

#### 11.4 Clasificación de las bacterias del rumen.

Existen algunos procedimientos para poder clasificar las bacterias. Unos podrían ser por sus aspectos morfológicos, como forma y tamaño celular, reacciones de coloración, sustrato que atacan, productos que producen, etc. A continuación se hará una clasificación de acuerdo al sustrato utilizado como fuente primaria de energía. (Hungate 1966, Church, 1974).

##### 11.4.1 Bacterias Celulolíticas (que digieren la celulosa).

Estas bacterias tienen la capacidad bioquímica de producir enzimas que pueden hidrolizar la celulosa. Los microorganismos que digieren la celulosa se pueden encontrar en altas concentraciones en el rumen de animales que consumen raciones fibrosas. Dentro de los microorganismos podemos encontrar varios como son: -- Bacteroides succinogenes (bacilos), Ruminococcus flavefaciens (cocos), Ruminococcus albus (cocos), etc.

##### 11.4.2 Bacterias hemicelulolíticas (que digieren la hemicelulosa).

Estas difieren de la celulosa en que contienen pentosas y hexosas y en ocasiones ácidos urónicos. Podemos mencionar microorganismos como: Bacteroides ruminicola, Butyrivibrio fibrisolvens, Ruminococcus flavefaciens, Eubacterium spp. etc.

#### 11.4.3 Bacterias amilolíticas (que digieren el almidón).

Muchos de los gérmenes celulolíticos pueden digerir el almidón, mientras que los amilolíticos no suelen digerir la celulosa. Los microorganismos que digieren el almidón se pueden encontrar en grandes cantidades en el rumen cuando la ración alimenticia es rica en almidón. Podemos encontrar microorganismos tales como: Bacteroides amylophilus, Streptococcus bovis, Butyrivibrio fibrisolvens, etc.

#### 11.4.4 Bacterias que utilizan azúcares.

Son bacterias que utilizan polisacáridos. El material de las plantas jóvenes contiene grandes cantidades de carbohidratos solubles en agua y éstos podrían ser utilizados por bacterias. Entre las que podemos encontrar varias como: Borrelia sp., Succinivibrio dextrinosolvens, Lactobacillus sp., Eubacterium ruminantium, etc.

#### 11.4.5 Bacterias que utilizan ácidos.

Hay organismos que utilizan el ácido láctico, otros gérmenes que utilizan ácido succínico, otros el málico y el acético. El ácido oxálico es otro de los que descomponen los microorganismos del rumen. Dentro de esta clasificación encontramos: Veillonella alcalescens, Peptoestreptococcus elsdenii, Vibrio succinogenes, etc.

#### 11.4.6 Bacterias que producen amoníaco.

Se sabe de numerosos organismos que producen amoníaco a partir de varias fuentes y este producto es uno de los que se encuentran en forma invariable en el líquido ruminal.

#### 11.4.7 Bacterias que producen metano.

Se encuentran en el rumen cantidades de gas metano ( $\text{CH}_4$ ), en un 25 a 30% del total de los gases, se puede deducir que se encuentran en cantidades bastante grandes, encontramos organismos como: - - - --  
Methanobacterium ruminantium.

#### 11.4.8 Bacterias lipolíticas.

Son bacterias que utilizan el gliceról; obteniéndose por hidrólisis a partir de moléculas de grasa. -  
Anaerovibrio lipolytica organismo formado de lipolíticos, otro es el Veillonella alcalescens.

#### 11.4.9 Bacterias Proteolíticas.

Las bacterias ruminales son capaces de hidrolizar proteínas empleando proteasas inespecíficas y - - otras enzimas que tienen una especialidad semejante a la tripsina. Además existen algunas bacterias que -- emplean aminoácidos como fuentes primarias de energía; uno de los gérmenes proteolíticos descrito por Hungate

(1966) no era capaz de utilizar los azúcares. Hay algunas bacterias que podemos encontrar dentro de esta función, tales como: Proteus sp., Corynebacterium sp. Micrococcus sp., etc.

## 11.5 Clasificación de los protozoarios del rumen.

Church 1974, menciona que los protozoarios del rumen son especies primariamente ciliados, aunque se encuentran también algunos que en vez de cilios presentan flagelos, especialmente en rumiantes jóvenes antes de que se establezcan los ciliados por una u otra razón.

La clasificación de los protozoarios se basa en la morfología celular, pues son organismos suficientemente grandes para que se puedan ver con facilidad -- sus principales estructuras celulares características. Su tamaño varia desde 38 micras de longitud por 15 -- micras de anchura, para el caso de Charon equi spp., a 195 micras de longitud por 109 micras de anchura, en el caso de Metadinium medium (Clarke 1964 citado por Church 1974). Los contajes varían desde ninguno hasta cinco millones/ml.; sin embargo, los contajes totales pueden oscilar normalmente entre 200,000 - 2 millones/ml. (Hungate 1966).

Church (1974) hace una clasificación que es esencialmente similar a la sugerida por Hungate (1966).

En este caso solo se mencionan algunas de las especies más comunes:

Clase: Ciliados.  
 Subclase: Holotricos.  
 Género y Especies: Isotricha intestinalis.  
Isotricha prostoma.  
Dasytricha ruminantium,  
 etc.

Los Holotricos nadan más rápido que los Espirotricos, debido a esto y a su gran tamaño, son a menudo los protozoos más sobresalientes cuando el contenido ruminal fresco es examinado bajo el microscopio.

Estos protozoarios son los primeros que se establecen en el rumen de corderos jóvenes, asimilan carbohidratos rápidamente y los almacenan como amilopectina.

Subclase: Espirotricos.  
 Orden: Entodiniomorfos (oligotricos).  
 Género: Entodinium.  
 Especies: E. bursa, E. caudatum, E. minimum,  
E. rostratum, E. longinucleatum, -  
 etc.  
 Género: Diplodinium.  
 Especies: D. dentatum, D. posterovesiculatum  
D. crista-galli, Eudiplodinium -  
neglectum, Eudiplodinium medium -  
 etc.

Género: Ophryoscolex.

Especies: O. purkynei.

Otras especies como: Polyplastron multivesiculatum,  
Eiytroplastron obtusum,  
Ostracodinum obtusum.  
Enoploplastron tritoricatum.  
Opisthotrichum sp., etc.

Los Espirotricos poseen manojos de cilios en su porción anterior. Carecen de abundantes cilios cubriendo su superficie pero han desarrollado bandas altamente especializadas de sincilia (manojos de cilios) las cuales funcionan en la locomoción e ingestión de alimentos. Los cilios alrededor de la boca o citostoma están arreglados en una posición de reloj (movimiento circular a la derecha) y metidos en el citostoma -- (Hungate 1966).

Entre los flagelados que se encuentran a veces -- en el rumen se tienen: Monocercomonas ruminantium, -- Calimastix frontalis, Chilomastix sp., dos especies -- de Tetratrichomonas, Pentatrichomonas hominis y -- Monocercomonas bovis.

## 11.6 Requerimientos nutricionales de los microorganismos del rumen.

Los requerimientos nutricionales de los microbios del rumen son de interés práctico, ya que mucho del alimento del rumiante nutre a la flora y fauna ruminal y solo indirectamente es destinada al huésped.

En las características nutricionales, como en muchas otras, las bacterias son bastante variables. Hungate, (1966) indica que los microorganismos del rumen han evolucionado en muchas direcciones con selección independiente para rasgos particulares y que algunas líneas agrupadas dentro de una especie, sobre la base de una característica en particular, difieren marcadamente en otras, incluyendo la nutrición. Por esta razón, la descripción de los requerimientos nutricionales de una especie dada no pueden ser precisos. Agrega, que la variabilidad total no es tan grande como podría esperarse, debido principalmente a que muchos de los requerimientos nutricionales son comunes a varias especies.

A manera de ejemplo se mencionarán los requerimientos nutricionales de algunas especies de bacterias y protozoarios más comunes según lo reportado por Hungate (1966).

### 11.6.1 Bacteroides succinogenes.

Requiere de ácidos grasos de cadena recta y ramificada. Otros requerimientos incluyen biotina, ácido p-aminobenzoico y azufre o cisteína. Los requerimientos de amonio son estrictos y son expresados aún en presencia de aminoácidos. El  $\text{CO}_2$  es fijado en la fermentación supuestamente como el grupo carboxilo en el succinato y las cepas no crecerán a menos que el  $\text{CO}_2$  se provea en el medio.

### 11.6.2 Butyrivibrio fibrisolvens.

Extracto de heno de alfalfa más líquido ruminal, dá los mayores rendimientos de células. El  $\text{CO}_2$  no es requerido en el medio, excepto en algunas investigaciones. Requiere biotina, ácido fólico y piridoxina, aminoácidos como histidina, isoleucina, metionina, -- lisina, cistina, leucina, tirosina y valina estimulan el crecimiento, pero mucho del nitrógeno asimilado -- proviene del amonio. Purinas y pirimidinas no fueron requeridas.

### 11.6.3 Clostridium lochheadii.

No requiere fluído ruminal en el medio de cultivo y crece bien en extractos de heno o mezcla de alimentos para rumiantes.

#### 11.6.4 Ruminococcus albus y R. flavefaciens.

Los cocos celulóticos requieren isovalerato e isobutirato. Todos necesitan biotina. Muchos requieren ac. P-aminobenzoico y piridoxina unas pocas necesitan tiamina, riboflavina y ácido fólico o ácido pantoténico. Algunas son estimuladas por ácido acético. El amonio es esencial para la mayoría de las cepas y lo usan de preferencia que aminoácidos.

R. flavefaciens es estimulada por metionina, -- pero la vitamina B<sub>12</sub> puede sustituirla.

#### 11.6.5 Streptococcus bovis.

La nutrición de esta especie es particularmente interesante, debido a que difiere bastante de los -- estreptococos que se desarrollan en otros habitats. -- No requiere de péptidos ni aminoácidos (excepto -- arginina), pero el CO<sub>2</sub> es indispensable para iniciar el crecimiento, aunque se produce CO<sub>2</sub> después de que éste se ha iniciado. Las características nutricionales se ajustan al habitat del rumen, en el que los -- aminoácidos están por corto tiempo aunque el CO<sub>2</sub> sea abundante. Requiere biotina y tiamina, las cuales -- son estimulantes del crecimiento y algunas cepas necesitan ácido pantoténico, ácido nicotínico o purinas. -- El amonio puede servir como única fuente de nitrógeno para algunas cepas, aunque varios investigadores --

concluyen que hay estimulación en el crecimiento por aminoácidos, purinas extractos de levadura y caseína.

#### 11.6.6 Bacteroides amylophilus.

Requiere  $\text{CO}_2$  pero no necesita líquido ruminal. -  
 Crece rápidamente en maltosa en un medio mineral y --  
 asimila amonio. Los aminoácidos son usados en propor-  
 ción limitada en presencia de amonio.

#### 11.6.7 Bacteroides ruminicola.

Su nutrición nitrogenada es peculiar y el amonio es la mejor fuente. El grupo hemo, o un compuesto -- relacionado, es el factor nutricional en el fluido -- ruminal para el crecimiento de esta especie. Este -- requerimiento es satisfecho por deuterohemo, mesohemo protohemo de zinc, protohemo de magnesio, hemoglobina, etc. El hemo es necesitado para síntesis de citocromo a y b . (Bryant y Robinson 1963 citado por Borques- - (1980)

#### 11.6.8 Methanobacterium ruminantium.

Requiere fluido ruminal en el medio como una - - fuente de ácidos grasos volátiles (AGV) de cadena - - recta o ramificada y acetato, así como el grupo hemo- y otros factores de crecimiento. Crece con  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ - como una fuente de energía y los convierte a metano -  $(\text{CH}_4)$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . De otras sustancias probadas, el forma- to es el único que parece ser utilizado.

Por otro lado, en relación a la nutrición de los protozoos, el mismo autor (Hungate 1966) menciona que estos no requieren ningún nutriente orgánico complejo o sintetizado por el huésped y que el líquido ruminal no es esencial.

En el caso de Holotricos, señala que el nicho -- ecológico está dado por la rápida asimilación de azúcares solubles y que pueden almacenar hasta 82% del - azúcar absorbido en forma de almidón. Sin embargo, - agrega que las vías bioquímicas exactas de la síntesis y descomposición del almidón no han sido identifi  cadas.

De los entodiniomorfos apunta que pueden crecer<sup>1</sup> bien con alimentos comunmente consumidos por el rumian  te como: celulosa, granos de cereales, forraje seco, - etc. Además menciona que estos protozoarios tienen - una habilidad muy limitada para usar sustratos solu-- bles, pero que el almidón es activamente ingerido y - digerido y que su número aumenta en animales alimenta  dos con granos.

Otras características que dá este autor, es que los protozoos son activamente proteolíticos y esta -- actividad la desarrollan a pH alrededor de la neutra- lidad.

Menciona también, que los protozoarios ingieren bacterias posiblemente como fuente de nitrógeno u otros compuestos orgánicos. Agrega, que altos niveles de sal en la ración causa disminución en el número y tamaño de los protozoos y que el molido y pelleteado del alimento puede eliminarlos principalmente como consecuencia de una disminución en el pH, ya que estos organismos son muy susceptibles a la acidez y difícilmente sobreviven a pH inferior a 5.5.

### 11.7 Factores dietéticos que afectan al número y a la especie de microorganismos del rumen.

El número total de bacterias por unidad de peso o de volumen, tal como se determina por los estudios microscópicos directos está usualmente comprendido -- entre los límites de 15,000 a 80,000 millones por mililitro y varía dependiendo de la naturaleza de la -- dieta, del regimen de alimentación, del tiempo que ha pasado desde la ingestión de alimentos del animal de -- que se trate y de la presencia o ausencia de protozoos ciliados. (Dukes y Swenson 1970).

El número de bacterias por gramo del contenido ruminal tiende a ser mayor en animales alimentados -- con pastos verdes, que en los alimentados con raciones secas ( Gall, 1949; Moir 1951 ). Los animales -- que consumen raciones secas con niveles muy altos de concentrados tienden a tener un número mayor de bacterias en el rumen. Cuando están ausentes los protozoos, la población bacteriana está considerablemente incrementada y se obtienen recuentos de bacterias -- particularmente altos durante la alimentación rica en granos, cuando los protozoos pueden faltar.

Dukes y Swenson (1970), mencionan que determinadas especies representan usualmente del 1 al 3% de --

las bacterias cultivables sobre una amplia serie de dietas como heno solo, heno+grano ensilado, pastos jugosos, paja de trigo, o dietas constituidas principalmente por granos. Estas especies incluyen Butyrivibrio fibrisolvens y Bacteroides ruminicola y otras que son muy versátiles en la fermentación de los carbohidratos; además, bacterias menos versátiles, tales como los organismos celulolíticos, Bacteroides succinogenes y el género Ruminicoccus. El número relativamente grande de estas especies celulolíticas del rumen del ganado vacuno alimentado principalmente con granos, se explica por el hecho de que los materiales celulósicos son metabolizados más lentamente que los materiales feculentos y pueden representar una proporción mayor de fuente energética microbiana asequible en el rumen durante el día, de la que podía esperarse de la composición del alimento.

Las especies Succinivibrio dextrinosolvens y Peptostreptococcus elsdenii, existen en gran número en el ganado vacuno alimentado con grandes cantidades de grano. En estudios con animales alimentados con dietas similares, se producen variaciones mucho mayores en las especies bacterianas entre los animales y entre las muestras tomadas en diferentes días, cuando las dietas están constituidas principalmente de granos, se comparan con las dietas que contienen una cantidad considerable de forraje.

En el siguiente cuadro se presentan algunas características de microfauna del rumen en bovinos.

CUADRO 1.

Principales ciliados del rumen en bovinos y sus características (según Annison 1966 citado por Kolb-1975).

	Ciliados holotricos		Ciliados oligotricos	
	Isotricha	Dasytricha	Diplodinium	Entodinium
Substrato atacado - principalmente.	Azúcares	Azúcares	Celulosa y Almidón	Almidón
Dieta en la que -- los microorganismos se desarro llan mejor.	Heno, raíz ces car nosas.	Heno, raíz ces car nosas.	Hierba	Maíz, forra jes concen trados.
Dimensio nes apro ximadas - (en micras)	120x70	70x35	70x45	70x45
Principa les pro-- ductos me tabólicos.	Acidos láctico, bu tífico y acético.- H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , Amilopecti na.		Acido butírico y acético. escasa cantidad de ácido láctico y propionico, CO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> , carbohidratos de la sa liva .	

### III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Campo-Experimental de Zootecnia de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León y se realizó del 27 de julio al 5 de agosto de 1981.

Se utilizaron los siguientes materiales:

1. Termo de 750 ml.
2. Agua caliente a 39°C.
3. Vasos de precipitado de 250 ml.
4. Embudo de plástico.
5. Gasas.
6. Jeringas.
7. Guantes de plástico desechables.
8. Matraces de 250 ml.
9. Baño María.
10. Portaobjetos.
11. Cubreobjetos.
12. Microscopio.
13. Fintes.
14. Mechero.
15. Gotero o espátula.

#### Animales empleados.

Para el presente estudio se utilizaron 3 novillos de las razas: Brahman, Charolaise y Hereford.

### Métodos.

El método que se siguió para el muestreo e identificación de la microfauna del rumen en los bovinos fue el método de fistulación ruminal, en virtud de -- que este método se considera el mejor para obtener -- muestras representativas de líquido ruminal.

Cada novillo fue sometido a diferente dieta, durante un período de 10 días siendo el Brahman alimentado con una ración de forraje verde picado (sorgo) a libre acceso; el Charolaise con una ración que contenía el 80% de concentrado y el 20% de forraje verde (sorgo); y el Hereford con una dieta de alfalfa achicalada a libre acceso.

Se muestrearon los animales cada tercer día, haciendo un total de tres muestreos (al tercero, sexto y noveno día de darles la dieta correspondiente).

El procedimiento de extracción de líquido ruminal fue por el método de la fistulación ruminal, usando guantes de plástico, tomando la ingesta del rumen con la mano y exprimiéndola para separar el líquido con bacterias y protozoarios y depositándolo en un recipiente a una temperatura de : 38.5°C.; protegiéndolo de la luz solar, aire y contaminación a lo máximo -- para evitar muerte de fauna ruminal. El inóculo se trasladó al laboratorio de bromatología y se --

vació en matraces de 250ml. burbujeando  $\text{CO}_2$  en el medio para mantener las condiciones anaeróbicas. Después se colocaron las muestras en baño maría a  $38.5^\circ\text{C}$  por espacio de una hora y de ahí se tomaron alícuotas de cada uno de los animales para observarlas al microscopio.

Para observarlas al microscopio se prepararon -- frotis tomando el líquido ruminal y depositándolo en un portaobjetos, secándolo al aire para fijar los microorganismos. Una vez seco se colocó el cubreobjetos y se observó primeramente con una graduación de  $10 \times$ , después se aumentó a  $40 \times$  y finalmente con la de  $100 \times$ ; para hacer esta última observación se usó aceite de inmersión depositando una gota sobre el cubreobjetos con el fin de concentrar la luz en el campo observado.

Otro método de fijación de microorganismos que se usó fue el de secado por medio de calor pasando el frotis sobre un mechero unas 5 veces. Este método no se tomó en cuenta debido a que al hacer las observaciones al microscopio se encontró que la mayor parte de la microfauna se deformaban debido probablemente por deshidratación, por lo que se optó por el método de secado al aire.

Para la identificación de la microfauna se prepararon 10 frotis de cada muestra para una mayor representación de microorganismos. Ésta se hizo por comparación fotográfica de acuerdo a su morfología.

#### IV. RESULTADOS

Los animales que se usaron para este trabajo fueron sometidos a diferentes dietas alimenticias, las cuales consistieron en forraje verde (sorgo), concentrado comercial con un 14% de proteína y de alfalfa achicalada a libre acceso, dando los siguientes resultados:

La primera muestra se llevó a cabo a los 3 días de iniciada la prueba, aquí se observó que todavía existía gran cantidad de microfauna de diferentes géneros y especies en los 3 animales sometidos bajo este régimen alimenticio (Cuadro 2).

En la segunda muestra que se realizó a los 6 días de iniciada la prueba cambió la microfauna apareciendo en un animal un solo tipo de protozoarios y en los dos restantes se encontró que había dos tipos diferentes de microorganismos (Cuadro 2).

En el noveno día las muestras dieron como resultado que en el animal alimentado con forraje verde (sorgo), apareció un solo tipo de microfauna siendo las del género Diplodinium. En el animal alimentado con concentrado, el resultado fue muy notable apareciendo la especie Isotricha prostoma en grandes canti

dades, ya que casi toda la población era de este tipo de protozoarios. También se encontró, aunque en forma esporádica, la especie Epidinium ecuadatum, lo que quiere decir, que si se sometiera al animal a mayor tiempo con esta dieta, es probable que se encontraría solamente la especie Isotricha prostoma.

Por último, el animal que se alimentó con alfalfa achicalada a libre acceso, se pudo observar la aparición del género Diplodinium en cantidades bastante considerables. También se encontró la especie - - - Ostracodinium rugoloricatum en muy bajas cantidades.

## CUADRO 2.

Microfauna observada en bovinos alimentados con diferentes dietas.

Días de Prueba	<u>A L I M E N T O</u>		
	Forraje verde de sorgo (100%)	Concentrado (80%) Forraje (20%)	Alfalfa Achicalada 100%
3	<u>Isotricha prostoma</u>	<u>Epidinium ecuadatum</u>	<u>Ostracodinium goloricatum</u>
		<u>Entodinium caudatum</u>	
	<u>Diplodinium</u>	<u>Isotricha prostoma</u>	<u>Diplodinium</u>
6		<u>Isotricha prostoma</u>	<u>Ostracodinium rugoloricatum</u>
	<u>Diplodinium</u>	<u>Epidinium ecuadatum</u>	<u>Diplodinium</u>
9	<u>Diplodinium</u>	<u>Isotricha prostoma</u>	<u>Diplodinium</u>
		<u>Epidinium ecuadatum</u>	<u>Ostracodinium rugoloricatum</u>

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo, se puede concluir que bajo cierto régimen alimenticio se pueden encontrar algunos -- microorganismos que, sabiendo perfectamente su función, podemos darnos cuenta del trabajo de éstos en la nutrición de los bovinos.

En el Cuadro 2 se observa que el cambio de microfauna, en diferente dieta en los bovinos, se ha desarrollado gradualmente, llegándose a la conclusión de que si se sometiera al ganado a mayor tiempo bajo -- este régimen alimenticio, la microfauna sería específica sin haber gran mezcla de protozoarios.

Se determinó que la técnica de fistulación ruminal fue la más recomendable para tomar muestras de -- líquido ruminal, ya que debido a los estudios que se han hecho, esta técnica es la más representativa, en virtud de que el material se obtiene directamente del animal.

## VI. CITAS BIBLIOGRAFICAS

- ANNISON, E.F. y H.A. DYFED LEWIS. (1966).- Metabolismo en el rumen. Trad.al español por Manuel Chavarria. Edicion en español Edit. UTEHA, México.
- BLAXTER, K.L. (1964).- Metabolismo energetico de los rumiantes. Edit. Acribia Zaragoza, España.
- BORQUEZ, J. L.(1980).- Formulacion de dietas completas para rumiantes en base a la tasa de fermentacion in vitro de los ingredientes. Tesis sin publicar Chapingo, México
- CHURCH, D.C. (1974).-Fisiologia digestiva y nutricion de los rumiantes. Volumen I Fisiologia digestiva. Editorial Acribia Zaragoza, España.
- DAVEY, L.A. and BRIGGS, C.A.E. (1959).-Journal Agriculture Sci. 52, 187.

DUKES Y SWENSON (1970).- Fisiología de los animales domésticos, tomo I, Funciones Vegetativas.

GALL, L.S. BURROUGHS, W., GERLAUGH P.- y EDGINGTON, B.H. (1949).- Rumen bacteriein cattle and sheepon practical farm rations.

HESPELL, R.B. y BRYANT, M.P. (1979).- Efficiency of rumen microbial growth: influence of some theoretical and experimental factors on YATP. J. Ani. sci. 49 1640-1659.

HUNGATE, R.E. (1966).-The rumen and Its Microbs Academic Press Inc. London.

KOLB, E. (1975).-Fisiología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

LEWIS D. (1962).- Fisiología Digestiva y Nutricion de los rumiantes. Editorial Acribia - Zaragoza, España.

MOIR, R.J. (1951).- The seasonal variation in the ruminal microorganismos of grazing sheep. Austral J.

