Capítulo 3

MANIPULACIÓN DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL E IMPLICACIONES EN EL ESTADO NUTRICIONAL

Jorge A. Gallo M, Zoot, Esp[1]; Alejandro Ceballos M, MVZ, MSc[2].

Resumen

El valor nutritivo potencial de las pasturas tropicales guarda una estrecha relación con las condiciones bajo las cuales tiene lugar su proceso fermentativo en el rumen. De esta manera, la actividad microbial sobre dicho sustrato y sus efectos en la fermentación ruminal, se constituyen en factores determinantes de la magnitud y relación de los productos finales de la digestión y por ende del estado nutricional de los animales.

En este capítulo se hace un análisis de las implicaciones de la manipulación de las poblaciones microbiales sobre el proceso ferementativo en el rumen, particularmente las derivadas del uso de ionóforos y de la defaunación, con el propósito de mejorar el aporte final de nutrientes al hospedero y, de esta manera, modificar favorablemente el uso y aprovechamiento de las pasturas tropicales, con el consecuente aumento de la eficiencia y productividad de los sistemas ganaderos.

Palabras clave: *defaunación, digestibilidad, ionóforos, metabolismo, poblaciones microbiales*

1 Docente de cátedra Escuela de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226 Medellín, Colombia

2 Profesor Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ceballos-alejandro@hotmail.com

Manipulation of ruminal fermentation and its implications on the nutritional status of ruminants.

Summary

The potential nutritional value of tropical pastures keeps a close relation with conditions under which fermentative processes take place. The microbial activity on such a substrate and its effects on ruminal fermentation become determinant factors on the magnitude and the proportions of the end products of digestion, therefore on the nutritional status of the herd.

This chapter reviews the effects of manipulating microbial populations on ruminal fermentation particularty those derived from ionophores and dafaunation. All together, in order to improve the contribution of end nutrients to the host, so increasing the efficiency and productivity of livestock systems.

Key words: *defaunation, digestibility, ionophores, metabolism, microbial populations.*

Introducción

La actividad ganadera en el trópico se basa fundamentalmente en las pasturas naturales y éstas se hallan sujetas a variaciones estacionales en calidad y disponibilidad de la biomasa vegetal, por lo que los bovinos sometidos a este régimen alimenticio sufren periodos de subnutrición, limitándose así su capacidad productiva.

En estas circunstancias, los efectos conjugados de la calidad de los suelos y la estacionalidad de las lluvias dan lugar a una caracterización propia de las pasturas tropicales que presentan una alta proporción de carbohidratos estructurales, que tienen concentraciones relativamente elevadas de lignina, contenidos de proteína bajos y, con frecuencia, carencias e imbalances de minerales y vitaminas.

Este cuadro conforma, en general, un sustrato de limitada calidad nutricional para el desarrollo y proliferación de la población microbial en el rumen, lo cual genera ineficiencia en el proceso de fermentación ruminal, reducción en la digestibilidad y bajos consumos de materia seca; estas circunstancias explican mayoritariamente nuestros moderados índices de productividad ganadera. En este sentido, la investigación científica ha encontrado en la manipulación de la fermentación ruminal una valiosa herramienta que, mediante la alteración de la

propia flora ruminal o de los procesos fisiológicos y metabólicos en los que ella participa, permite aumentar el potencial de extracción de nutrientes de la dieta. Este efecto de manipulación puede lograrse mediante diversos mecanismos; por tanto es pertinente explorar aquellas posibilidades que de alguna manera han demostrado intervenir favorablemente en el proceso de la dinámica fermentativa, bajo nuestros sistemas de alimentación. El objetivo es impactar el patrón de fermentación y los productos finales de la digestión, tratando de lograr con ello el beneficio adicional de incrementar la digestibilidad y el consumo de pasturas tropicales.

Este documento se estructuró en dos partes: en la primera se presenta información referente a las poblaciones microbiales y a su relación con la digestibilidad y el consumo; y en la segunda, se hace referencia a los efectos del uso de ionóforos y de la defaunación sobre la manipulación de la fermentación ruminal.

La actividad microbial y su relación con la fermentación en el rumen

La meta básica en el campo de conocimiento de la nutrición de rumiantes, es lograr incrementos en la productividad a través de una mejor comprensión de la función digestiva y el metabolismo ruminal, los cuales guardan una estrecha dependencia con el número y actividad de determinados tipos de microorganismos ruminales (49).

En este sentido, el éxito potencial de cualquier intento de manipulación de la fermentación ruminal dependerá de una cabal comprensión de la ecología microbial del rumen, tipo de microorganismo, densidad poblacional, interrelación con otras especies, características químicas del forraje o sustrato, y las condiciones ambientales óptimas del rumen para la fermentación (15).

Como los forrajes son la dieta básica de rumiantes en pastoreo, la revisión bibliográfica se orientará al análisis de las implicaciones que tiene la manipulación de la fermentación ruminal sobre las poblaciones microbiales, sobre el proceso fermentativo y sobre los productos finales de la fermentación, y, a su vez, la interacción entre estos fenómenos y la digestibilidad y el consumo.

Como hemos indicado, el valor nutritivo potencial de las pasturas tropicales depende fundamentalmente de la optimización del proceso degradativo de los

carbohidratos estructurales; por esta razón la fermentación se constituye en el factor determinante que define la magnitud y relación de los productos finales (16).

Preston y Leng (34) afirman que una deficiencia o un nivel subóptimo de un nutriente esencial para la flora ruminal, reduce la eficiencia del crecimiento microbial; consecuentemente, la manipulación de la fermentación ruminal deberá tener siempre presente los mecanismos mediante los cuales los microorganismos del rumen adquieren sus nutrientes. Así, los polímeros complejos que constituyen las paredes celulares deben ser degradados por los microorganismos ruminales a sustancias de menor peso molecular antes de ser transportados al interior de la célula microbial (3).

Esto significa que la cantidad y composición de la dieta son los factores determinantes para la especiación, actividad y crecimiento de los microorganismos ruminales; lo que, a su vez, se reflejará en la velocidad y eficiencia con la que dichos sustratos serán fermentados. En este sentido se puede proponer que la mejor estimación de la eficiencia ruminal es la medición de la producción de biomasa microbial (34).

La importancia del crecimiento y de la actividad microbial, con relación al estado nutricional del hospedero, se deriva del hecho de que los productos principales de la fermentación ruminal (ácidos grasos volátiles y proteína microbial) suplen entre 70 - 80% de las necesidades energéticas y entre 40 – 80 % del requerimiento protéico del rumiante (45).

El principal método para medir la cantidad de células microbiales producidas en el rumen, o que han salido de él, parece ser la cantidad de purinas excretadas en la orina, que son derivadas de los ácidos nucléicos microbiales (40). Igualmente, se ha encontrado que la producción de alantoína en leche u orina, está estrechamente correlacionada con la cantidad de proteína microbial que ha pasado al duodeno (24).

Debido a que los microbios ruminales tienen requerimientos nutricionales cualitativamente similares al hospedero, es de vital importancia garantizar un adecuado balance a fin de propiciar un crecimiento óptimo de la masa microbial (25). Los microorganismos ruminales requieren una fuente de energía, una fuente de nitrógeno, macro y microminerales, proteína preformada y ácidos grasos de cadena larga (25).

De Acuerdo con Marshall, y Hoober (29) la síntesis de proteína microbial requiere un adecuado suministro de nitrógeno para alcanzar la máxima eficiencia.

Así, si el nivel de nitrógeno no es adecuado, puede ocurrir una fermentación desacoplada, sin uso del ATP producido. Al contrario, si el nivel de nitrógeno es excesivo, la energía puede ser el factor limitante para una eficiente utilización del mismo. Por lo tanto, para maximizar el crecimiento microbial y la disponibilidad de energía y nitrógeno en el rumen, la energía deberá estar balanceada y sincronizada.

Con relación a los minerales, es conocido que los microorganismos ruminales requieren la totalidad de los macro y microminerales requeridos por el animal hospedero; sin embargo, resalta por su importancia en el crecimiento microbial, el azufre (29). De acuerdo con estos autores, el azufre es requerido por los microorganismos del rumen para la síntesis de metionina y cistena; y el subconsumo de este mineral puede limitar la síntesis de proteína bacterial cuando en la dieta se usan niveles elevados de nitrógeno no protéico. De particular importancia es el efecto del azufre sobre el incremento del consumo voluntario y sobre el crecimiento de la población de hongos en el rumen (1).

Poblaciones microbiales responsables de la actividad celulolítica en el rumen

Protozoos. El efecto de los protozoos sobre la digestión de la fibra vegetal depende del papel y de la importancia relativa de los distintos géneros y especies en el ecosistema ruminal (20). Así, la capacidad de los protozoos para adherirse a las partículas de pared celular es restringida, excepto en el género *Holotricha*, estimulados probablemente por quimiotactismo hacia azúcares solubles (5). Los grandes *Entodinomorfos* únicamente tienen actividad enzimática intracelular y por ello ejercen su acción degradativa ingiriendo partículas suspendidas en el medio (2). En general, si bien la presencia de protozoos aumenta directa ó indirectamente la degradación ruminal de celulosa y hemicelulosa respecto a animales defaunados, no es claro si su acción puede ser debida a las bacterias ingeridas (13).

Hongos. La población de hongos anaerobios del rumen está directamente relacionada con el contenido de fibra de la dieta, y su proporción disminuye en dietas ricas en almidón o azúcares solubles. Los hongos ruminales tienen capacidad enzimática para hidrolizar celulosa y xilano, aunque parecen no degradar pectina (23). Se ha postulado además, que algunas especies como *Neocallimastix frontalis* y *Piromyces comunis*, son tanto o más, eficientes en la digestión de carbohidratos estructurales, que las especies bacterianas celulolíticas más activas (8).

La acción fúngica sobre la pared celular y su contribución a la degradación ruminal de ésta, parece estar muy relacionada con su activa colonización preferentemente en estomas y zonas de corte de los tejidos lignificados (2). Por otra parte, la acción mecánica de los hongos sobre la pared celular disminuye la rigidez estructural de los forrajes y favorece su ruptura, aumentando así la superficie accesible para la acción bacteriana (1).

Bacterias. A pesar del papel de las poblaciones protozoaria y fúngica del rumen en la digestión de la pared celular, parece claro que las bacterias son los microorganismos más activamente implicados en este proceso, tanto cualitativamente, por su alta actividad enzimática, como en el aspecto cuantitativo, debido a su elevada concentración en el rumen (2).

Las tres especies bacterianas celulolíticas predominantes, *Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*, se caracterizan por su alta especialización nutritiva, en el sentido de que ellas solo utilizan celulosa y sus productos como nutrientes, por lo que se ven obligadas a especializarse en la hidrólisis de dicho polímero, en un ambiente líquido que favorece la competencia entre gran variedad de microorganismos (15).

Determinación de la eficiencia de producción de proteína microbial

El término Y_{ATP} fue introducido por Bauchop y Elsden (6) y se define como la cantidad en peso (gramos de materia seca) de células producidas por mol de ATP gastada. Con base en el conocimiento de las vías metabólicas involucradas en la biosíntesis de las células microbiales, es posible estimar la cantidad de energía (ATP) requerida para su formación. Sin embargo, los valores resultantes de la determinación experimental del Y_{ATP} son con frecuencia considerablemente menores que los hallados por cálculos teóricos, debido a la influencia del gasto de ATP para mantenimiento durante el crecimiento, en vista de que a medida que decrece la tasa de crecimiento, una mayor proporción del ATP producido se dirige hacia funciones de mantenimiento (14).

Mediciones *in vitro* indican que las bacterias tienen tasas de Y_{ATP} máximas de 19 – 20. Sin embargo, las deficiencias de nutrientes requeridos por la flora microbial, tales como amonio, aminoácidos, péptidos, minerales, y/o acidos grasos ramificados, se constituyen en una severa restricción para que las bacterias expresen su máximo potencial de crecimiento (25).

Experimentalmente, los mejores indicadores de las tasas de crecimiento bacterial los constituyen las determinaciones de marcadores internos, siendo los principales los péptidoglicanos ó sus constituyentes tales como acido murámico o diaminopimélico (DAPA); compuestos éstos que se hayan presentes en la capa de peptidoglicanos de la pared celular y son constituyentes únicos y propios de las bacterias. Igualmente, como ya se indicó, se determinan algunas bases nitrogenadas como las purinas, siendo estas últimas metabolizadas y excretadas en orina en forma de alantoína. Se utilizan además marcadores externos, los cuales son sustancias radioactivas administradas a los animales para que sean incorporadas por los microorganismos ruminales y formen parte de sus estructuras (9).

Principales factores de la dieta que pueden afectar el Y_{ATP}

Fuente de energía. Un mayor valor de Y_{ATP} se obtiene mediante la utilización de carbohidratos no estructurales como fuente de energía (39).

Nivel de consumo. Cuando el nivel de consumo se incrementa, se produce un mayor flujo de partículas desde el rumen y así, más bacterias adheridas a ellas pasarán al duodeno (45).

Fuente de proteína. El crecimiento microbial puede ser influenciado por la fuente de nitrógeno. Comparados con al amonio, los aminoácidos y péptidos mejoran la eficiencia microbial (28). A pesar de estas observaciones, el amonio representa la principal fuente de nitrógeno para la síntesis de proteína y su importancia no debe ser subestimada, por cuanto en presencia de bajos niveles de amonio el crecimiento de bacterias con uso obligado de este, como las celulolíticas, se reduce; lo que genera un descenso en la degradación de carbohidratos estructurales, y por lo tanto una reducción del consumo (41).

Interacción de carbohidratos y proteína. Si la relación carbohidratos:proteína es inadecuada, el crecimiento microbial se verá limitado debido a desacoples energéticos. Según Varga *et al.* (46) cuando la relación carbohidratos no estructurales:proteína degradable es mayor de 6:1, se observa una reducción en el crecimiento microbial, así como en la degradación de la fibra y en la proteólisis.

Relación entre actividad microbial, digestibilidad y consumo de materia seca de forrajes tropicales

Las consideraciones anteriores relativas al Y_{ATP} y a su determinación cuantitativa, implican que la producción de células microbiales con relación a los ácidos grasos volátiles es variable, es decir, la energía (Y_{ATP}) es usada con una eficien-

cia variable y esta variabilidad parece ser altamente dependiente de las condiciones de alimentación (25). En este sentido, y con relación a estos dos productos de la fermentación ruminal, el concepto más importante sobre el cual se fundamenta la eficiencia de dicho proceso y por ende la eficacia en las estrategias de alimentación en rumiantes, es que la proteína microbial disponible y los ácidos grasos volátiles totales producidos en el rumen, están inversamente relacionados (45).

De esta manera, la proporción entre las células microbiales y los Ácidos Grasos Volátiles (AGV) producidos, y la extensión de la proteína que escapa de la degradación ruminal, son los principales determinantes de la relación proteína:energía de los nutrientes absorbidos por los rumiantes, con dietas basadas en forrajes tropicales. Así, mientras más amplia es esta relación, mayor es la eficiencia del proceso fermentativo; por el contrario, en la medida en que esta proporción se hace más estrecha, se genera un aumento en la producción metabólica de calor en el animal, disminuyendo el consumo de materia seca (12).

De igual manera y con relación a la restricción de nutrientes para la flora ruminal, se ha establecido que una deficiencia de nitrógeno afecta negativamente la función ruminal (45), en el sentido de que se retarda la multiplicación y la actividad enzimática de las poblaciones microbiales reduciendo consecuentemente la digestibilidad del alimento, la velocidad de paso y el consumo voluntario por el animal.

Al respecto, Chicco y Godoy (12), afirman que la estrategia de suplementación nitrogenada para rumiantes alimentados con forrajes tropicales de bajo valor nutritivo eleva el amonio ruminal por encima de 80 mg/litro, optimizando así la digestibilidad. Asimismo, Perdok, *et al.* (31), afirman que la concentración de nitrógeno amoniacal que se requiere para maximizar la digestibilidad y el consumo de forrajes fibrosos fluctúa entre 150 y 200 mg/litro.

En resumen, y de acuerdo con Ward, *et al* (48), puede afirmarse que para animales alimentados con forrajes maduros, el consumo se limita por distensión ruminal; esta distención es parcialmente aliviada por la rumia y la digestión microbial del forraje ingerido, facilitándose así al tránsito del alimento hacia el tracto gastrointestinal. De esta manera, un incremento en la digestibilidad de los forrajes maduros puede facilitar tasas de pasaje más rápidas, lo cual podría propiciar un incremento en el consumo.

Manipulación de la fermentación ruminal

De acuerdo con Van Nevel y Demeyer (44) la fermentación ruminal puede ser caracterizada por los siguientes parámetros:

- La producción total y las proporciones relativas de AGV formados.
- La cantidad de metano producida y de materia orgánica fermentada (MOF).
- La cantidad de masa microbial sintetizada.
- La eficiencia del anterior proceso, la cual puede expresarse bien mediante el ya analizado concepto de Y_{ATP}, ó bien como gramos de nitrógeno incorporado en la masa microbial por kilogramo de materia orgánica fermentada (grs N / Kg MOF).

Las dietas con base en forrajes tropicales fibrosos, ofrecen limitaciones al proceso fermentativo en el rumen; por esta razón la manipulación se justifica para mejorar, muy especialmente, la digestibilidad, la velocidad de paso y el consumo. En este sentido los puntos de partida para definir y justificar las pautas de la manipulación de la fermentación ruminal son:

- Las limitaciones nutricionales de las gramíneas de trópico bajo y alto.
- Las particularidades y consecuencias de la fermentación ruminal.
- La eficiencia y la productividad de los sistemas de producción ganadera, que son altamente dependientes de la funcionalidad ruminal.

Este capítulo se referirá al estado de la literatura científica, con énfasis especial en dos componentes del proceso fermentativo susceptibles de manipulación, y circunscritos ambos a la actividad de la población microbial:

- Modificación del patrón de fermentación ruminal mediante el uso de ionóforos.
- Exploración de los efectos de la defaunación con relación a los sistemas tropicales de alimentación.

Modificación del patrón de fermentación ruminal mediante el uso de ionóforos. De acuerdo con Maas, *et al.* (27) los forrajes con bajos niveles de carbohidratos solubles generan un patrón de fermentación ruminal con amplia relación acetato: propionato, comparados con forrajes que contengan altos niveles. Por lo tanto, cualquier método de manipulación de la fermentación ruminal que incremente la producción de propionato en animales alimentados con tales forrajes, puede incrementar la eficiencia y concomitantemente los niveles de producción de los mismos. De igual manera, la digestibilidad aparente de los forrajes con alto contenido de carbohidratos solubles, es mayor que la de aquellos con niveles más bajos de los mismos. Esto sugiere una relación positiva entre digestibilidad y consumo de materia seca, como ha sido reportada por Holmes, *et al.* (18).

En este mismo sentido, Maas, *et al.* (27) establecen que el incremento en la proporción de ácidos grasos volátiles glucogénicos, asociado con las pasturas de mejor calidad nutricional, comparadas con forrajes toscos, podría permitir un incremento en la producción de glucosa. Los niveles de glucosa sanguínea de animales alimentados con forrajes de baja calidad, comparados con aquellos en animales alimentados con pastos con elevados niveles de carbohidratos solubles, fueron significativamente menores; lo que sugiere una relación positiva entre producción de propionato ruminal y niveles plasmáticos de glucosa (27).

Bases fisiológicas de la acción de los ionóforos. Básicamente, un ionóforo es un antibiótico carboxílico producido por levaduras del género *Streptomyces cinnamonensis*, con moderada actividad *in vitro* contra bacterias gram positivas (43).

Es necesario señalar que existe una gran diferencia entre organismos gram positivos y gram negativos en lo relativo a la estructura exterior de la pared celular. Así, la membrana exterior de bacterias gram negativas está compuesta por una capa de proteína, lipopolisacaridos y lipoproteínas, que ésta ausente en las bacterias gram positivas. Esta membrana exterior es impermeable a moléculas de gran tamaño, incluyendo los ionóforos y aún a iones libres presentes en el líquido ruminal (7).

Se han evaluado varios ionóforos entre los que se cuentan: Monensina, Lasalocid, Salinomicina, Norasina, entre otros; todos ellos, además, con propiedades anticoccidiales. Sin embargo, el más estudiado es la Monensina y por lo tanto, la literatura que citaremos está referida a esta sustancia en particular. El modo de acción de Monensina es mediante el desequilibrio del gradiente iónico entre el interior de la célula, cuyo pH es altamente regulado y constante entre 7,6 – 7,8, y el líquido ruminal circundante. Una reducción en el pH ruminal indica un mayor gradiente de intercambio iónico, creándose así una situación predisponente a la acción del ionóforo (27).

De esta manera, los ionóforos inhiben las bacterias gram positivas pero no las gram negativas por diferencias en la dependencia sobre el nivel de fosforilación entre ambos tipos de bacterias. Plaizer, *et al.* (32) afirman que la Monensina afecta el flujo transmembránico de iones y el gradiente de disipación de cationes, obstruyendo de esta forma la absorción de solutos y el mecanismo de transporte primario de la célula.

La célula reacciona a esta reducción en la permeabilidad mediante un incremento en el gasto energético, intentando mantener el transporte primario. Así, las bacterias gram positivas, las cuales dependen del nivel de fosforilación de ATP, no pueden suplir esta demanda y por tanto mueren y son sacadas del rumen. Las bacterias gram negativas, que son capaces de conducir el transporte de electrones acoplado con el de protones y con la síntesis de ATP, tendrán un incremento en el requerimiento para mantenimiento en la presencia del ionóforo; pero son capaces de sobrevivir, crecer y proliferar.

Chen y Wollin (11), estudiaron el efecto de Monensina sobre el crecimiento de bacterias ruminales *in vitro*. Ellos concluyeron que el ionóforo no tuvo ningún efecto sobre bacterias gram negativas productoras de propionato, tales como *Bacteriodes succinogenes*, y *Selenomonas ruminatum,* y que este efecto selectivo genera un incremento en la formación de propionato en el rumen afectando, además, la cantidad total de ácidos grasos volátiles producidos, así como la proporción de los mismos. La prevalencia de bacterias gram negativas permite aumentar la producción de propionato a partir de succinato, debido a que estas bacterias tienen la enzima fumarato reductasa, la cual es necesaria para convertir fumarato en succinato.

Metanogénesis y eficiencia de la fermentación. El balance de la fermentación supone que un aumento en la producción de propionato tiene que estar acompañado de una disminución en la metanogénesis, como quiera que la formación de estos productos finales está inversamente relacionada. Se observa además que el crecimiento de bacterias que contribuyen a la formación de metano en el rumen como *Ruminococcus albus*, *Ruminicoccus flavefaciens* y *Butyrovibrio fibrisolvens*, se inhibe en presencia de Monensina (7).

Las pérdidas por metano pueden representar hasta el 12% de la energía del alimento. A este respecto, se ha encontrado que la Monensina decrece la producción de metano hasta en un 31%, en pruebas *in vitro* e *in vivo* (38). Por lo tanto, mediante un decremento en la metanogénesis y un incremento en el propionato, a expensas del acetato, la Monensina puede potencialmente mejorar la eficiencia de la energía digestible del alimento y de la utilización del proceso fermentativo.

Efectos de la Monensina sobre el metabolismo de carbohidratos en el rumen. La posibilidad de una respuesta diferencial a la Monensina existe si ella altera las características de la digestión ruminal, mediante la inducción de variaciones en la producción total de AGV y en sus proporciones relativas. Existe una amplia

documentación en el sentido de que la Monensina incrementa el propionato y reduce la concentración de acetato y butirato, particularmente, cuando los animales son alimentados con dietas que contienen una alta proporción de concentrados. La mayor producción de ácido propiónico captura más energía digestible de la materia orgánica ingerida (7).

Una mejora energética en la fermentación ruminal se reporta en el trabajo de Rogers y Davis (35): en Novillos alimentados con una dieta basal de 50% de ensilaje de maíz y 50% de concentrado, con o sin Monensina (33 mg/Kg materia seca), se aumentó la producción ruminal diaria de acetato, de propionato y de AGV totales en 29, 64, y 35%, respectivamente.

Efectos de los Ionóforos sobre el metabolismo de nitrógeno en el rumen. La Monensina tiene efectos significativos sobre el metabolismo del nitrógeno en el rumen. Algunas de las investigaciones iniciales para caracterizar la fermentación ruminal posterior al suministro de Monensina, reportaron una reducción en las concentraciones de amonio y en la degradación de la proteína (17, 4). Cuando la Monensina es incluida en la dieta una mayor proporción del nitrógeno llega al abomaso como nitrógeno de origen dietético. La disminución relativa en el nitrógeno bacterial se origina por una reducción significativa en la síntesis de proteína bacteriana en el rumen. El flujo total de proteína al intestino delgado se ve favorecido ya que más proteína de origen dietético alcanza el intestino (41).

Estas observaciones estimularon la investigación de las acciones de la Monensina sobre bacterias conocidas por su preferencia para utilizar proteína como sustrato energético en el ecosistema ruminal, en vista de que no se podía responsabilizar cuantitativamente a la actividad bacteriana ruminal conocida, sobre los efectos favorables de la Monensina con relación al uso de nitrógeno.

Russel, *et al.* (37) identificaron dos nuevas bacterias que tenían de 18 a 39 veces más habilidad de producir amonio que las especies anteriormente conocidas. Estas bacterias fueron identificadas como especies de *Peptostretococcuss* y de *Clostridium.* Ambos eran organismos gram positivos, que requieren de una fuente de aminoácidos para su crecimiento y son sensibles a la Monensina.

Un incremento en la relación de proteína dietética de escape:flujo de proteína microbial desde el rumen, podría causar una mejora general en la digestibilidad de nitrógeno en vista de que se regularía la capacidad de absorción de aminoácidos en el intestino delgado, resultando en una mayor extracción de aminoácidos desde el lumen intestinal (17).

Con el fin de evaluar los efectos de la Monensina sobre el metabolismo de nitrógeno y otros parámetros de producción, Van der Merwe *et al* (42) realizaron un ensayo con 20 vacas Holstein de entre 2 y 4 meses posparto, suplementadas con 300 mg de Monensina por vaca/día y con una dieta de Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) con contenido de proteína cruda de 20–25%. Las variables evaluadas fueron: condición corporal, producción de leche, proteína y grasa en leche y nitrógeno ureico en sangre y leche. Como se puede apreciar en la tabla 1, los resultados expresan una reducción en las concentraciones de nitrógeno ureico en sangre y leche; aunque los valores obtenidos se encuentran dentro del rango crítico (> 18 mg / dl), se podría afectar negativamente la fertilidad. No hubo diferencias significativas con el control para producción de leche, ni para el contenido de proteína y grasa.

Tabla 1. Efecto de la suplementación con Monensina sobre la producción de leche, composición de la leche, BUN y MUN en vacas Holstein lactantes

Fuente: Van der Merwe (42)

PARÁMETRO	CONTROL	MONENSINA	SEM
Producción de leche (Kg /día)	21.6	22.1	0.51
Proteína en leche %	2.91	2.84	0.04
Grasa en leche %	2.75	2.69	0.09
MUN (mg/dl)	24.7	20.3	0.89
BUN (mg/dl)	20.68	18.66	4.3

Tabla 2. Efecto de la Monensina sobre la ganancia diaria de peso promedio y la condición corporal en vacas Holstein lactantes.

PARÁMETRO	**CONTROL**	**MONENSINA**	**SEM**
GPD (gr / día)	**193.9**	**471.4**	**51.1**
Condición Corporal (0 – 5)			
Inicial	**1.4**	**1.6**	**0.09**
Final	**1.4**	**1.7**	**0.08**

Fuente: Van der Merwe (42)

Con relación a la condición corporal, los resultados se muestran en la tabla 2. La respuesta positiva en ganancia de peso, más que en producción de leche, probablemente refleja diferencias en la partición de nutrientes, en vista de que las vacas en el estudio referido, estaban en la mitad de la lactancia. Esta respuesta

positiva de 277,5 grs/día, puede ser atribuida a la mejor economía proteica de las vacas suplementadas con Monensina, en vista de que más energía pudo estar disponible para ganancia de peso, debido a la menor necesidad para metabolizar el exceso de amonio.

Papel potencial de la defaunación en los sistemas tropicales de alimentación. Con relación al papel de los protozoos ruminales sobre la fermentación ruminal y la disponibilidad de nutrientes, es necesario considerar que todos los efectos, directos o indirectos, que estos microorganismos pueden tener sobre la nutrición del hospedero, provienen de las acciones que ellos ejercen sobre el proceso fermentativo en el rumen. La presencia o ausencia de los protozoos afecta factores ruminales tales como el pH, concentración de amonio, tasa de pasaje; así como también el tipo y cantidad de otros microorganismos ruminales como bacterias y hongos (47).

De esta manera entonces los protozoos participan activamente en el proceso de fermentación ruminal mediante la ingestión de partículas vegetales, así como mediante su acción enzimática sobre carbohidratos y proteínas. De acuerdo con Leng y Nolan (26) los protozoos, en virtud de su gran tamaño, pueden representar hasta el 50% de la masa microbial. En vista de esto, se asumió en el pasado que los protozoos contribuían significativamente a la nutrición proteica del hospedero. Sin embargo, una gran mayoría de protozoos son selectivamente retenidos en el rumen, en razón a que son condición indispensable para su supervivencia el adherirse a partículas grandes, atraídos por altas concentraciones de azúcares, y a la capacidad de almacenar almidones y azúcares que los hacen más pesados para que se depositen en el rumen en donde mueren y son degradados; esto permitió reconocer que ellos no contribuyen al suministro de proteína al hospedero en cantidades proporcionales a su número y por lo tanto, se revaluó su participación en este aspecto de la nutrición de los rumiantes.

Efecto de la defaunación sobre el reciclaje de nitrógeno bacterial en el rumen. De acuerdo con lo anterior, es claro que el reciclaje de nitrógeno microbial en el rumen ocurre como resultado de la lisis y degradación tanto de bacterias y protozoos como de la ingestión de bacterias por parte de los protozoos. La proteína microbial sintetizada en el rumen representa entre el 40-90% de la proteína que llega el intestino delgado, aunque hasta el 50% de ésta es degradada a amonio (36). A este respecto, Leng y Nolan (26) han demostrado, *in vitro,* que los protozoos no alteran la tasa de crecimiento bacterial total, sino que ellos más bien decrecen la síntesis neta de células. Esta ineficiencia es causada por el reciclaje de nitrógeno entre los depósitos de nitrógeno bacterial, protozoal y de

amonio, resultante de la ya referida ingestión de bacterias por protozoos, y de la retención de estos últimos en el rumen.

Coleman (10) sugirió que el factor más importante en la actividad reguladora del reciclaje del nitrógeno bacterial en el rumen, lo constituye la presencia de protozoos y el consumo y digestión de las bacterias por parte de los mismos. Sin embargo, los incrementos en el flujo de proteína bacterial, típicamente reportados en animales defaunados (20- 30%), son menores de los que podrían predecirse *in vitro,* a partir de la cesación de la digestión bacterial por los protozoos (20). Sin embargo, los protozoos *in vivo* consumen proteína dietética, reduciéndose así su capacidad para consumir bacterias; a esto se suma, el hecho de que la mayoría de las bacterias colonizan las partículas del alimento en lugar de flotar libremente en el líquido ruminal, haciéndose probablemente, menos accesibles para los protozoos.

Al comparar animales faunados y defaunados, una observación común ha sido la de encontrar mayores concentraciones de amonio ruminal en los primeros (22), lo cual ha permitido inferir un uso ineficiente del nitrógeno por parte de los animales faunados. Esto se reafirma al observar que el flujo de nitrógeno no amoniacal (NNA) desde el rumen, con relación al consumo de nitrógeno o de materia seca, es generalmente mayor para animales defaunados que faunados (27). Este fenómeno parece estar asociado a un incremento en la eficiencia de la síntesis microbial y a un decremento en la degradación de la proteína dietética.

A este respecto, Koenig, *et al.* (22) en la tabla 3, compararon aspectos del metabolismo del nitrógeno en ovejas durante periodos de faunación, defaunación y refaunación y encontraron variaciones en el flujo, digestibilidad y retención de nitrógeno. El flujo de nitrógeno microbial de rumen a duodeno se incrementó en 60% al pasar de 10,8 a 17,3 gr N/día cuando las ovejas fueron defaunadas. De igual manera, la eficiencia microbial también se incrementó en un 89% al pasar de 20,0 a 37,8 grN/Kg MO realmente digerida.

Tabla 3. Consumo, flujo, digestibilidad y retención de Nitrógeno en ovejas faunadas, defaunadas y refaunadas.

CARACTERÍSTICA	FAUNADAS	*DEFAUNADAS*	*REFAUNADAS*
Consumo de N (gr/día)	25.1	23.4	24.5
Flujo duodenal de N. microbial (gr/día)	10.8 a	17.3 b	11.1
Digestibilidad ruminal de N (%)	23.5	32.4	21.5
Eficiencia micobial (gr N/KgMO)	20.0 a	37.8 b	18.2

Fuente: Koenig, (22)

(a, b): Promedios en la misma línea con diferente letra presentan diferencias ($P < 0.05$)

Con relación al efecto que los diferentes géneros de protozoos pueden tener sobre el aporte neto de aminoácidos, Ivan *et al.* (19) encontraron que los *Holotrichas* afectan muy poco el suministro, pero que definitivamente *Entodinium* parece ser el género más destructivo al considerar la nutrición proteica del hospedero y que se podría hacer un gran aporte, si se pudiera disponer de algún mecanismo que limitara las poblaciones de este protozoo, en forma específica.

Defaunación y digestibilidad. En relación con la digestión ruminal, se acepta que las bacterias son la especie de microorganismos más importante en el rumen; a pesar de esto, la extensión de la digestión es significativamente reducida por la defaunación (50). Los resultados de Koenig, *et al.* (22) sugieren que el incremento en la masa bacterial que ocurre con la defaunación, parece no ser suficiente para compensar el efecto potencial de la biomasa protozoaria. El descenso en el pH ruminal asociado con la ausencia de protozoos, sumado a la reducción en la concentración de amonio y a la ingestión preferencial de bacterias celulolíticas efectuadas por los protozoos, podrían ser otras razones para la reducción de la digestión ruminal.

Numerosos ensayos han comparado la digestión en rumiantes faunados y defaunados (47). Los ensayos de Veira (47) contrastan 26 dietas suministradas a ovejas, cabras o terneros. Con excepción de 2 dietas, la digestibilidad aparente de materia orgánica, materia seca o energía fue mayor en rumiantes faunados. De manera similar, Kayouli, *et al.* (21) observaron que la defaunación redujo significativamente la tasa de digestión de paja en bolsas de nylon, incubadas en el rumen de ovejas.

Métodos de defaunación. En vista de los potenciales efectos benéficos derivados de la defaunación, se han explorado experimentalmente algunas sustancias que han demostrado efectos negativos sobre las poblaciones protozoales y que podrían eventualmente ser utilizados en el campo. La mayoría de estos efectos negativos se expresan mediante un efecto citotóxico, el cual disminuye parcial o totalmente la población de protozoos del rumen.

Navas, *et al.* (30) señalan que el posible efecto defaunante de algunos materiales forrajeros como *Enterolobium ciclocarpum* y *Sapindus saponaria,* se debe a la presencia de sustancias detergentes como las saponinas en sus hojas. Dichos autores evaluaron el efecto de diferentes niveles de Orejero (*Enterolobium ciclocarpum)* sobre la concentración de protozoos ciliados en el fluido ruminal de ovejas cruzadas, alimentadas con una dieta basal de heno de kikuyo *(Pennisetum clandestinum).* La tabla 4 muestra los recuentos de protozoos de las ovejas ali-

mentadas con 0, 100 y 300 gramos por día de hojas secas de *Enterolobium cclocarpum*. Las ovejas que recibieron niveles mayores de *Enterolobium ciclocarpum* en la dieta, mostraron una gran reducción de protozoos en el fluido ruminal (43% menos), comparadas con el grupo control. De acuerdo con los investigadores, el efecto de las hojas de *Enterolobium ciclocarpum* pudo haberse debido a una acción combinada de saponinas y al bajo contenido de proteína soluble de este forraje, el cual ha mostrado una baja degradabilidad *in sacco* (menor de 50% después de 48 horas de incubación).

De otro lado, Poos, *et al.* (33) señalan cómo la Monensina, que ha sido usada como un agente anticoccidial en avicultura, para combatir la coccidia (un protozoario), podría hacer decrecer las poblaciones microbiales en el rumen. Russell y Strobel (38) señalan que algunos estudios *in vitro* han probado la sensibilidad de los protozoos a la Monensina pero que, *in vivo*, ha resultado difícil documentar estos hallazgos. Sin embargo, Van der Merwe, *et al.* (42) encontraron que la Monensina redujo las poblaciones de pequeños y grandes protozoos en vacas Holstein suplementadas con 300 mg de Monensina por vaca/día y que la magnitud del efecto defaunante varió dependiendo de la especie microbiana: redujo las poblaciones protozoales de *Holotrichas*, pequeños *Entodinia* y grandes *Entodinia* en un 100, 30 y 60%, respectivamente.

Tabla 4. Número de protozoos en el fluido ruminal de ovejas alimentadas una vez al día con *Pennisetum clandestinum* (Pc) y tres niveles de *Enterolobium ciclocarpum* (Ec)

	ANTES DE ALIMENTAR	*4 HORAS DESPUÉS DE ALIMENTAR*
Dieta	*No. x 10 ^{5}*	*No. x 10 ^{5}*
P. clandestinum	*1.17*	*1.21*
P.c + E.c (100 gr / día)	*1.5*	*1.35*
P.c + E.c (300 gr / día)	*0.67*	*0.48*

Fuente: Navas (30)

Consideraciones finales

Implicaciones del uso de ionóforos en los sistemas de alimentación tropical. De lo expuesto anteriormente, es evidente que, dependiendo de las características de la dieta, los ionóforos mejoran la calidad nutricional de la mayoría de ellos, muy especialmente sobre el metabolismo energético; y si bien sus efectos son menos evidentes sobre el metabolismo del nitrógeno, resultan de mucha

significancia en nuestros sistemas de alimentación de trópico alto, debido a que la Monensina reduce el nitrógeno microbial que alcanza el intestino delgado, lo que hace necesario asegurar un suministro adecuado de carbohidratos rápidamente fermentables en la dieta, a fin de maximizar la síntesis y el aporte de proteína microbial al tracto inferior. Esto es especialmente crítico en ganados que pastorean forrajes con altos contenidos de formas solubles de nitrógeno, pero inherentemente bajos en energía, en relación con los requerimientos de las bacterias y del animal, como es frecuente en nuestros ya referidos sistemas de alimentación de trópico alto.

Los hallazgos de investigación con relación al efecto de Monensina en producción de leche han sido inconsistentes y, en algunos casos, las diferencias encontradas no han sido estadísticamente significativas. En razón a que la partición y demanda de nutrientes (energía y proteína) varían a través de la lactancia, es posible presumir una mayor respuesta en producción de leche a la suplementación con ionóforos, en la lactancia temprana.

Una consideración adicional podría hacerse con relación al potasio y al pH ruminal en la suplementación con Ionóforos: en vista de que los ionóforos catalizan el flujo de potasio desde las bacterias gram positivas sensibles, hacia el fluido ruminal, es obvio que niveles elevados de este catión en rumen, podrían interferir negativamente con la acción de estas sustancias. Puesto que son conocidos los altos niveles de potasio de nuestros forrajes, particularmente los de trópico alto, esto podría constituirse en un atenuante potencial para el uso de estas sustancias.

Con relación al pH ruminal y su interacción con el uso de ionóforos, es necesario considerar el efecto que sobre el pH ruminal ejerce el tipo de pastura consumida. Es claro que forrajes con mayores contenidos de carbohidratos solubles, reducen en mayor medida el pH ruminal; esto, sumado a la suplementación con concentrados, típica en nuestros sistemas de alimentación de trópico alto, predispone el ambiente ruminal a una potencial reducción del pH, lo cual indicaría un mayor gradiente de intercambio iónico, con lo que se crea una situación favorable a la actividad del ionóforo. Contrariamente, en los sistemas de alimentación de trópico bajo, basados en forrajes, el alto pH relativo propio de la fermentación de este tipo de dieta, podría reducir su potencial benéfico.

Implicaciones de la defaunación sobre la nutrición y la productividad de los rumiantes. A partir de las consideraciones sobre los efectos netos de la acción de los protozoos en el rumen, es posible predecir algunas situaciones en las cuales la productividad de los rumiantes se vea afectada por su ausencia: La defaunación

parece incrementar la relación proteína disponible:energía digerida; así, este procedimiento afecta notablemente el incremento del depósito bacterial y del flujo de nitrógeno bacterial desde el rumen, favoreciendo el aporte neto de proteína metabolizable.

Este incremento en disponibilidad de proteína sería entonces benéfico solo en estados fisiológicos de alta demanda de aminoácidos a nivel intestinal, como podría ser el caso de animales en rápido crecimiento y alimentados con dietas bajas en proteína no degradable en rumen. Para alcanzar tasas de crecimiento superiores, los animales defaunados deberían ser alimentados con dietas altas en energía, con bajos niveles de proteína no degradable en rumen, pero con adecuado nitrógeno degradable. Además, es claro que en la medida en que los animales maduran y la tasa de deposición de tejido magro se reduzca, los rumiantes defaunados podrían no derivar esa ventaja debido a una reducción en la digestibilidad de la energía. En este sentido, es posible, a través del uso de suplementos con alto contenido de proteína no degradable en rumen, hacer que los animales faunados se comporten también como los defaunados; sin embargo, esta estrategia puede resultar costosa e ineficiente.

Con relación a la digestibilidad de la dieta, es claro que la defaunación reduce la digestibilidad en el tracto gastrointestinal total, así como la de fibra detergente neutra y fibra detergente ácida. De esta manera, la ausencia del efecto fibrolítico de los protozoos en animales defaunados, no es compensada completamente por la presencia de una mayor población bacterial; así es posible presumir que si la defaunación genera una reducción en la digestibilidad y por lo tanto en la energía metabolizable, su efecto no tendría un impacto considerable en el estado nutricional de los rumiantes, si el procedimiento fuese aplicado en dietas con limitaciones energéticas como es el caso de los sistemas de alimentación de trópico bajo. Esto permite asociar, en este caso, un efecto de interacción entre los protozoos y la energía dietética.

Con relación al efecto estabilizante que pueden ejercer los protozoos, sobre el pH ruminal, es necesario resaltar la bondad de este efecto, sobre todo bajo nuestros sistemas de alimentación en trópico alto, dependientes de alimentos concentrados ricos en almidones. Allí, el proceso fermentativo se retarda y se estabiliza como consecuencia del efecto buferante de los protozoos; por lo tanto, la defaunación podría ser contraindicada.

Referencias

1. Akin DE y LL Rigsby. Degradation of bermuda and orchardgrass by species of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol 1985; 50:825 – 830.
2. Akin DE y R Benner. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. Appl. Environ. Microbiol 1988; 54: 1117 – 1125.
3. Anninson EF y Bryden L W. Perspectives on Ruminant nutrition metabolism. Nutrition Research Reviews 1998; 11,173 – 198.
4. Alí Haimoud D, Vernay M, Bayourthe C and Moncoulon R. Avoparcin and Monensin effects on the digestión of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. Can. J. Anim. Sci 1995; 75: 379.
5. Bauchop T. Colonization of plants fragments by protozoa and fungi. En: J.V. Nolan, R.A. Leng, D. I Demeyer (Eds). The roles of protozoa and fungi in ruminant digestión. Penanbul books, Armidale 1989; Pp. 83 – 96.
6. Bauchop T and Elsden S R. The growth of microorganism in relation to their energy supply. J.Gen. Microbiol 1960; 23: 457 – 469.
7. Bergen WG, and Bates D B. Ionophores: their effects on production efficiency and mode of action.J.of An. Sci 1984; 58:6.
8. Borneman WS and D E Akin. Lignocellulose degradation by rumen fungi and bacteria: ultrastructure and cell wall degrading enzymes. En: D. E. Akin, L. G. Ljungdahl, J. R. Wilson. Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants. Elsevier, Nueva York 1990; Pp. 325 – 339.
9. Carro MD. La determinación de la síntesis de proteína microbiana en el rumen: Comparación entre marcadores microbianos (Revisión). Invest. Agrop: Prod.Sanid. Anim 2001; Vol 16(1).
10. Coleman J. The interrelationship between rumen ciliate protozoa and bacteria. In: I. W. Mc Donald and A. C. I. Warner (ed). Digestion and Metabolism in the ruminant, University of New England, Publishing Unit, Armidale, Australia, 1975.
11. Chen M and Wollin MJ. Effect of monensin and lasalocid sodium on the growth of Methanogenic and rumen saccharolytic bacteria.Appl. Env. Microbiol 1979; 38:72.
12. Chicco C, Godoy S De L. Aspectos nutricionales en la alimentación de bovinos a pastoreo. Conferencias VII Congreso Venezolano de Zootecnia. UDO. Maturin 1992; pp 1 – 16.
13. Dehority BA. Interacciones entre los microorganismos ruminales. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 1998; 15: 69 – 86.
14. Febel H And Fekete S. Factors influencing microbial growth and the efficiency of microbial protein synthesis: A. review. Acta Veterinaria Hungárica 1996; 44 (1), 39 – 56.
15. Fondevilla M. Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. Rev. Fac. Agron. (Luz) 1998; 15 : 87 – 106.
16. Gallo JA. Los Bloques Multinutricionales y su impacto en la utilización del forraje. En: Estrategias de Alimentación en la ganadería y su impacto en la productividad. Grupo Cebu, Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Mayo 9 – 10 de 2002.
17. Green BL, McBride BW, Sandals D, Leslie KE, Bagg R. The impact of monensin controlled release capsule on subclinical Ketosis in the transition dairy cow. J. Dairy Sci 1999; 82. 333.
18. Holmes CW and Wilson GF. Milk production from pasture. Betterworths Agricultural Books, Wellington, New Zeland, 1984.
19. Ivan M, Nelly L, Forster R, Alimon R, Rode LM *et al*. Effects of *Hisotricha, Dasytricha, Entodinium*, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. J Dairy Sci 2000; 83:776 – 787.
20. Jouany JP, Ushida K. Protozoa and fibre digestion in the rumen. In: Hoshino S, Onodera R, Minato H, Itabashi. The rumen ecosystem. The microbial matabolism and its regulation. Proceeding of a satellite symposium of the 7ht International Symposium on ruminant physiology. Hakone. Japon 1990; 139 – 150.
21. Kayouli CD, Van Nevel CJ, Dendooven R and Demeyer DI. Effect of defaunation on straw digestion in sacco and on particle retention in the rumen. Anim. Feed Sci. Technol 1984;10:165.
22. Koenig KM, Newbold CJ, McIntosh FM, and Rode LM. Effects of protozoa on bacterial Nitrogen recycling in the rumen. J. Anim. Sci 2000; 78:2431 – 2445.
23. Lee SS. Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to *in vitro* degradation of Orchard grass cell walls and their interactions. Appl. Env. Microbiol 2000; 66: 3807- 3813.
24. Leibzien P, Giesecke D, Wiesmair S, Rohr K. Measurement of microbial protein synthesis in the rumen of cows by determining N in duodenal digesta and isolating allantoin from milk. Journal of Animal physiology and animal nutrition 1993; 70 . 82- 88.
25. Leng RA. Quantitative Ruminant Nutrition. A green Science. Australian Journal of Agricultural Research 1993; 44: 363 – 380.
26. Leng RA and Nolan JV. Nitrogen metabolism in the rumen. J. Dairy Sci 1984; 67:1072 – 1089.
27. Maas JA, Wilson GF, McCutcheon SN, Lynch GA, Burnham DL *et al*. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. J. Anim. Sci 2001; 79: 1052 – 1058.

28. Maeng WJ and Baldwin RL. Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: Effects of Aminoacid additions to a purified diet with nitrogen from urea. J. Dairy Sci 1976; 59:648 – 655.
29. Marshall DS and Hoover WH. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. J of An. Sci 1979; 49:6.
30. Navas A, Laredo MA, Cuesta A, Anzola H and León J. Evaluation of *Enterolobium ciclocarpum* as dietary alternative to eliminate protozoa from the rumen. Livestock Research for rural development 1992; Vol 4. Num.1.
31. Perdok HB, Leng RA, Bird SH, Habib G and Van Houtert M. Improving livestock production from straw based diets. Increasing small ruminants Productivity in semi – arid areas, Thompson, F. Eds, Icarda, Siria, 1988. pp 81 – 91.
32. Plaizier JC, Green BL, McBride BW and Leslie K. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled released capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. J. Dairy Sci 2000; 83:2918 – 2925.
33. Poos MI, Hanson TL and Klopfenstein. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. J.of Anim. Sci 1979; 48:6
34. Preston TR, and Leng RA. Matching Ruminant. Production Systems With Available Resources in the Tropics and Subtropics. Penambul Books, Australia 1987; 312 p.
35. Rogers JA and Davis CL. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with Sodium Bicarbonate and monensin. J.Dairy Sci 1982; 65:944.
36. Ruiz R, Albrecht GL, Tedeschi LO, Jarvis G, Russell JB *et al.* Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. J.Dairy Sci 2001; 84:1717 – 1727.
37. Russel JB, Strobel HJ, and Chen, G. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. Appl. Env. Microbiol 1988; 54:872.
38. Russell JB and Strobell HJ. Minireview. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Appl. Env. Microbiol 1989; 55:1.
39. Sniffen CJ and Robinson PH. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. J. Dairy Sci 1987; 70:425 – 441.
40. Stangassinger M, Chen XB, Lindberg JE, Giesecke D. Metabolism of purines in relation to microbial production. In: ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction, 1995. pp 387 – 408.
41. Tamminga S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. J. Anim. Sci 1980; 49:1615 – 1630.
42. Van der Merwe BJ, Dugmore TJ and Walsh KP. The effect of monensin on milk production, milk urea nitrogen and body condition score of grazing dairy cows.. South African Soc. Of Anim. Sci 2001; 31(1).
43. Van Nevel CJ and Demeyer DJ . I Effect of monensin on rumen metabolism *in vitro.* Appl. Env. Microbiol 1997; 34:251.
44. Van Nevel CJ And Demeyer DJ. Manipulation of Rumen Fermentation. In: The Rumen Microbial Ecosystem. Hobson 1988; Cap. 13. pag. 387 – 443.
45. Van Soest PJ. Nutritional Ecology of the Ruminant, Cornell University Press, Ithaca, NY, 1994
46. Varga GA, Hoover WH, Junkins LL and Shriver BJ. Effects of urea and isoacids on *in vitro* fermentation of diets containing formaldehyde-treated or untreated soybean meal. J. Dairy Sci 1988; 71:737 – 744.
47. Veira DM. The role of ciliate protozoa in nutrition of the ruminant. J.Anim. Sci. 1986; 63:1547 – 1560.
48. Ward MG, Adams DC, Wallace JD, Galyean ML, and Volesky JD. Supplementation and monensin effects on digesta kinetics. II cattle grazing winter range. J. of Range Management 1990; 43 (5).
49. Weimer PJ. Manipulating ruminal fermentation: A microbial ecological perspective. J Anim. Sci 1998; 76:3114 – 3122.
50. Windham WR and Akin DE. Rumen fungi and forage fiber degradation. Appl. Env. Microbiol 1984; 48:473.