

## **CILIADOS RUMINALES EN CORDEROS ALIMENTADOS CON DIVERSAS PAJAS DE LEGUMINOSAS**

*Por B. Aller Gancedo  
M. Cordero del Campillo  
A. Martínez Fernández.*

La composición cuantitativa y cualitativa de las poblaciones de ciliados ruminales de la oveja depende de varios factores que, entre nosotros, han sido analizados por CORDERO (1965). La influencia de la cantidad, calidad, composición y presentación de la ración ha sido objeto de numerosas investigaciones (FERBER, 1928; MOIR, 1951; MOIR y SOMERS, 1956; USUELLI, 1930; VAN DER WATH y MYBURGH, 1941; CHRISTIANSEN, 1963 y CHRISTIANSEN y col. 1964). Entre nosotros, ALLER GANCEDO (1966) ha corroborado estudios previos, llegando a la conclusión de que los cambios en el número de ciliados por unidad de volumen de contenido ruminal y la variación en las especies presentes y su importancia relativa, pueden tener un carácter estacional, en armonía con las modificaciones que experimentan las raciones de los animales en pastoreo, impuestas por los ciclos agrícolas en la zona templada.

Continuando estas investigaciones, en condiciones de alimentación controlada, hemos estudiado el comportamiento de la microfauna ruminal de corderos sometidos a raciones a base de diversas pajas de leguminosas, cuya composición química se determinó previamente. Es interesante conocer la respuesta de los ciliados ante estos alimentos, dada la importancia que tienen en España y la ausencia de trabajos extranjeros sobre el tema. Así pues la finalidad del trabajo ha sido estudiar las poblaciones de ciliados que se establecen en el rumen de ovinos alimentados exclusivamente con pajas de leguminosas.

## MATERIALES Y METODOS

*Animales de experimentación.*—Un lote de seis corderos (machos castrados), de raza churra, de un año de edad (peso de 36 a 39,5 kg).

*Alimentación.*—Se emplearon siete tipos de pajas: yeros (*Ervilia sativa* L.), garbanzos (*Cicer arietinum* L.), veza (*Vicia sativa* L.), alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), almortas (*Lathyrus sativus* L.) y habas caballares (*Vicia faba equina* L.).

Con cada una de las pajas se realizó una experiencia, de veinte días de duración. A lo largo del período citado, cada animal recibió 600 g/día de la paja problema. en dos tomas de 300 g, una por la mañana y otra por la tarde. Dispusieron de agua *ad libitum*.

La composición química de las pajas, en los aspectos que nos interesaba estudiar, aparece en el cuadro I. Las determinaciones fueron realizadas por OVEJERO (1967).

*Toma de muestras.*—Mediante sonda ruminal. Para evitar las variaciones dependientes del momento de la digestión, todas las tomas tuvieron lugar por la mañana, al final del gran ayuno, antes de dar la primera comida del día. Por otro lado, de cada animal se tomó una muestra al final del período de 20 días de alimentación con la paja problema. Se han recogido los valores medios. Este período se ha comprobado que es suficiente para establecer una población de ciliados acomodados a la nueva ración (CHRISTIANSEN y col., 1964).

*Recuento y valoración cualitativa.*—La determinación cuantitativa se hizo por medio de la cámara Hawksley (B. S. 748). El líquido obtenido mediante sonda se diluía al 1/20 en solución acuosa de formalina al 10 %, para evitar una elevada concentración de ciliados, que hubiera dificultado el recuento en la cámara. Acto seguido, se procedía a filtrar por un colador de café, a fin de separar las partículas groseras. A continuación se llenaba la cámara.

La valoración cualitativa se hizo directamente al microscopio, siguiendo las técnicas ya descritas en otra publicación (ALLER GANCEDO, *ibid.*) Aunque se hizo diagnóstico específico, para facilitar el análisis de los resultados se agruparon los diversos ciliados en tres categorías: Holotricos, *Entodinium* spp. y otros Entodiniomorfos.

*Análisis estadísticos.*—Se realizó siguiendo las recomendaciones de CRAPLET (1954).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro I se resumen los datos correspondientes a la composición de las pajas y a la concentración de ciliados por ml. de líquido ruminal, así como la determinación cualitativa, expresada en porcentajes.

En primer término, se advierte que la alimentación exclusiva a base de paja de leguminosas no supone un medio desfavorable para la fauna ciliada de la panza, pues las cifras halladas pueden considerarse como perfectamente normales (CORDERO, *ibid.*) habida cuenta del momento de la toma de muestras. Estos resultados señalan que la afirmación recogida por HARMEYER (1965), según la cual la alimentación con pajas tiende a hacer disminuir la cantidad de ciliados de la panza, no puede aplicarse a las pajas de leguminosas. Más bien, aceptando los criterios de HUNGATE (1955), según los cuales puede valorarse la bondad de una ración, desde el punto de vista de la fisiología digestiva, por su influencia positiva en el mantenimiento de una floreciente población de ciliados, cabría afirmar que las pajas de leguminosas pueden reputarse como favorables, ya que la población se mantiene a niveles satisfactorios. Aparte de la influencia que puedan tener los componentes de las pajas, el tamaño de las partículas en esta experiencia garantizaba una retención ruminal suficiente, favorable al desarrollo de abundantes ciliados (CHRISTIANSEN, 1963).

Al comparar la relación existente entre el contenido en extractivos libres de N (ELN) y la magnitud de las poblaciones de ciliados, se advierte una tendencia clara hacia el incremento de estas últimas, a medida que asciende aquel valor. De acuerdo con tales datos, puede apreciarse en el gráfico 1.º la disposición de la recta de regresión, que responde a la ecuación

$$y = 2,88 x - 89,18$$

con un coeficiente de correlación

$$r = 0,7$$

Repasando las cifras de la columna relativa a los Holotricos, es patente que son éstos los que de modo más directo responden ante los incrementos de ELN. Concuerta nuestra observación con los conocimientos que tenemos relativos a la utilización de azúcares solubles por diversos Holotricos, en particular *Isotricha* y *Dasytricha* spp., que pueden formar un polisacárido del tipo de la amilopectina (HOLZ, 1964). Por otro lado, la recogida de las muestras al final del período del gran ayuno, permite evitar la influencia directa del contenido ruminal, pues al exceso de azúcares puede determinar el estallido de los Holotricos (CLARKE, 1965). Estos datos confirman los hallazgos de ALLER GANÇEDO (*ibid.*).

Por lo que respecta a la fibra, la situación es inversa. La recta de regresión (gráfico 2.º) responde a la ecuación.

$$y = - 3,2 x + 153,8$$

con un coeficiente de correlación

$$r = - 0,8$$

Evidentemente, en esta experiencia, el incremento de la fibra bruta revela un efecto negativo sobre el número total de ciliados. No obstante,

un estudio más detenido de los diversos grupos considerados, denota algunas peculiaridades. Los Holotricos, efectivamente, disminuyen a medida que aumenta la proporción de fibra de las pajas. Desde el 17,08 % de la población total, en presencia de paja con un 31,55 % (yeros), descienden por debajo del 6,80 % cuando la proporción de fibra sobrepasa un 40,33 % (almortas y demás pajas). El cálculo del coeficiente de correlación entre la proporción de fibra y el porcentaje de Holotricos de la población es

$$r = -0,803$$

próximo al 1 % de significación y válido al 5 %. La recta de regresión, en este caso, responde a la ecuación

$$y = 43,5 - 0,88 x$$

En cambio, concordando con observaciones anteriores (ALLER GANCEDO, *ibid.*), el aumento de la fibra parece favorecer la pululación de *Entodinium* spp. y demás Entodiniomorfos. Ciertamente, al realizar los cálculos correspondientes, agrupando en conjunto *Entodinium* spp. y los otros Entodiniomorfos, la recta de regresión es

$$y = 56,34 + 0,883 x$$

con un coeficiente de correlación

$$r = 0,816$$

significativo al 3 %. Estos resultados se hallan en armonía con el conocimiento de la capacidad digestiva de la celulosa que poseen numerosos Entodiniomorfos y, en particular, *Diplodinium* spp. (HUNGATE, 1955).

Por último la relación ciliados/proteína bruta de las pajas de leguminosas viene dada por la ecuación de regresión (gráfico 3.º)

$$y = 8,92 x - 42,8$$

cuyo coeficiente de correlación es

$$r = 0,66$$

que señala una dependencia positiva. Estos resultados se explican teniendo en cuenta la utilización de proteínas y aminoácidos libres que llevan a cabo diversos Ophryoscolecidae, que contribuyen activamente a la proteólisis en el rumen (HOLZ, 1964).

## RESUMEN

En 6 corderos alimentados sucesivamente con paja de yeros (*Ervilia sativa*), garbanzos (*Cicer arietinum*), veza (*Vicia sativa*), alubias (*Phaseolus vulgaris*), almortas (*Lathyrus sativus*) y habas caballares (*Vicia faba equina*), en períodos de 20 días, se estudió la población de ciliados ruminales, cuantitativa y cualitativamente, siempre al final del gran ayuno. La magnitud de la población osciló entre  $11,6 \times 10^4$  y  $61,5 \times 10^4$  por ml. de líquido ruminal. Entre los ELN y el número de ciliados se apreció una correlación positiva ( $y = 2,88 x - 89,18$ ;  $r = 0,7$ ). Igual

sucedió con la proteína bruta ( $y = 8,92 x - 42,8$ ;  $r = 0,66$ ). En cambio, la cifra total de ciliados mostró correlación negativa con los incrementos en fibra bruta ( $y = - 3,2 x + 153,8$ ;  $r = - 0,8$ ). No obstante, separando los ciliados en dos grupos, Holotricos y Entodiniomorfos, se demostró que la correlación es negativa con los primeros ( $y = 43,5 - 0,88 x$ ;  $r = - 0,803$ ), en tanto que resulta positiva para los segundos ( $y = 56,34 + 0,883 x$ ;  $r=0,816$ ). Estos resultados concuerdan con la utilización de las respectivas sustancias, por unos u otros ciliados.

## RESUME

On a étudié quantitativement et qualitativement, toujours à la fin du grand jeûne, la population de ciliés ruminants chez 6 agneaux alimentés successivement avec de la paille d'ers (*Ervilia sativa*), de pois chiches (*Cicer arietinum*), de vesce (*Vicia sativa*), de haricots (*Phaseolus vulgaris*), de lupins (*Lathyrus sativus*) et de fèves équine (*Vicia faba equine*) pendant des périodes de 20 jours.

La grandeur de la population oscilla entre  $11,6 \times 10^4$  et  $61,5 \times 10^4$  par ml. de liquide ruminant. Entre les ELN et le nombre de ciliés on observa une corrélation positive ( $y = 2,88 x - 89,18$ ;  $r = 0,7$ ). Il en fut de même avec la protéine brute ( $y = 8,92 x - 42,8$ ;  $r = 0,66$ ). Au contraire, le nombre total de ciliés montra une corrélation négative avec les augmentations en fibre brute ( $y = - 3,2 x + 153,8$ ;  $r = - 0,8$ ). Cependant, en séparant les ciliés en deux groupes, Holotriques et Entodiniomorphes, en démontra que la corrélation est négative avec les premiers ( $y = 43,5 - 0,88 x$ ;  $r = - 0,803$ ), alors qu'elle est positive avec les derniers ( $y = 56,34 + 0,883 x$ ;  $r = 0,816$ ). Ces résultats sont d'accord avec l'utilisation des substances respectives par les uns ou les autres ciliés.

## SUMMARY

We have carried out a quantitative and qualitative study on the population of ruminant ciliates, always at the end of long fast, in 6 lambs which were successively fed with vetch straw (*Ervilia sativa*), chick-pea straw (*Cicer arietinum*), tare straw (*Vicia sativa*), bean straw (*Phaseolus vulgaris*), vetchling straw (*Lathyrus sativus*) and horse-bean straw (*Vicia faba equina*) for periods of 20 days each. The extent of the population oscillated between  $11,6 \times 10^4$  and  $61,5 \times 10^4$  per ml of ruminant liquid. Between ELN and the number of ciliates a positive correlation was observed ( $y = 2,88 x - 89,18$ ;  $r = 0,7$ ). The same thing happened with raw protein ( $y = 8,92 x - 42,8$ ;  $r = 0,66$ ). Instead, the total ciliates showed a negative correlation with increases in raw fiber ( $y = - 3,2 x$

+ 153,8;  $r = 0,8$ ). However, by separating the ciliates into two groups Holotrics and Entodiniomorphous, it was shown that correlation is negative in the former ( $y = 43,5 - 0,88 x$ ;  $r = - 0,803$ ), while in the latter it is positive ( $y = 56,34 + 0,883 x$ ;  $r = 0,816$ ). These results agree with the use of respective substances by any of ciliates.

## AGRADECIMIENTO

Al Prof. Dr. E. Zorita, a cuyo servicio pertenecían los animales experimentales y bajo cuya dirección se realizó la experiencia de valoración nutritiva de las pajas.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLER GANCEDO, B. (1966): Investigaciones sobre la microfauna ruminal de la oveja en León y los factores que influyen en su composición cualitativa. *Rev. Ibér. Parasitol.*, **26**: 43-101 y 427-446.
- CLARKE, R. T. J. (1965). Diurnal variation in the numbers of rumen ciliate protozoa in cattle. *N. Z. J. Agric. Res.*, **8**: 1-9.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1965). Avances en el conocimiento de los ciliados ruminales de la oveja. *Avances Aliment. y Mejora Anim.*, **6**: 5-13.
- CRAPLET, C. (1954). *Statistique appliquée a la Biologie*. Vigot Frères Edit. Paris.
- CHRISTIANSEN, W. C. (1963). Nutrient and other environmental influences upon rumen protozoal growth and metabolism. *Tesis*. Iowa State University. Univ. Microfilms Inc., Ann Arbor, USA.
- , WOODS, W. y BURROUGHS, W. (1964). Ration characteristics influencing rumen protozoal population. *J. Anim. Sci.*, **23**: 984-988.
- FERBER, K. E. (1928). Die Zahl und Masse der Infusorien in Pansen und ihre Bedeutung für den Eiweissaufbau beim Wiederkäuer. *Z. Tierzucht u. Züchtungsbil.*, **12**: 31-63.
- HARMEYER, J. (1965). Zur Methodik experimenteller Untersuchungen and Pansen Protozoen. *Zentrabl. f. Bakt. etc.*, Reihe A, **12**: 841-880.
- HOLZ, G. G. (1964). Nutrition and metabolism of Ciliates. En HUTNER, S. H. (edit.). *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Vol. III, 199-244. Academic Press, Inc. New York. & London.
- HUNGATE, R. E. (1955). Mutualistic intestinal Protozoa. En HUTNER, S. H. (edit.). *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Vol. II, 159-199. Academic Press, Inc. New York & London.
- MOIR, R. J. (1951). The seasonal variation in the ruminal microorganisms of grazing sheep. *Austr. J. Agric. Res.*, **2**: 322-330.
- y SOMERS, M. (1956). A factor influencing the protozoal population in sheep. *Nature* (London), **178**: 1472.
- OVEJERO MARTÍNEZ, F. J. (1967). Energía digestible y metabolizable de las pajas de leguminosas para los óvidos. *An. Fac. Vet. León*. **13**: 307-354.
- USUELLI, R. (1930). Gli infusori ciliati che vivono nell'apparato digerente degli Erbivori. *La Clin. Vet.*, **53**: 543-569.
- Van der WATH, G. y MYBURGH, S. J. (1941). Studies on the alimentary tract of merino sheep. in South Africa. VI. The role of infusoria in ruminant bacteria. *Ontersteeport J. Vet. Sc.*, **17**: 61-88.

CUADRO I

Composición nutritiva de las pajas utilizadas

PAJAS	Composición analítica			Cuantitativo, (por ml.)	Recuentos		
	ELN	Fibra	Proteína		Cualitativo		
					Holot.	Entod. sp.	
Yeros .....	45,72	31,55	9,29	615.300	17,08	6,16	76,75
Carbanzos.....	43,23	36,90	9,92	396.000	14,30	8,50	77,20
Veza .....	43,08	37,92	7,41	243.000	7,87	1,87	90,25
Alubias .....	43,54	42,55	6,35	242.200	6,80	3,10	90,10
Guisantes .....	37,34	44,22	8,08	214.800	6,00	5,58	88,41
Almortas .....	34,85	40,33	8,06	199.000	4,60	1,90	93,50
Habas caballares .....	40,03	38,97	7,37	116.200	5,80	2,50	91,70

\* Extractivos libres de N.

Gráfico 1

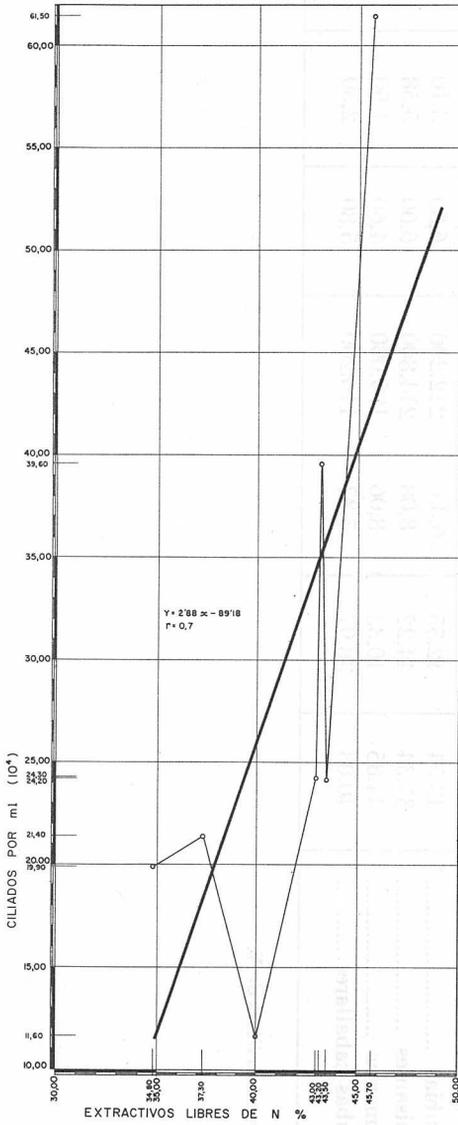


Gráfico 2

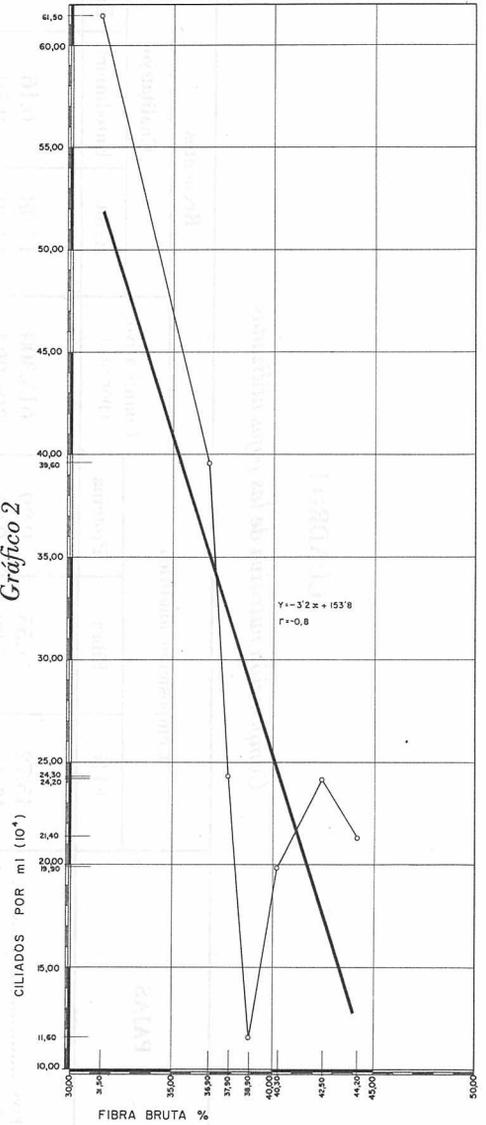


Gráfico 3

