

AISLAMIENTO DE BACTERIAS RUMINALES DEGRADADORAS DEL ASERRÍN

José M. Mateo-Sánchez (1), Mario A. Cobos-Peralta (2), Antonio Trinidad-Santos (1), Víctor Cetina-Alcalá (1) y Jesús Vargas-Hernández (1). 2002. *Agrociencia* 36:523-530.

(1) Especialidad Forestal. Instituto de Recursos Naturales; (2) Especialidad de Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Manejo del alimento](#)

RESUMEN

El aserrín es un subproducto con potencial en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, su alto contenido de carbohidratos estructurales ha limitado su inclusión. El aserrín de pino (*Pinus patula*) evaluado contiene 94% MS, 0.62% PC, 0.35% cenizas, y 88.72% FDN. Mediante técnicas de laboratorio para microorganismos anaerobios, se aisló un cultivo de bacterias ruminales degradadoras de aserrín (BRDA), formado por *Bacteroides stercorys* (celulolítica) y un cocobacilo (sólo estimula actividad celulolítica). El cultivo de BRDA puede utilizar glucosa, galactosa, fosfatos, glicina, arginina, prolina y N-acetilglucosamina. Se comparó la eficiencia para degradar aserrín o alfalfa entre BRDA y un cultivo de bacterias ruminales totales (BRT). La eficiencia para degradar aserrín de las BRDA fue superior ($p < 0.05$) al del cultivo de BRT, después de 72 h de incubación (10.0 vs 2.9%). En contraste, la degradación de alfalfa fue mayor ($p < 0.05$) con el cultivo de BRT (59.7 vs 22.1%). La fase lag y la eficiencia para degradar carbohidratos estructurales (*in vitro*) en BRDA fue superior a la reportada en *Neocallimastix frontalis*; por tanto, se sugiere estudiar el efecto de BRDA como inóculo alimenticio del cultivo mixto aislado, en rumiantes alimentados con diferentes niveles de aserrín en su dieta.

Palabras clave: Aserrín, bacterias ruminales, inóculos bacterianos.

INTRODUCCIÓN

En México se procesan anualmente poco más de 8 millones m³ de madera, de la cual 70% se destina a la industria del aserrío y se generan 2 800 000 m³ de aserrín (SEMARNAP, 2000). El aserrín es un producto altamente estable, y aunque tiene ciertos usos (producción de tabique, combustible, cama para corrales y producción de papel), actualmente no hay alternativas para su uso a gran escala; por tanto, su acumulación es una seria contaminación de los suelos donde se deposita (Starbuck, 1997). Como una medida de control para la calidad del ambiente, existe una regulación federal que prohíbe la quema del aserrín, por lo que en los aserraderos se regala o vende a precios mínimos, o se tira en forma clandestina para evitar su acumulación en los aserraderos. El uso del aserrín como alimento para rumiantes representa una alternativa para utilizar cantidades masivas del subproducto.

En la alimentación de rumiantes se ha utilizado aserrín de encino (*Quercus* sp.; El-Sabban *et al.*, 1972) o de pino (*Pinus ponderosa*; Slyter y Kamstra, 1974), concluyéndose que 10 a 15% de aserrín en la dieta no afecta negativamente el consumo de alimento o la ganancia de peso de los animales. En contraste, 0, 15, 20, 25 y 30% de pino (*Pinus ponderosa*) en dietas para toretes disminuyó la ganancia de peso y consumo de alimento, aunque con 15% se redujo (13%) el costo de alimentación (Sánchez, 1976). La baja eficiencia productiva en rumiantes alimentados con aserrín, indica que los microorganismos ruminales no son muy eficientes para degradar y fermentar el sustrato, o que su concentración en rumen es muy baja.

Mediante la inoculación de bacterias seleccionadas por su capacidad para degradar aserrín, sería posible incrementar la concentración de estas bacterias en el rumen y estimular la respuesta productiva en rumiantes alimentados con este subproducto. El desarrollo de inóculos bacterianos y su potencial para aumentar la concentración de bacterias deseables en el rumen, ha sido reportado con bacterias degradadoras de cáscara de camarón (Cobos y Yokoyama, 1995) y bacterias ruminales utilizadoras de ácido láctico (Wallace, 1994).

La hipótesis del presente estudio es que hay bacterias ruminales capaces de degradar aserrín y que se pueden aislar mediante medios anaerobios selectivos. El estudio es parte inicial de un proyecto (CONACYT: 37946-B) que tiene como meta producir un inóculo de bacterias ruminales que permita la incorporación exitosa del aserrín en la alimentación de rumiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procesamiento del aserrín

Se recolectó aserrín de pino (*Pinus patula*) en un aserradero, se molió a un tamaño de partícula menor a 2 mm, se secó a 70°C durante 24 h, y se determinó su contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (AOAC, 1984); fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA) según Van Soest *et al.* (1991). Otra parte de la

muestra se esterilizó en una autoclave a 15 psi durante 15 min, y se utilizó como sustrato para preparar el medio anaerobio selectivo utilizado para el aislamiento de bacterias ruminales degradadoras de aserrín.

Medios selectivos

La composición de los medios de cultivo sólido y líquido (Cobos y Yokoyama, 1995) está descrita en el Cuadro 1. Para conservar la anaerobiosis, los medios se prepararon bajo flujo de bióxido de carbono.

Cuadro 1. Medios de cultivo utilizados para el aislamiento de bacterias ruminales degradadoras de aserrín de pino.

Componentes	Medio líquido	Medio sólido
Agua destilada	52.6 mL	41.1 mL
Líquido ruminal clarificado [†]	30.0 mL	30.0 mL
Solución mineral I [‡]	5.0 mL	5.0 mL
Solución mineral II [§]	5.0 mL	5.0 mL
Resazurina (sol. a 0.1%)	0.1 mL	0.1 mL
Tripticase-peptona	0.2 mL	0.2 mL
Cisteína-sulfido [‡]	2.0 mL	2.0 mL
Extracto de levadura	0.1 g	0.1 g
Carbonato de sodio (sol. a 8%)	5.0 mL	5.0 mL
Glucosa	0.0	0.06 g
Celobiosa	0.0	0.06 g
Almidón	0.0	0.06 g
Agar	1.5 g	0.0
Aserrín (<i>Pinus patula</i>)	10.0 g	0.0

El líquido ruminal fresco se filtró con manta de cielo, se centrifugó a 23000 g (unidades de gravedad relativa) por 15 min a 4°C y se esterilizó por 20 minutos a 15 psi y 121°C. Contiene (por 1000 ml) K₂HPO₄ 6.0 g. § Contiene (por 1000 mL) KH₂PO₄ 6 g; (NH₄)₂SO₄ 6.0 g; NaCl 12 g; MgSO₄ 2.45 g; CaCl₂·2H₂O 1.6 g (Bryant y Robinson, 1962) v; ‡ 2.5 g L-cisteine (disuelta en 15 mL de 2N NaOH), más 2.5 g de Na₂S·9H₂O. La mezcla es aforada a 100 mL con H₂O v

Método de aislamiento de bacterias ruminales degradadoras de aserrín (BRDA)

Se depositó 1 g de aserrín previamente esterilizado en tubos de cultivo de 18 x 150 mm y se adicionaron 9 mL del medio de cultivo líquido (Cuadro 1), en condiciones de anaerobiosis, utilizando flujo de CO₂ para evitar la entrada de aire. Los medios de cultivo se incubaron a 38.5°C durante tres días para comprobar que no crecieran bacterias contaminantes. Para tener muestras de diferentes poblaciones microbianas, se utilizó como inóculo líquido ruminal fresco de dos vacas y tres borregos provistos con cánula ruminal y alimentados con alfalfa fresca (60%) y ensilado de maíz (40%). De cada animal se recolectó 250 mL de fluido ruminal que se utilizó como inóculo inicial de aislamiento. Con cada inóculo se inocularon 10 tubos de cultivo (1 ml por cada tubo) que se incubaron a 38.5°C durante 10 d. Al término del periodo de incubación, se seleccionaron los tres tubos de cultivo que presentaron una mayor degradación del aserrín, turbidez y producción de gas, y se estimuló el desarrollo de colonias bacterianas puras mediante la técnica del tubo rodado (Hungate, 1969) utilizando el medio de cultivo sólido (Cuadro 1). Después de 48 h de incubación se seleccionaron las colonias con mayor concentración (unidades formadoras de colonias) por ml de inóculo y se reinocularon en el medio de cultivo líquido. Este proceso se repitió tres veces para asegurar que las bacterias aisladas tuvieran un crecimiento efectivo en el medio de cultivo selectivo para bacterias degradadoras de aserrín.

Caracterización de las BRDA

Para esta prueba se seleccionó el cultivo mixto aislado de una de las vacas fistuladas debido a que presentó mayor producción de gas y turbidez en el medio líquido selectivo. En las bacterias aisladas se determinó su tinción Gram y morfología con ayuda de un microscopio de contraste, y su perfil metabólico mediante la técnica semiautomatizada RapID ANA II System™ (1995).

Capacidad para degradar aserrín

Para estimar la capacidad del cultivo mixto para degradar aserrín se realizó una prueba de incubación en tubos de cultivo con 9 ml de medio líquido y 50 mg de aserrín (base seca). Los tubos de cultivo se inocularon con 1 mL de BRDA o con bacterias ruminales totales (BRT), extraídas de dos vacas con cánula ruminal; luego se inició el aislamiento y selección de bacterias. La capacidad para degradar aserrín se evaluó a las 3, 12, 24, 48 y 72 h de incubación a 38.5°C. Al término de cada periodo, el aserrín no degradado se recuperó por filtración en papel Whatman No. 41, se secó a 60 oC por 24 h y se pesó para estimar la cantidad de aserrín degradado. Las pruebas se

realizaron por triplicado. También se hizo la prueba con alfalfa deshidratada para comparar la capacidad para degradar un sustrato de uso común en la alimentación de rumiantes y con menor contenido de fibra, con la capacidad para degradar aserrín de las bacterias del cultivo BRDA.

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (2x5), considerando los cultivos mixtos de BRDA y BRT, y el tiempo de incubación (3, 12, 24, 48 y 72 h) como factores. Las medias se compararon con el método de Tukey, utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químicos del aserrín de pino

De acuerdo con los resultados del análisis químico, el aserrín tiene 94% MS, 0.62% PC, 0.35% cenizas. Del análisis de fibra se determinó que la FDN es el principal componente del aserrín (94.39% de MS). Estos datos confirman que el aserrín es una fuente exclusiva de carbohidratos estructurales, con un aporte casi nulo de proteínas o minerales. En el Cuadro 2 se aprecia que los resultados obtenidos son similares a los reportados por Schultz y Taylor (1990).

Una alta concentración de FDA en forrajes se asocia con una baja digestibilidad ruminal, mientras que una alta concentración de FDN se relaciona con un menor consumo de alimento (Fahey y Berger, 1988). El aserrín tiene un alto contenido de FDN y FDA, por lo que su consumo y digestibilidad es bajo. Esto explica la disminución en consumo de alimento y ganancia de peso de rumiantes alimentados con aserrín (Sánchez, 1976; El-Sabban *et al.*, 1972; Slyter y Kamstra, 1974).

Aislamiento de bacterias ruminales degradadoras de aserrín (BRDA)

Del proceso de selección en medios anaerobios selectivos se aisló un cultivo mixto formado por dos bacterias Gram negativas, un cocobacilo y un bacilo en una proporción de 45:55. Mediante la prueba de caracterización metabólica se determinó que este cultivo mixto puede utilizar o fermentar aserrín, glucosa, galactosa, Nacetilglucosamina, ribosa, xilosa, ramanosa, celobiosa, rafinosa, fosfatos, glicina, arginina, y prolina; sin embargo, no degradó urea, arabinosa, fucosa, glicerol, trehalosa, fenilalanina, serina, pirroles y triptofano.

Cuadro 2. Contenido de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y hemicelulosa (% de MS), en aserrín de coníferas y latifoliadas.

Componente	Coníferas [†]	Coníferas [‡]	Latifoliadas [‡]
FDN	94.39 ± 1.13	94.1	93.1
FDA	83.04 ± 3.37	67.9	65.0
Hemicelulosa	11.35 ± 0.52	26.2	28.1

[†] Datos estimados a partir de análisis químicos del aserrín v;

[‡] Datos estimados a partir de valores originales de Schultz y Taylor (1990) v

De acuerdo con el perfil metabólico, el bacilo aislado pertenece a la especie *Bacteroides stercorisy*, un habitante natural del tubo digestivo y excretas animales (RAPID ANA II System, 1995). El cocobacilo es una bacteria Gram negativa, no mótil, esférica de 0.8-1.0 mm. Esta bacteria fue incapaz de crecer o degradar aserrín o celulosa después de 72 h de incubación en el medio de cultivo líquido (Cuadro 1). De acuerdo con la clasificación de Holt *et al.* (1994), las bacterias de este grupo no tienen actividad celulolítica. Sin embargo, el cocobacilo en el cultivo mixto (*B. stercorisy* + cocobacilo) causó una mayor degradación de aserrín que la de un cultivo axénico de *B. stercorisy* después de 72 h de incubación (9.25±0.53 vs 5.25±0.65). Esto indica que el cocobacilo es una bacteria secundaria requerida en el cultivo mixto para una mejor degradación del aserrín por la especie celulolítica aislada. Este resultado es similar al de un cultivo mixto de bacterias ruminales seleccionadas para degradar rastrojo de maíz, y donde disminuyó (40% a 12%) la degradación del rastrojo de maíz (después de 72 h de incubación) cuando se evaluó individualmente las bacterias ruminales del cultivo mixto (Miranda *et al.*, 1999). El mecanismo de esta interacción es desconocido y se requiere estudios específicos para determinar si se trata de una interacción microbiana de interdependencia, alimentación cruzada, mutualismo o de otro tipo (Cobos, 2002).

Degradación anaerobia *in vitro* del aserrín y de la alfalfa

Los resultados (Cuadro 3) confirmaron que las BRDA son más eficientes ($p < 0.05$) para degradar aserrín que las bacterias ruminales totales (BRT) a partir de las 48 h de incubación. La diferencia en la degradación del aserrín a las 48 h de incubación fue de 5.5 vs 2.5%, y a las 72 h fue de 10.0 vs 2.9% (BRDA vs BRT). Aunque los porcentajes de degradación del aserrín son bajos para ambos cultivos bacterianos, el valor obtenido con la BRDA representó un incremento en la degradación del aserrín *in vitro* de 221% y 345% (48 y 72 h).

Cuadro 3. Degradación de aserrín por bacterias ruminales degradadoras de aserrín (BRDA), o por bacterias ruminales totales (BRT).

Tiempo de incubación, h	Aserrín degradado, % de MS		EEM
	BRDA	BRT	
3	0.6 [†]	0.9 [†]	1.061
12	0.3 [†]	0.2 [†]	0.163
24	0.8 [†]	0.2 [†]	0.310
48	5.5 [‡]	2.5 [†]	2.189
72	10.0 [‡]	2.9 [†]	4.125

†,‡,§,‡,‡ Diferente superíndice indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre columnas e hileras v

En cuanto a la degradación de la alfalfa, las BRT fueron más eficientes ($p < 0.05$) que las BRDA en todas las incubaciones (Cuadro 4). La degradación *in vitro* de la alfalfa por el cultivo de BRT está dentro de los valores promedio para bacterias ruminales totales (Vélez y Cobos, 1997). Aunque el cultivo de BRDA degradó un mayor porcentaje de alfalfa que de aserrín después de 72 h de incubación (22.1 vs 10.0), se puede notar que en el caso del aserrín la degradación aumentó a partir de las 24 h de incubación, mientras que la degradación de alfalfa se detuvo a las 24 h sin presentar diferencias significativas ($p > 0.05$) a las 48 y 72 h. Estos resultados indican que el cultivo aislado de BRDA tiene una capacidad menor para degradar alfalfa, pero superior para degradar aserrín que el de las BRT.

Cuadro 4. Degradación de alfalfa por bacterias ruminales degradadoras de aserrín (BRDA), o por bacterias ruminales totales (BRT).

Tiempo de incubación (h)	Alfalfa degradada, % de MS		EEM
	BRDA	BRT	
3	9.7 [†]	16.3 [†]	6.515
12	12.8 [†]	19.6 [†]	6.861
24	23.4 [‡]	32.2 [‡]	5.588
48	23.5 [‡]	52.9 [‡]	16.194
72	22.1 [‡]	59.7 [‡]	20.746

†,‡,§,‡,‡,‡ Diferente superíndice indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre columnas e hileras

Los inóculos de BRDA y BRT utilizados en la degradación *in vitro* del aserrín se obtuvieron de las mismas vacas, lo que sugiere la existencia de bacterias degradadoras de aserrín en rumen. Sin embargo, considerando la baja degradación del aserrín obtenida con el cultivo mixto de BRT, se estima que su concentración en rumen debe ser mínima o que algún factor químico o físico del ambiente ruminal no favorece su actividad.

La fase de adaptación (lag) en el medio de cultivo con aserrín fue demasiado larga (24 h) para el cultivo mixto de BRDA y BRT en comparación con el medio de cultivo con alfalfa, donde la degradación del sustrato se inició a las 3 h de incubación. Aunque las BRDA degradaron más alfalfa que aserrín a las 72 h (22.1 vs 10.0%), la degradación de la alfalfa se detuvo a las 24 h, mientras que la de aserrín continuó en aumento. Lo anterior indica que el cultivo de BRDA desarrolló una represión catabólica en alfalfa, reprimiendo la síntesis de enzimas para degradar carbohidratos estructurales, mientras había carbohidratos solubles o de fácil catabolismo. La represión catabólica de carbohidratos estructurales se ha demostrado en bacterias fibrolíticas como *Ruminococcus albus* (Thurston *et al.*, 1994) y *Streptomyces reticuli* (Walter y Schrempf, 1996), las cuales inhiben su síntesis de enzimas celulolíticas o los sistemas de transporte de los carbohidratos que componen la hemicelulosa en presencia de glucosa, glicero y fructosa.

Como se puede observar en el Cuadro 3, sólo a las 48 h de incubación se inició una degradación significativa ($p < 0.05$) del aserrín en los medios inoculados con BRDA, con un máximo de 10% a las 72 h de incubación. El amplio periodo de la fase lag (48 h) y la baja degradación del aserrín expresado en el cultivo mixto BRDA, sugiere que el cultivo aislado no es tan eficiente como se esperaba.

Sin embargo, estos resultados son superiores a los obtenidos *in vitro* con *Neocallimastix frontalis*, un hongo ruminal con alta capacidad para degradar carbohidratos estructurales, una fase lag un poco superior a las 48 h y una degradación máxima de celulosa de 10% a las 100 h de incubación en un medio anaerobio similar al utilizado en este estudio (Bauchop y Mountfort, 1981).

De acuerdo con Joblin *et al.* (1990), la menor eficiencia que muestran microorganismos ruminales degradadores de celulosa, se debe a que los medios de cultivo en los estudios *in vitro* no incluyen todas las condiciones físico-químicas y nutritivas presentes en rumen, aunado a la falta de interacciones con otros microorganismos que estimulan su actividad (bacterias metanogénicas). Por tanto sería posible una mayor eficiencia una vez que se introducen microorganismos seleccionados al rumen. Lo anterior hace necesario evaluar la actividad del cultivo

mixto de BRDA como inóculo en rumiantes alimentados con aserrín, antes de concluir acerca de su utilidad. Así mismo, se requieren estudios *in vitro* que permitan establecer las interacciones microbianas y factores de crecimiento necesarias para disminuir la fase lag y aumentar la degradación de aserrín. Por ejemplo, la inclusión de bacterias metanogénicas en cocultivo con *Neocallimastix frontalis*, incrementó la degradación de celulosa por el hongo de 10% a 70% después de 100 h de incubación (Bauchop y Mountfort, 1981).

CONCLUSIONES

De acuerdo con su alto contenido de FDN y FDA, el aserrín se compone principalmente de carbohidratos estructurales con muy baja digestibilidad ruminal. Mediante el uso de medios selectivos para microorganismos anaerobios y a partir de fluido ruminal fresco, es posible aislar bacterias ruminales con mayor capacidad para degradar aserrín. La fase de adaptación fue lenta y la degradación de aserrín baja con el cultivo mixto de BRDA aislado, pero superior a la reportada con otros microorganismos ruminales celulolíticos. Por tanto, su uso potencial como inóculo en dietas para rumiantes alimentados con aserrín dependerá de una evaluación *in vivo* del cultivo mixto aislado.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación forma parte de un proyecto financiado por el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México). Proyecto No. 37946-B, intitulado "Aislamiento de un cultivo mixto de bacterias ruminales lignolíticas y producción de un inóculo con potencial para degradar aserrín y polietilentereftalato.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis (14th ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1018 p.
- Bauchop, T. and D. O. Mountfort. 1981. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogenes. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 1103-1110.
- Bryant, M. P. and I. M. Robinson. 1962. Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. *J. Bacteriol.* 64:605-613.
- Cobos, M. A., Yokoyama, M. T. 1995. *Clostridium paratrificum* var. *ruminantium*: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. In: Rume Ecology Research Planning. Wallace R.J. and Lahlou-Kassi (eds.). Proceedings of a workshop held at the International Livestock Research Institute (ILRI), Addis Ababa, Ethiopia. pp: 151-161.
- Cobos, P. M. A. 2002. Interacciones entre microorganismos ruminales. In: Microbiología Agrícola para el Siglo XXI. Ferrera-Cerrato R. (ed.). MundiPrensa, México, D. F. (en prensa).
- El-Sabban, F. F., T. A. Long and B. R. Baumgardt. 1972. Utilization of oak sawdust as a roughage substitute in beef cattle finishing rations. *J. Anim. Sci.* 32: 749-755.
- Fahey, G. C., and L. L. Berger. 1988. Carbohydrate nutrition in ruminants. In: The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. Church, D.C. (ed.). Prentice Hall, N. J. pp: 269-297.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staanelly and S. T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. Baltimore, USA. pp: 347-348.
- Hungate, R. E. 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. In: Methods in Microbiology. Vol. 3. Norris, J. R and D. W. Ribbons (eds.). Academic Press Inc., New York, USA. pp:117-132.
- Miranda, R. L. A., M. A. Cobos P., G. D. Mendoza M., S. S. González M., y C.M. García B. 1999. Degradación *in vitro* de rastrojo de maíz con cultivos mixtos de bacterias ruminales. *Agrociencia* 33(2):133-139.
- RapID ANAII System. 1995. Code Compendium V5.93. Innovative Diagnostic Systems. Inc. Norcross, GA. USA. 298 p.
- SAS 1985. Statistical Analysis System. SAS User's Guide. Version 5, SAS Institute Inc. Cary, NC. USA. 1292 p.
- SEMARNAP. 2000. Texto Guía Forestal. Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. México, D.F. 105 p.
- Schultz, T. P. and F. W. Taylor. 1990. Wood. In: Biomass Handbook. Gordon and Breach Science Publishers. New York. pp: 154-192.
- Slyter, A. L. and L. D. Kamstra. 1974. Utilization of pine sawdust as a roughage substitute in beef finishing rations. *J. Anim. Sci.* 38:693-696.
- Sánchez, J. E. 1976. Utilización del aserrín de pino (*Pinus ponderosa*) como sustituto de rastrojo de maíz en raciones para ganado de engorda. *Técnica Pecuaria en México*, 31: 79-84.
- Starbuck, C. 1997. Producción y uso de composta de aserrín y estiércol de avena. III Simposium internacional y IV Reunión nacional de agricultura sostenible. Universidad de Guadalajara, 16-19 de noviembre, Guadalajara, Jalisco. pp: 96.
- Thurston, B, K. A. Dawson, and H. J. Strobel. 1994. Pentosa utilization by the ruminal bacterium *Ruminococcus albus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1087-1092.
- Vélez, H. L. y M. Cobos P. 1997. Comparación de la digestibilidad *in vitro* de tres leguminosas, entre bacterias cecales de la iguana negra, del conejo y bacterias ruminales. Memorias del XV Simposio sobre Fauna Silvestre. 29-31 de octubre, FMVZ-UNAM, México, D.F. pp: 174-179.
- Wallace, R. J. 1994. Ruminant microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: Progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72: 2992- 3003.

- Walter, S., and H. Schrempf. 1996. Physiological studies of cellulase (Avicelase) synthesis in *Streptomyces reticuli*. Appl. Environ. Microbiol. 62:1065-1069.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Volver a: [Manejo del alimento](#)