

METABOLISMO RUMINAL DE LOS HIDRATOS DE CARBONO Y LOS LÍPIDOS

Pechin, G. H

Destino del piruvato en anaerobiosis. Fermentación.

Concepto: Una fermentación es una oxidación en ausencia de oxígeno, donde los equivalentes de reducción producidos transfieren los hidrógenos a productos intermedios o finales de distintas vías metabólicas.

Tipos de fermentación

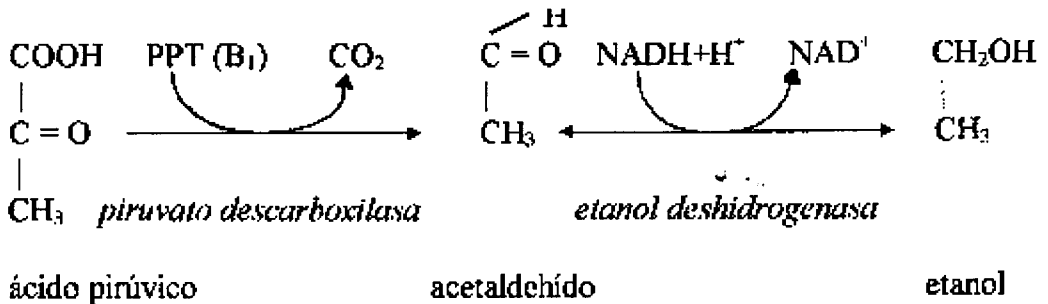
Existen distintos tipos de fermentación, clasificados de acuerdo a los productos finales obtenidos. Algunos tipos son los siguientes:

- Homoláctica: Se producen en el músculo en ejercicios violentos o en el rumen, estando a cargo en este último caso de bacterias de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*.



- Heteroláctica: La mitad de la glucosa fermentada es convertida en ácido láctico. El resto aparece como CO_2 , alcohol, ácido fórmico y ácido acético. En este tipo de fermentación se utiliza más la vía de las pentosas que la de Embden-Meyerhof. Se da en el género *Leuconostoc* y en algunos *Lactobacillus*.

- Alcohólica: Se da en levaduras.



- Otras:

- propiónica: Se da en quesos y rumen. Género Propionibacterium.
- butírica: Géneros Clostridium, Butyrivibrio, Fusobacterium, Eubacterium.
- mixta: Los productos finales son ácidos láctico, acético, succínico, fórmico y etanol.

Géneros Escherichia, Shigella, Salmonella.

El rumen como un sistema complejo de fermentación

El rumen se asemeja a un sistema de cultivo continuo, en el cual hay una continua incorporación de agua y alimentos para los microorganismos y una permanente remoción de deshechos y productos finales, cuya acumulación podría frenar el proceso fermentativo. El rumen del hospedador asegura a los microorganismos que alberga (bacterias, protozoos y hongos) una serie de condiciones estables de temperatura (39-40° C), osmolaridad, potencial redox y pH. El pH está regulado entre valores de 5,5 y 7,2, debido, en parte, a la absorción a través de la pared ruminal de los ácidos grasos volátiles (AGV) y, en parte, por la acción de los buffers (en condiciones de pH fisiológico del rumen, los principales son los bicarbonatos).

El rumen se considera un ecosistema anaerobio estricto, donde la mayor parte de los componentes del alimento son degradados y fermentados por una microflora y una microfauna extremadamente abundantes y diversas. La población microbiana es la más numerosa, con una concentración de $1 \times 10^{10} - 10^{11}$ /g de contenido ruminal, y representa alrededor del 50 % de la biomasa microbiana total. Han sido descritas unas 60 especies, pero hasta el momento se han aislado más de 200. Sin embargo, sólo entre 30 y 40 especies pueden considerarse como autóctonas del rumen, mientras que las demás aparecen de manera transitoria, a partir de la contaminación de los alimentos. La microfauna, compuesta por protozoos (ciliados, en su gran mayoría), con una concentración de $1 \times 10^5 - 10^6$ /ml de contenido ruminal, comprende el 40 % de la biomasa microbiana. Los hongos anaerobios celulolíticos fueron la última población en ser descubierta y estudiada, son particularmente abundantes en regímenes ricos en forrajes groseros, pero la importancia de su función no fue totalmente evaluada. Se calcula que componen el 8 % de la biomasa microbiana.

La función esencial de los microorganismos del rumen, en el cual la presencia de las especies bacterianas celulolíticas es irremplazable, reside en su capacidad de degradar y fermentar los polisacáridos de las paredes vegetales en compuestos asimilables para el rumiante hospedador. No debe olvidarse que su presencia y actividad depende de un conjunto muy vasto de microorganismos, que conforman, muchas veces, verdaderas cadenas tróficas. Así, los productos terminales de la fermentación provenientes de la celulolisis son el resultado de interacciones complejas que se ponen en juego simultánea o sucesivamente: las poblaciones hidrolíticas hidrolizan los polímeros de las paredes celulares vegetales (PCV), otras poblaciones fermentan los glúcidos solubles que provienen del alimento o de la degradación de los polímeros parietales por parte del primer grupo, luego existen poblaciones que utilizan los ácidos orgánicos producidos por las especies precedentes, y, finalmente, las bacterias metanogénicas utilizan el hidrógeno y el ácido fórmico producidos por las otras especies para formar metano.

En el caso del nitrógeno, la actividad secuencial de las poblaciones proteolíticas, peptidolíticas y desaminantes conduce a la producción de amoníaco.

Principales Hidratos de Carbono y su degradación ruminal

Normalmente, la mayor parte de la dieta de los rumiantes en nuestro país está compuesta por forrajes (frescos o conservados), aunque a veces se utiliza una suplementación con granos o con una ración completa, como en el caso del tambo o en

engordes a corral (feed lot) , o bien como en el caso de suplementaciones continuas o estratégicas sobre verdeos o pasturas en invernada.

Para comprender como el rumiante hace uso de los hidratos de carbono (HC) de su dieta es necesario recordar que la célula vegetal posee componentes estructurales (pared celular), como celulosa, hemicelulosa, lignina y una proporción menor de pectina, cutina y proteínas. En su interior, la célula contiene una serie de HC solubles, especialmente mono y disacáridos que, aunque se hallan en un % menor, cumplen un rol importante en el proceso global de la fermentación ruminal, ya que junto con el almidón soluble (en el caso de utilizar granos) proveen la energía rápidamente fermentable para los microorganismos.

Se describirán, a continuación, los principales HC y su proceso de degradación a nivel ruminal.

Celulosa

La celulosa, cuantitativamente el principal HC de las plantas, ya que forma entre el 20 y el 40 % de la Materia Seca (MS), es un polisacárido homoglicano, es decir, formado por un sólo tipo de monosacárido.

La celulosa tiene, como se señaló, una función estructural en la pared vegetal, y se halla combinada con lignina, hemicelulosa, cutina y minerales (sílice). Es raro encontrar la celulosa en estado puro (la fibra de algodón contiene un 90 % de celulosa; la madera, un 45 %).

La estructura de la celulosa, consiste en un polímero de unidades de glucosa, unidas con enlaces β 1-4 glicosídicos (trans), que le confieren una configuración de cinta (lineal). La unidad que se repite es, en realidad, de dos glucosas (celobiosa). Es muy polimerizada y poco ramificada. Las uniones puente de Hidrógeno tornan a la estructura aún más estable.

La digestibilidad (proporción de un alimento o nutriente que es digerido en el tubo digestivo o una porción de éste) de la celulosa depende de varios factores:

- * grado de unión a sustancias refractarias a la digestión (lignina, sílice, cutina).
- * propiedades intrínsecas de la celulosa (grado de cristalinidad, grado de polimerización).
- * contenido de humedad de la fibra.

La fibra de celulosa tiene regiones con moléculas lineales altamente ordenadas (en paralelo), con abundantes uniones puentes de H. Estas regiones forman la celulosa cristalina, que es degradada más lentamente que la celulosa amorfa, más hidratada.

La degradación de la celulosa en el rumen es realizada por bacterias celulolíticas, por algunos géneros de protozoos celulolíticos y por hongos anaerobios.

Las especies de bacterias celulolíticas dominantes son *Fibrobacter succinogenes* y *Butyrivibrio fibrisolvens* (ambos bacilos Gram (-)) y *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens* (cocos Gram (+)).

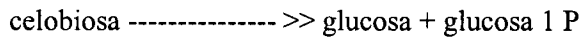
La fijación de las bacterias celulolíticas al sustrato se realiza por medio del glicocálix (glicoproteínas). Esto facilita una degradación más eficiente y reduce al mínimo la pérdida de productos hidrolíticos.

La digestión de los tejidos vegetales tiene lugar en forma progresiva y secuencial. Las bacterias penetran inicialmente por los estomas y las fracturas creadas por la molienda y la masticación del alimento. La mayor parte de la colonización se da en la superficie interior de la pared celular. Trabajando allí, las colonias de bacterias quedan protegidas de la predación de los protozoos y de la competencia por los nutrientes por parte de otras especies bacterianas.

Las bacterias celulolíticas producen una proteína no hidrolítica que estimula la acción de las celulasas, probablemente favoreciendo su fijación a la celulosa.

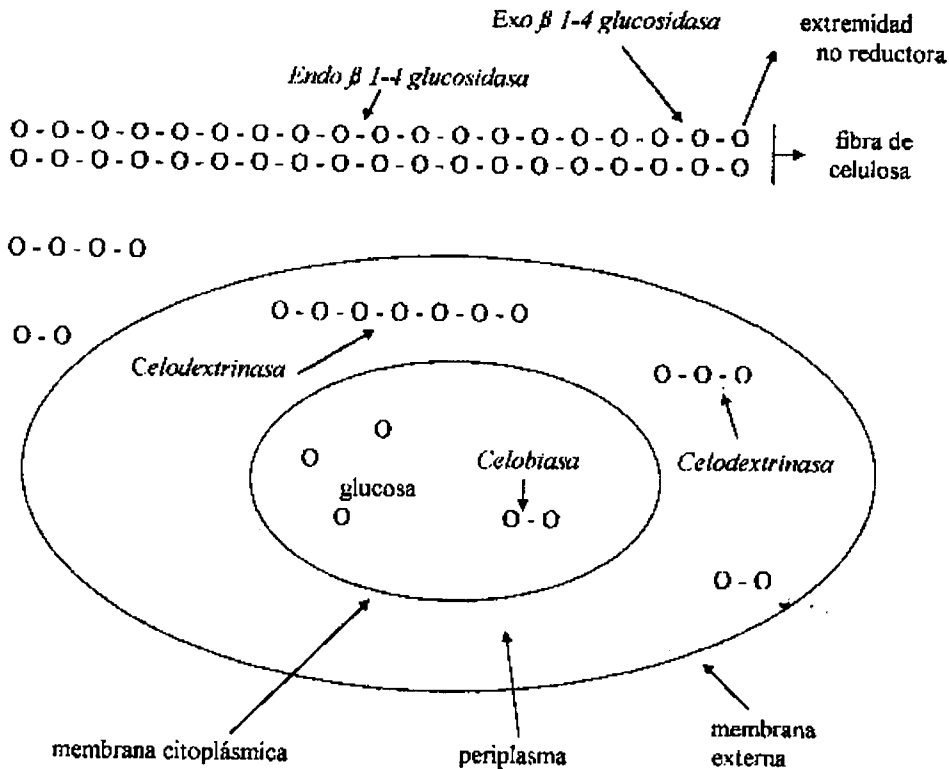
Las fases de la degradación de la celulosa pueden esquematizarse así:

- a) Desagregación: esta fase se realiza por acción de las celulasas C1, que atacan los puentes de H de la celulosa y dan por resultado una rápida pérdida de tensión de la fibra.
- b) Hidrólisis extracelular: en esta fase actúan las celulasas Cx, que son enzimas extracelulares. Son endo y exo β 1-4 glucosidasas. Las exo β 1-4 glucosidasas remueven unidades celobiosas a partir del extremo no reductor de las cadenas de celulosa. Las endo β 1-4 glucosidasas atacan las uniones internas al azar. Originan oligosacáridos de bajo PM (celodextrinas), que contienen 3 a 7 unidades de glucosa. Luego actúan las celodextrinasas, que originan, por su acción hidrolítica, glucosa y celobiosa.
- c) Metabolismo intracelular: las bacterias celulolíticas prefieren la celobiosa a la glucosa, como nutriente. La celobiosa penetra por medio de un "carrier" o transportador. En el interior de la célula (en la membrana o en el citoplasma) actúa la celobiosa fosforilasa, que cataliza la siguiente reacción de fosforólisis:



Esta organización permite a las bacterias poder utilizar muy eficazmente la glucosa y la celobiosa liberadas en el curso de la hidrólisis de la celulosa. Finalmente, la glucosa liberada es metabolizada por las bacterias, pudiendo, incluso, una parte, ser almacenada en el citoplasma bajo la forma de glucógeno.

Se representa seguidamente, el modelo actual de degradación de la celulosa por las enzimas caracterizadas de *Fibrobacter succinogenes*.



En *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens*, si bien el conjunto de su actividad celulásica es similar a *F. succinogenes*, las enzimas celulolíticas están asociadas en un conjunto multienzimático de muy alto peso molecular, presente en la superficie de las bacterias capaz de hidrolizar la celulosa en celobiosa y glucosa.

Los protozoos ciliados entodiniomorfos (de los géneros *Entodinium*, *Polyplastron*, *Epidinium*, *Metadinium*, *Eudiplodinium* y *Diplodinium*) atacan los HC parietales de una manera diferente a la de las bacterias. Los protozoos ingieren las fibras vegetales y luego las mismas son incluidas en vacuolas digestivas. Allí son degradadas por sus propias enzimas celulolíticas.

Hacia 1975, comenzaron a estudiarse los hongos anaerobios, los cuales colonizan abundantemente los tejidos ligno-celulósicos de los vegetales. Estos hongos se encuentran exclusivamente en los ecosistemas digestivos de los rumiantes (rumen, ciego, colon). Poseen un aparato enzimático, asociada a la pared fúngica, que le permiten degradar una serie de HC, entre ellos celulosa y hemicelulosa.

Hemicelulosa

La hemicelulosa es un polisacárido heteroglicano. No es, como su nombre lo podría indicar, la mitad de la celulosa.

La hemicelulosa y la lignina se encuentran en la pared secundaria de los vegetales, que se va formando a medida que la planta madura.

Su estructura principal es una cadena de xilosas (xilanos), con uniones β 1-4. Posee ramificaciones de arabinosa (uniones β 1-3) y ácido glucurónico (uniones β 1-2, 1-3 y 1-4).

Es el HC más relacionado con la lignina, con uniones tipo éster de los grupos fenólicos de la misma con las xilosas de la hemicelulosa, y, posiblemente también, con uniones glicosídicas. Su digestibilidad depende de su grado de lignificación (están inversamente relacionadas). Los monogástricos digieren mejor la hemicelulosa que la celulosa, en intestino grueso (por acción microbiana).

La degradación de la hemicelulosa tiene lugar por acción de las bacterias hemicelulolíticas, los hongos anaerobios y algunos géneros de protozoos. Muchas especies de bacterias celulolíticas son también hemicelulolíticas (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*), e, incluso, *Butyrivibrio fibrisolvens* tendría mayor actividad hemicelulásica que celulásica.

Las enzimas que intervienen en la hidrólisis de la hemicelulosa son:

- β -D xilanasa (endoenzima): ataca la cadena principal de xilanos.
- xilodextrinasa o xilobiasa: ataca oligosacáridos de xilosa.
- alfa-D glucuronidasa: rompe las ramificaciones xilano-ácido glucurónico.
- alfa-D arabinofuranosidasa: rompe las ramificaciones xilano-arabinosa (β 1-3).

Lignina

La lignina es un polímero de alto PM derivado del fenil-propano. No se trata en realidad de un HC, pero se estudia aquí debido a su asociación con ellos en la pared celular vegetal, y a la que le confiere soporte estructural y resistencia.

La lignina es el principal factor limitante de la digestibilidad en los forrajes. El mecanismo se relaciona con la incrustación y el atrapamiento de los nutrientes dentro de la pared lignificada. La relación entre porcentaje de lignina y Digestibilidad de la Materia Seca (DMS) es distinta en las gramíneas que en las leguminosas, debido al menor contenido de pared celular de éstas, pero con mayor lignificación.

La lignina se encuentra en las plantas leñosas y en las partes fibrosas de raíces, tallos y hojas.

El contenido de lignina de la pared celular vegetal aumenta conforme la planta madura y, paralelamente, sus ligaduras a la celulosa y hemicelulosa (tipo éter o éster) van reduciendo la digestibilidad de éstas últimas. Ni las uniones entre los monómeros de la lignina, ni sus uniones con celulosa y hemicelulosa pueden ser atacadas por las enzimas de los mamíferos o de microorganismos anaerobios. Bacterias y hongos aerobios pueden romper estas ligaduras, lo que produce la putrefacción del forraje y la madera que se observa en la naturaleza.

Pectina

La pectina es un polisacárido heteroglicano, más abundante en leguminosas que en gramíneas. A diferencia de la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, es un componente soluble de la pared celular vegetal.

Su estructura (helicoidal) consiste en una cadena de ácido galacturónico (uniones β 1-4), con cadenas laterales de arabinos y galactanos. En la cadena aparecen, también, moléculas de ramnosa (uniones alfa-1-2).

La pectina es degradada por enzimas bacterianas extracelulares: exo y endopectatoliasas, pectato metil esterasa y poligalacturonidasas.

Almidón

El almidón es un polisacárido homoglicano. Se encuentra como HC de reserva en los granos. Existe también, aunque en mucha menor cantidad, en hojas y tallos de gramíneas tropicales y leguminosas. Consiste, en realidad, de cantidades variables de amilosa y amilopectina. La amilosa posee una estructura de doble hélice, con cadenas de unidades glucosa con uniones alfa 1-4 glucopiranosídicas. La amilopectina consiste en cadenas de glucosa, con uniones alfa 1-4, con ramificaciones tipo alfa 1-6 (es parecida al glucógeno). La cristalinidad se da en ambas, pero las uniones puente de H son más fuertes en las cadenas de amilosa con alto grado de polimerización. La proporción de amilosa y amilopectina en el almidón depende de la especie vegetal (maíz, trigo, etc.) y de la variedad (por ejemplo, el maíz flint, duro, tiene más amilopectina que el dentado).

La degradación del almidón en el rumen es realizada por bacterias amilolíticas y ciertos protozoos. Estos últimos pueden cumplir un papel importante, porque al engolfar y mantener partículas de alimento (almidón) en su citoplasma, hacen un poco más lenta la degradación del almidón en el rumen, limitando el desarrollo de bacterias amilolíticas y sacarolíticas. Además, al metabolizar el ácido láctico producido por aquellas, también contribuyen a prevenir disminuciones bruscas del pH, y de esta manera favorecen indirectamente a las bacterias celulolíticas. Los protozoos son particularmente abundantes en regímenes consistentes en forrajes o mezclas de forrajes y concentrados en cantidades moderadas. Dietas con más del 75 % de concentrados energéticos provocan una disminución drástica en el número de protozoos, debido al efecto tóxico del propionato y al bajo pH.

Las principales bacterias amilolíticas son: *Selenomonas ruminantium*, *Streptococcus bovis*, *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Prevotella ruminicola*.

Existen en el rumen dos alfa 1-4 amilasas de origen microbiano: una endo y otra exoenzima (rompe la cadena a partir de la punta). Hay bacterias amilolíticas que se fijan a los gránulos de almidón y, en ellas, estas amilasas son intracelulares. Las que no se fijan, poseen amilasas extracelulares. Sin embargo, los microorganismos ruminales no poseen alfa 1-6 glucosidasa, y no pueden degradar las ramificaciones de la amilopectina,

quedando en el proceso fragmentos de dextrina, que luego serán degradados a nivel intestinal por la propia alfa 1-6 glucosidasa del animal. Este factor, es decir, el % respectivo de amilosa y amilopectina en un grano, ayuda a explicar porqué el almidón del mismo es más degradable a nivel ruminal o más "pasante". Por ejemplo, el maíz flint tiene más almidón pasante que el maíz dentado.

El molido de los granos rompe el pericardio y expone el endosperma. De esta manera, los granos molidos o partidos son degradados y digeridos en mayor proporción que los granos enteros. La molienda, además, aumenta la cantidad de almidón que es degradado a nivel ruminal, al proporcionar una mayor superficie de ataque microbiano. Otro factor que gobierna la cantidad de almidón que es degradado en rumen o intestino delgado es la estructura proteica que recubre los gránulos de almidón en el grano, la que sería más dura en el caso del sorgo que en el del maíz. Como norma general, los granos de los cereales de invierno (trigo, cebada, avena) poseen almidón de mayor degradabilidad ruminal que los de verano (sorgo, maíz). Esta característica es importante a la hora de elegir qué grano suplementar, pensando de qué forma y en qué lugar se proveerá energía al animal.

Otros Hidratos de Carbono

Algunas gramíneas templadas almacenan **Fructanos (polímeros de fructosa)** en hojas y tallos. Existen dos tipos de fructanos: levano (uniones β 2-6) e inulina (uniones β 2-1). En los dos, existen moléculas de glucosa, con uniones de tipo sacarosa. Los fructanos son solubles en el rumen y degradados por grupos no específicos de bacterias.

Los azúcares simples no son abundantes en los vegetales. Sin embargo, son importantes, como ya dijimos, ya que proveen de energía rápidamente asimilable a los microorganismos ruminales. De esta manera, favorecen la biosíntesis de proteína microbiana a partir de la utilización del amoníaco (NH_3) liberado por hidrólisis de la proteína y del nitrógeno no proteico de la dieta.

Existen pequeñas cantidades de **monosacáridos** (glucosa, fructosa, xilosa) y **disacáridos** (sacarosa, principalmente), que pueden ser utilizados por varios tipos de bacterias. Se han detectado enzimas bacterianas similares a la celobiosa fosforilasa para la sacarosa y la maltosa.

Las tasas de degradación de los HC de un forraje (por ejemplo, la alfalfa) en el rumen son diferentes. La degradación de la celulosa es más lenta que la de los HC solubles. Como se verá luego, es importante tratar de hacer coincidir las curvas de degradación de los HC con la de las proteínas para un máximo aprovechamiento del N por parte de los microorganismos ruminales y para evitar una alta absorción de NH_3 por el animal, todo lo que tiene relevancia nutricional.

Degradación de los lípidos en el rumen

Los lípidos forman entre el 1 y el 4 % de la materia seca de los alimentos vegetales. Cuando se realiza un análisis químico aparecen en una fracción llamada Extracto Etéreo. Desde el punto de vista de su función en las plantas pueden clasificarse en:

a) lípidos de almacenamiento: se encuentran en las semillas. En los granos de cereales, generalmente, como fosfo y glucolípidos, y en las semillas de oleaginosas (soja, algodón) como triglicéridos (predominan los ácidos grasos insaturados, AGI).

b) lípidos estructurales:

* lípidos de las hojas: galactolípidos (representan cerca del 50 % de los lípidos de los forrajes) y fosfolípidos.

* grupo misceláneo: ceras, cutina, clorofila y otras sustancias solubles en éter.

En el rumen, los triglicéridos y los galactolípidos son hidrolizados por las bacterias ruminales. Específicamente, se detectaron lipasas producidas por *Anaerovibrio lipolytica* y fosfolipasas por algunas cepas no celulolíticas de *Butyrivibrio fibrisolvens*.

Esta **lipolisis** produce glicerol y galactosa, por un lado, y ácidos grasos, por el otro. El glicerol y la galactosa son fermentados por bacterias y protozoos que aprovechan HC solubles, hasta AGV. Los ácidos grasos de los lípidos no pueden ser oxidados en el rumen, pero sufren procesos de **hidrogenación** por parte de las bacterias (y, en menor medida, por los protozoos), lo cual plantea una cuestión de importancia nutricional para los rumiantes, que los diferencia de los monogástricos. Esta biohidrogenación depende del tipo de AGI, ya que es mayor en aceites vegetales que en el pescado. También las bacterias transforman algunas dobles ligaduras remanentes, las que pasan de cis a trans, con un mayor punto de fusión. Además, los microorganismos ruminales producen AG de cadena impar y ramificada.

Un exceso de lípidos (especialmente de AGI) en la ración de los rumiantes, disminuye la degradación de la fibra y el número de bacterias metanogénicas. Así, han surgido estrategias nutricionales para poder proveer un plus de energía en forma de lípidos a vacas lecheras de altos requerimientos, que escapen de la degradación ruminal, y que consisten en sales de calcio (de AG) o lípidos recubiertos con proteína tratada con formol.

Si absolutamente todos los AGI fueran hidrogenados en el rumen, el rumiante podría sufrir una deficiencia de AGI. Sin embargo, existe suficiente escape de AGI del rumen, y además su utilización es muy eficiente.

De modo que, con dietas comunes, los lípidos llegan al intestino, a diferencia de los monogástricos, como AG libres, saturados y ligados en forma no iónica a la fracción particulada.

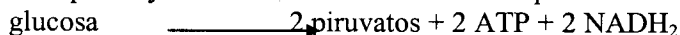
Principales vías fermentativas en el rumen

Una serie de procesos se van encadenando desde el ingreso de los HC en el rumen hasta los productos finales derivados de la fermentación. Se pueden distinguir claramente dos etapas: una **etapa de hidrólisis** de los polisacáridos hasta monosacáridos y otra **etapa fermentativa**.

Generalmente se muestra el proceso de fermentación, que comienza en la glucosa, como un continuo, tomando todos los microorganismos ruminales en su conjunto, pero, en realidad, muchas veces se necesita la acción de más de una especie para llevar a cabo una vía fermentativa, como se verá más adelante.

En los protozoos, por su capacidad de engolfar partículas de alimentos, el transporte de la glucosa hacia el interior de la célula no representa un problema, pero las bacterias que utilizan glucosa proveniente de la hidrólisis extracelular de HC deben transportarla (recordemos además que existen bacterias capaces de absorber disacáridos, como celobiosa, por ej.). Existen 3 sistemas de transporte en las bacterias: a) cotransporte de cationes o protones con el soluto, b) transporte por medio de una proteína específica, con gasto de ATP y c) sistema de la *glucosa fosfotransferasa*, que transforma la glucosa en glucosa 6 P, cuando la transporta por la membrana, utilizando la energía del fosfo enol piruvato. Éste es el método más utilizado por las bacterias del rumen.

La **glucolisis** (vía de Embden-Meyerhof-Parnas) es la principal fuente de ATP para los microorganismos del rumen. La vía glicolítica procede de la misma manera que en las células de un organismo superior y se obtiene ATP en los mismos pasos.



Las pentosas provenientes de la degradación de la hemicelulosa producen glucosa por la vía de las pentosas, pero hasta un 25 % de las pentosas pueden ir por una vía fosforolítica por acción de una fosfoquetolasa, con un menor rendimiento de ATP.

El piruvato no se encuentra en el fluido ruminal en cantidades detectables, ya que se considera un nexo entre la vía glucolítica y la formación de los productos de la fermentación.

Los **productos finales de la fermentación ruminal** son: los AGV (acético, propiónico y butírico) y los gases (CO₂, metano y, en menor proporción, H₂, los cuales representan, respectivamente, el 65, 27 y 0,2 % de los gases presentes en el rumen).

El problema clave a resolver en una situación de anaerobiosis es el **destino de los Hidrógenos metabólicos**, en ausencia del O₂, que funciona como el aceptor final en aerobiosis.

Las distintas opciones son:

- a) captación del H₂ por metabolitos con formación de productos finales reducidos.
- b) formación de CH₄, a partir de CO₂ e H₂.
- c) reducción de NO₃ a NO₂ (NO₃ + H₂ >>> NO₂ + H₂O).
- d) reducción de SO₄ a SH₂.
- e) saturación de ácidos grasos insaturados.
- f) formación de H₂ gaseoso.

Las vías c, d y e son cuantitativamente poco importantes. La formación de H₂, es perjudicial para el proceso fermentativo, ya que el H₂ inhibe a la NADH ferredoxina oxidoreductasa, e impide que se regenere el NAD⁺, frenando la glucólisis y por lo tanto los procesos fermentativos. El funcionamiento de la ferredoxina sólo es posible a muy baja presión de H₂, y la síntesis continua de metano ayuda a mantenerla. Si la metanogénesis no funcionara adecuadamente, el exceso de NAD + H⁺ desviaría las reacciones hacia la producción de lactato o etanol, vías energéticamente más ineficientes, para las bacterias, que la del acetato.

Las **bacterias metanogénicas** cumplen un rol imprescindible en el equilibrio de la fermentación (vía b), ya que incorporan el H₂ al CO₂, generando gas metano y energía (obtienen ATP por el mecanismo de fosforilación por transporte de electrones). Existe, por lo tanto, un efecto sinérgico entre especies productoras de H₂ (por ejemplo, bacterias celulolíticas, como *Ruminococcus flavefaciens* y *R. albus*, hongos anaerobios y protozoos ciliados) y especies hidrogenotras (bacterias metanogénicas, fundamentalmente). La formación de CH₄ está muy ligada a la generación de ácido acético. Esto es un ejemplo de lo que se denomina transporte interespecífico de hidrógeno.

La vía a hace referencia a todas las reacciones de reducción de metabolitos intermedios que llevan a la **formación de AGV**, como se verá seguidamente.

La vía de formación del **acetato** puede tomar dos caminos, por acción de dos enzimas distintas, la *piruvato formato liasa* y la *piruvato ferredoxina oxidoreductasa*. El primer caso es el más común en los microorganismos ruminales. En cualquiera de los dos casos, se genera 1 ATP por mol de piruvato. Un punto importante es que los H₂ generados van a formar parte del gas metano, que es imposible de ser utilizado por el rumiante, y que representa una pérdida de energía neta para el animal.

La formación del **butirato** se realiza por un proceso de β oxidación inversa, a partir de dos moléculas de acetil CoA y rinde 1 ATP por mol de butirato. Esta β oxidación consume un NAD H + H⁺ y un FADH₂. El *Butirivibrio fibrisolvens*, un bacilo Gram (-) que degrada una amplia gama de sustratos, entre ellos celulosa, produce importantes cantidades de butirato.

Los microorganismos ruminales pueden formar **propionato** a partir de 2 vías:

- vía del lactato-acrilato: gasta un $\text{NAD H} + \text{H}^+$ y un FADH_2 .
 - vía del oxalacetato-succinato: gasta un $\text{NADH} + \text{H}^+$ y un FADH_2 , también.
- Aproximadamente, 2/3 del propionato formado en el rumen son metabolizados por esta vía.

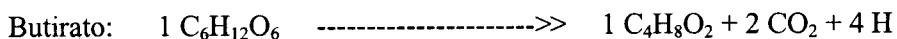
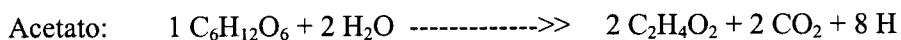
En promedio, llevan a la síntesis de 1 ATP por mol de piruvato.

Un ejemplo de utilización de productos intermediarios por parte de poblaciones bacterianas diferentes es el siguiente:

Muchas bacterias como *Ruminococcus amylophilus* (que degrada almidón), *Prevotella ruminicola* (que degrada almidón y hemicelulosa) y *R. flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes* (que degradan la celulosa) producen succinato como un producto de su actividad fermentativa, y lo liberan al medio ruminal. Este succinato es tomado rápidamente y fermentado hasta propionato por *Selenomonas ruminantium*.

Otro ejemplo es el de los *Lactobacillus* y el *Streptococcus bovis*, especies bacterianas que prosperan con raciones ricas en granos (almidón) y que producen altas cantidades de lactato. Este lactato es fermentado por otras bacterias, como *Megasphaera elsdenii* y *Veillonella alcalescens* hasta propionato, lo que impide que se acumule el lactato en el medio ruminal, que a su vez va acidificando el medio y favoreciendo aún más a la flora productora de lactato frente a las productoras de otros AGV. Debe pasarse lentamente de una dieta a base de forraje a una dieta alta en concentrados para favorecer un desarrollo armónico de las poblaciones productoras y utilizadoras de lactato, de lo contrario puede aparecer una acidosis láctica en el rumiante. Esta acidosis aparece cuando se absorben a partir del rumen cantidades excesivas de ácido láctico, que el rumiante no puede metabolizar en su totalidad. El cuadro se completa porque la concentración del isómero D^+ , que no representa más que el 20 % a pH 6, puede llegar a alcanzar el 50 % a pH 5. Este isómero, que es más lentamente metabolizado que el L^- en los tejidos animales, se transforma en tóxico para el hospedador.

Las ecuaciones teóricas, a partir de un mol de glucosa, son las siguientes:



De acuerdo a estas ecuaciones queda claro que, para el rumiante, la formación de propionato es energéticamente más eficiente que la de butirato y que la de acetato, ya que la producción de estos dos últimos lleva al escape de átomos de carbono que no pueden ser quemados, en forma de metano (o átomos de H que no se convierten en AGV).

Según Jarrige (1995), la proporción molar de los AGV en el rumen es:

Acético:	65 %
Propiónico:	20 %
Butírico:	13 %
Otros:	2 %.

En dietas totalmente a base de forrajes, la relación Ac:Prop se acerca a 3:1 pero, a medida que se aumenta el porcentaje de concentrados en la dieta, la relación se estrecha (por ejemplo, 2:1 o menor). Además de la incorporación de concentrados (granos) en la dieta, otra forma de modificar la proporción de AGV con la intención de mejorar la eficiencia de utilización del alimento es el uso de antibióticos ionóforos (monensina,

lasalocid), que afectan a cierto tipo de bacterias, pero no a otras, de manera que aumenta la proporción de propionato y disminuye la formación de acetato y metano a nivel ruminal.

Utilización por el rumiante de los productos de la fermentación ruminal

Los AGV son productos de desecho para los microorganismos ruminales, pero, luego de absorbidos, pueden ser utilizados por el rumiante para su propio metabolismo. Con una dieta a base de forrajes, los AGV pueden proveer entre el 50 y el 85 % de los requerimientos energéticos del animal. Los principales AGV (acético, propiónico y butírico) son metabolizados siguiendo rutas diferentes.

Las concentraciones molares de los AGV difieren entre el contenido ruminal, la sangre portal y la sangre arterial. Estas diferencias revelan que los AGV son metabolizados de manera diferente al pasar por el epitelio ruminal y el hígado.

El propionato es poco utilizado en el epitelio ruminal del bovino (aunque en el ovino, la proporción es mayor), el acetato absorbido se metaboliza en una proporción del 20 al 30 %, pero el butirato es casi totalmente metabolizado en el epitelio ruminal.

Luego de ser llevados los AGV a través del sistema portal, el hígado remueve casi la totalidad del propionato que le llega y el poco butirato que no fue utilizado en el epitelio ruminal, pero no utiliza el acetato, que sí es metabolizado por el resto de la economía, como se verá enseguida.

El **acetato** penetra en el citoplasma de las células y es activado por la Coenzima A. El acetyl Co A penetra a la mitocondria por el sistema transportador de la carnitina y allí es quemado en el ciclo de Krebs. El acetato cumple así una función de proveer energía en el epitelio ruminal y en el resto de los tejidos (excepto el hígado). El acetyl Co A puede utilizarse, también, para la síntesis de cuerpos cetónicos y, lo que es muy importante para el rumiante, para la síntesis de los ácidos grasos de cadena larga (y de lípidos) en el tejido adiposo y en la glándula mamaria.

El **butirato**, la principal fuente de energía para el epitelio ruminal, es metabolizado hasta β -OH butirato y luego hasta acetyl Co A, el que ingresa al ciclo de Krebs. La parte del β -OH butirato formado que no es utilizado por el epitelio ruminal puede ser utilizado por el resto de los tejidos, a excepción del hígado y el cerebro de rumiantes debido a la falta de acetoacetyl Co A sintetasa y de succinil Co A-acetoacetato Co A sintetasa.

El **propionato** absorbido es metabolizado fundamentalmente por el hígado, y en mucha menor proporción, por los otros tejidos hasta succinil Co A, el cual ingresa al ciclo de Krebs siguiendo los pasos hasta oxalacetato. A partir de allí puede proseguir a citrato y ser quemado, ir a síntesis de aminoácidos o seguir la vía neoglucogénica. El rumiante tiene una escasez crónica de glucosa debido a que la mayor parte de la glucosa proveniente de la degradación de los HC del alimento es fermentada en el rumen. Por lo tanto, el propionato se destina principalmente para la neoglucogénesis en el hígado. El propionato removido por el epitelio ruminal es metabolizado a lactato, CO_2 e, incluso, alanina.

Obsérvese los importantes roles de la biotina y la vitamina B12 en la conversión de propionato a succinato, como cofactores de las enzimas propionil Co A carboxilasa y metil malonil-Co A isomerasa, respectivamente.

El propionato es el principal precursor neoglucogénico en rumiantes bajo condiciones de normal alimentación. La mayor parte del mismo proviene de la absorción ruminal, pero una pequeña parte puede venir de la oxidación de los ácidos grasos de cadena impar (que a su vez pueden ser de origen ruminal o de la lipólisis del propio tejido adiposo). Existen otros precursores como los aminoácidos, el lactato (de origen ruminal o endógeno, ciclo de Cori) y el glicerol (fundamentalmente dietario). Durante la lactación,

el propionato contribuye aún más a la neoglucogénesis que los aminoácidos, debido a que grandes cantidades de los mismos deben ser usados para síntesis de proteína láctea.

En un animal en ayuno, los precursores neoglucogénicos provienen de los aminoácidos (endógenos, por degradación de la proteína tisular) y del glicerol, proveniente de la lipólisis (triglicéridos de las reservas adiposas).

Puede compararse el rendimiento en ATP de una glucosa que es metabolizada directamente luego de ser absorbida desde intestino delgado y de una glucosa que es fermentada dando distintos AGV.

1 glucosa	- directamente: 36 ATP
	- 2 propionato: $2 \times 17 = 34$ ATP (previa neoglucogénesis)
	- 2 acetato: $2 \times 10 = 20$ ATP
	- 1 butirato: 25 ATP.

El propionato es el único AGV capaz de formar glucosa debido a que su número de carbonos es tres y forma directamente oxalacetato. Los otros AGV, acetato y butirato, entran como acetyl Co A (2 C) al ciclo de Krebs. Esta entrada, sin embargo, es negada por la pérdida de 2 moléculas de CO_2 , y el proceso empieza y termina con el mismo número de moléculas de oxalacetato. No hay, entonces, síntesis neta de glucosa a partir del acetyl Co A derivado de los ácidos grasos. Por ello se considera que el propionato es neoglucogénico y los demás (acetato y butirato) son cetogénicos.

Los rumiantes, a diferencia de los monogástricos, no pueden convertir la glucosa en grasa (en realidad en ácidos grasos) debido a que carecen de dos enzimas claves para ello: la *ATP-citrato liasa* (que permite desdoblarse al citrato que sale de la mitocondria en oxalacetato y acetyl Co A) y la *NADP-málico deshidrogenasa* o *enzima málica* (que transforma malato en piruvato). En los rumiantes, la glucosa sólo puede participar en la síntesis del glicerol en el tejido adiposo, pero no en la síntesis de AG. Este es un importante **mecanismo conservador de la glucosa**, que como se ha dicho es escasa en estos animales.

Bibliografía

- Church, C.D. "El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición". Editorial Acribia. 1993 (original en inglés, 1988). 641 p.
- Herdt, T.H. "Metabolic diseases of ruminant livestock". The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice. 4 (3): 1-439.
- Jarrige, R.; Ruckebusch, Y.; Demarquilly, C.; Farce, M.-H. y Journet, M. "Nutrition des ruminants domestiques". INRA, Paris. 1995. 921 p.
- Maynard, L.A.; Loosli, J.K.; Hintz, H.F. y Warner, R.G. "Nutrición Animal". McGraw-Hill. 1992. Traducción de la 7ª Ed. en inglés (1979). 640 p.
- Shirley, R.L. "Nitrogen and energy of ruminants". Academic Press. 1986. 358 p.
- Van Soest, P.J. "Nutritional ecology of the ruminant". O & B Books, Inc. 1983. 374 p.