

ISBN: 970-27-0770-6

## EVALUACIÓN DE PLANTAS Y FÁRMACOS PARA ELIMINAR PROTOZOARIOS RUMINALES

Rodríguez Carrillo, Jaime Azael<sup>1\*</sup>, Cobos Peralta Mario Antonio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudiante Ing. Sistemas Pecuarios. CUALTOS-Univ. de Guadalajara

<sup>2</sup>Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Texcoco Edo. México

### Resumen

Los ecosistemas permiten de manera simbiótica el aprovechamiento de los componentes utilizados como alimento, incluyendo en rumen como sistema anaerobico. Por otro lado, la defaunación ruminal permite al animal mejorar la utilización de los componentes proteicos y nitrogenados por parte de la microflora. Por ello evaluar los métodos de defaunación permite seleccionar su implementación para incrementar los nutrimentos que recibe el animal huésped. El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad defaunante de algunas plantas (arbustivas leguminosas) y un fármaco (secnidazol) mediante pruebas *in vitro*. Se tomaron muestras de líquido ruminal y realizaron cuatro diferentes experimentos para conocer el efecto de los anteriores utilizando técnicas de cultivo. El conteo de los protozoarios se realizó con la cámara de Neubauer. Se observó que el tratamiento con mayor poder de defaunación fue con semilla y la hoja de guazima; este último manifiesta una disminución a  $10^2$  protozoarios / mL desde el conteo a 0 h. En conclusión se puede decir que la fracción soluble del epazote y guazima, presentaron un fuerte efecto defaunante del líquido ruminal.

### Introducción

Los protozoarios son los animales más primitivos que existen en la tierra; se trata de organismos unicelulares eucariotes. Pertenecen al reino de los protistas donde comparten este, con algunas algas unicelulares. A diferencia de otros microorganismos carecen de pared celular, tienen estructuras internas bien delimitadas, son relativamente más grandes, además de ser móviles<sup>1</sup>.

Se transportan gracias a 4 diferentes métodos: Cilios que son estructuras en forma de pestañas que rodean su membrana; Flagelos: estructuras en forma de látigo que funciona como cola; Seudópodos: son estructuras similares a los flagelos pero contráctiles; Membranas ondulantes<sup>2</sup>, esto inclusive, se emplea para su clasificación.

La mayoría de los protozoarios se alimentan por fagocitosis, proceso por el que una partícula de alimento es rodeada por una porción de su membrana celular flexible, introduciéndola en la célula. Algunos protozoarios como los ruminales pueden “tragar”, literalmente, bacterias o células eucarióticas pequeñas u otras partículas a través de una estructura especial, más o menos desarrollada, que funciona del modo de una boca y que se conoce como cistostoma. Pueden presentar estructuras rudimentarias de aparato digestivo<sup>1</sup>:

**Cuadro1:** estructuras del aparato digestivo de los protozoarios ruminales (ciliados) y la función que realizan.

Vestibulum, peristomo, cistostoma	Boca
Citofaringe	Esófago
Vacuolas de digestión	Organelos para almacenamiento y degradación de alimento
Citoproct	Recto

### **Papel de los protozoarios en el rumen**

El rumen posee una biota característica de protozoarios (aproximadamente de  $10^4$  a  $10^6$ /mL) compuesta casi exclusivamente de ciliados, sobretodo de los ordenes *Entodimorphida* y *Trichostomatida* siendo las familias mas importantes de estos encontradas en rumen la *Ophryoscolecidae* y la *Isotrichidae* respectivamente. También existen flagelados. Todos los protozoarios del rumen son anaerobios estrictos, una característica que no es frecuente en los eucarióticos<sup>1</sup>.

Carbohidratos:

En las investigaciones que se han hecho, parece haber una relación de los protozoarios con la digestibilidad de los carbohidratos, sobretodo en los estructurales, ya que contienen celulosa y hemicelulosa<sup>3</sup>. Pero los carbohidratos no estructurales (solubles) como el almidón, glucosa, etc., parecen no tener ninguna participación ya que, aunque contienen amilasa, utilizan los carbohidratos como fuente de energía y solo liberan pequeñas cantidades de ácidos grasos volátiles que son absorbidos por las paredes del rumen. Además en ausencia de protozoarios, la población bacteriana aumenta y realiza la digestión de estos<sup>3</sup>.

Proteína

Los protozoarios no tienen ningún tipo de papel en la degradación de la proteína<sup>3</sup>.

### **¿Por qué realizar la defaunación?**

Aunque los protozoarios realizan la degradación de carbohidratos son menos eficientes que las bacterias para realizar la fermentación ruminal, y además pasan en un menor porcentaje a abomaso y duodeno. Los protozoarios son organismos que depredan bacterias<sup>3</sup>.

### **Métodos de defaunación**

Para obtener una defaunación, se han probado diferentes métodos que se pueden agrupar en físicos, químicos y alimenticios; además del uso de fármacos de acción desparasitante<sup>4</sup>.

Los métodos químicos resultan, en su gran mayoría, tóxicos para las bacterias del rumen y al igual que los métodos físicos dañan la salud del animal mismo<sup>4</sup>.

La utilización de plantas leguminosas y arbustivas forrajeras como agentes defaunantes tiene muchas ventajas ya que en diversas de estas se han encontrado diversos compuestos que eliminan los protozoarios además de ser una fuente de nutrientes que eleva la productividad del animal<sup>4</sup>.

Otra opción para buscar la defaunación del animal, sería la utilización de métodos químicos farmacológicos, en donde la investigación en fármacos utilizados en los humanos sería

bastante válida, ya que estos han sido evaluados en cuanto a su efectividad, y efectos no deseables en la salud<sup>4</sup>.

### **Problemas de los estudios *in Vitro***

Actualmente no existe una técnica comprobada que sea capaz de permitir el crecimiento de todos o la mayoría de protozoarios del rumen.

Ley<sup>4</sup>, obtuvo resultados de una concentración de  $10^3$  a  $10^4$  a las 72 h de la adición de los protozoarios adicionando a sus medios avena ya sea fracción soluble o insoluble, preparado en un ambiente anaerobio agregando flujo de  $\text{CO}_2$ .

### **Objetivos**

- 1.- Aprender las técnicas para la preparación de medios de cultivo anaerobios, inoculación, microscopia de contraste y epifluorescencia para el conteo de protozoarios.
- 2.- Mantener una concentración de entre  $10^3$  a  $10^4$  de protozoarios durante 72 h de su inoculación en medios de cultivo.
- 3.- Evaluar la capacidad defaunante de algunas plantas y un fármaco mediante pruebas *in vitro*.

### **Hipótesis**

- 1.- Se pueden obtener medios de cultivo con una concentración de protozoarios de  $10^3$  a  $10^4$   $\text{mL}^{-1}$ , adicionando a estos fracción soluble de avena (*Avena sativa*).
- 2.- En la fracción soluble en agua de arbustivas y leguminosas se encuentran los compuestos tóxicos para los protozoarios.
- 3.- El Secnidazol utilizado como desparasitante en humanos, puede tener efectos positivos en la eliminación de protozoarios ruminales *in vitro*.

### **Materiales y métodos**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en las instalaciones de la granja experimental y laboratorio de microbiología aplicada a producción animal del programa de ganadería, IREGEP, del Colegio de Postgraduados, ubicada en Montecillos, Texcoco, Estado de México.

Se preparo medio de cultivo anaerobio con pH de 6.7 a 7.3, se agregó a tubos de ensaye en donde se inoculó con la fuente de protozoarios, obtenidos de una vaca holstein fistulada alimentada a base de alfalfa fresca, ensilado de maíz y ray grass.



Obtención de fuente de protozoarios ruminales.



Elaboración de medios de cultivo Anaerobios.

Se realizaron 4 experimentos en cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones.

**Cuadro 1:** nombres comunes y científicos de plantas evaluadas

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>
Avena	<i>Avena sativa</i>
Guazima	<i>Guazima sp.</i>
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>
Yucca	<i>Yucca schidigera</i>
Epazote	<i>Chenopodium ambrosioides</i>
Verbesina	<i>Verbesina perymenioides</i>

El fármaco evaluado fue el secnidazol, utilizado comúnmente para desparasitar humanos. El conteo se realizó por medio de la cámara de Neu bauer, fijando las muestras con solución fijadora a base de formaldehído.



Fracción soluble de plantas evaluadas.



Conteo por medio de microscopio óptico de contraste y cámara de Neu bauer.

## Resultados

A diferencia de Ley<sup>4</sup>, no se logró mantener una concentración de protozoarios de entre  $10^3$  a  $10^4$  a 72 h en los medios de cultivo anaerobios, obteniendo solamente esta concentración a 48 h.

En cuanto al poder defaunante, el secnidazol mostraron una disminución de protozoarios desde la h 24, mientras que la guazima y el epazote presento poder defaunante a la 48 h, sobre todo en su fracción de hoja.

**Cuadro 2:** Medias de Protozoarios / mL X 10<sup>4</sup> contados en 3 diferentes experimentos

EXPERIMENTO	TRATAMIENTO	TIEMPO DE CONTEO h			
		0	24	48	72
1	Sin avena	3.03	0.97	0.57	0.00
	Avena 0 h	2.11	1.60	0.67	0.00
	Avena 0,24,48,72 h	2.00	1.77	1.00	0.00
2	Avena 0 h	0.20	0.53	0.33	0.07
	Cascarilla Guazima 0 h	0.13	0.20	0.07	0.00
	Hoja Guazima 0 h	0.07	0.07	0.00	0.00
	Semilla Guazima 0 h	0.20	0.07	0.00	0.00
3	Avena 0 h	0.67	0.13	0.20	0.00
	Alfalfa 0 h	0.40	0.07	0.07	0.00
	Yucca 0 h	0.13	0.07	0.07	0.00

**Cuadro 3:** medias de protozoarios / mL X 10<sup>4</sup> (experimento 4)

TRATAMIENTO	TIEMPO DE CONTEO h			
	0	24	48	72
Avena (testigo positivo)	0.90	0.57	0.40	0.07
Alfalfa	0.73	0.43	0.13	0.00
Hoja de Guazima	0.50	0.27	0.00	0.00
Epazote	0.33	0.13	0.00	0.00
Verbesina	0.53	0.13	0.13	0.00
Secnidazol	0.37	0.07	0.03	0.00

### Conclusiones

- 1.- La concentración de protozoarios no se mantuvo a 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> mL<sup>-1</sup> con la técnica utilizada y avena, reduciendo la concentración a 10<sup>2</sup> a las 72 h.
- 2.- La fracción soluble del epazote y guazima, presentaron efecto defaunante a partir de las 48 h de incubación.
- 3.- El secnidazol, que es un desparasitante utilizado en los humanos tuvo un efecto positivo en la defaunación a partir de las 24 h de incubación.
- 4.- se sugiere continuar este trabajo tratando de encontrar los principios activos con actividad defaunante de cada planta.

**Literatura consultada**

- Quiroz, H. PARASITOLOGÍA Y ENFERMEDADES PARASITARIAS DE ANIMALES DOMESTICOS. Limusa Noriega Editores. Universidad Autónoma de México. 59:63.
- Mandigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. BROCK, BIOLOGIA DE LOS MICROORGANISMOS. Décima edición. Editorial Pearson-Prentice Hall. Southern Illinois University Carbondale. 478 – 479.
- L. C. Chaudhary, Arun Srivastava, y B. N. Paul. INTER RELATIONSHIP BETWEEN PROTOZOA AND DIETARY CARBOHYDRATES IN RUMIANTS. Indian J. Dairy Science. 47, 6, 1994.
- Ley de Coss, A. EVALUACIÓN DE TÉCNICAS *IN VITRO* PARA EL ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DEFAUNANTE DE FÁRMACOS Y PLANTAS. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 2003.