

LOS HONGOS ANAERÓBICOS DEL RUMEN

Néstor Obispo*. 1992. Revisión bibliográfica. Zootecnia Tropical , Vol. 10(1):91-107.
*CENIAP, Instituto de Investigaciones Zootécnicas, Vía El Limón, Maracay, Venezuela.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Manejo del alimento](#)

RESUMEN

Los hongos anaeróbicos constituyen un nuevo grupo de microorganismos, cuya ubicación sistemática necesita ser consolidada. Estos microorganismos se han adaptado al medio ambiente digestivo de los herbívoros, presentando un ciclo de vida bifásico relativamente simple, demostrando en la mayoría de los estudios **in vitro** poseer la capacidad enzimática para digerir los materiales fibrosos de las plantas. El hecho de que las más altas densidades de hongos ocurran cuando las dietas son más fibrosas y la enorme capacidad de penetrar profundamente en los tejidos normalmente no asequibles para las bacterias, hace pensar que ellos, juegan un papel importante en los procesos ruminales.

INTRODUCCIÓN

Los rumiantes son una importante fuente de alimentos y otros productos para los seres humanos. Estos animales se han adaptado de tal manera que pueden satisfacer sus necesidades energéticas a través de la utilización de los forrajes, los cuales son relativamente abundantes en la superficie terrestre. Este aspecto los coloca entre los animales de más alto interés zootécnico. Pero, aunque los forrajes contienen considerables cantidades de energía entre sus componentes estructurales (celulosa, hemicelulosa y pectina), esta no es fácilmente disponible para el uso animal, debido a que éste no posee el requerido componente enzimático para la degradación de esas moléculas poliméricas. Gracias a la presencia en el rumen de un grupo de microorganismos especializados estos compuestos son degradados a moléculas más simples disponibles para el animal.

En el ecosistema ruminal existe una población microbiana que comprende entre otros, bacterias anaeróbicas y protozoarios (28), junto con los hongos anaeróbicos recientemente descubiertos (45). Estos microorganismos se encuentran irregularmente distribuidos en la fracción líquida o adheridos al material sólido y paredes del rumen. Las bacterias y protozoarios han sido estudiados en considerable detalle, siendo su contribución al contexto de la fermentación ruminal más o menos conocido; sin embargo, la noción que se tiene sobre los hongos anaeróbicos es limitada y su participación en los procesos ruminales no está todavía bien aclarado.

Los resultados de muchas investigaciones *in Vitro* señalan que los hongos anaeróbicos del rumen son digestores de fibra (11, 21, 27, 34, 54, 55, 62). Sin embargo, aunque estos estudios indican que los hongos poseen el componente enzimático para degradar los polisacáridos de la pared celular, muy poco es conocido sobre la extensión de su actividad en la fermentación ruminal. Por un lado, se han hecho grandes avances en el conocimiento de los mecanismos y factores que controlan su ciclo de vida, y por otro, se han mejorado los métodos para hacer las estimaciones de sus poblaciones a los diferentes estados de su ciclo de vida.

LOS HONGOS ANAERÓBICOS

Un grupo de microorganismos móviles y pequeños, inicialmente observados en el licor ruminal por Liebetanz (33) y Braune (15), fueron tentativamente identificados como protozoarios flagelados. Posteriormente, Warner (69) observó que esos flagelados, aunque presentes en bajo número, mostraban drásticas fluctuaciones después que el huésped era alimentado; esas variaciones hicieron pensar que se "secuestraban" en las paredes del rumen. Investigaciones *in Vitro* duplicaron esas variaciones, lo que contradujo la hipótesis de secuestro (44). Orpin conjeturó que esas variaciones podían ser ocasionadas o bien, porque los flagelados eran secuestrados entre las partículas de alimento o porque su ciclo de vida comprendía una fase reproductiva múltiple, la cual estaba asociada con la fracción sólida del contenido ruminal.

Exitosamente, Orpin (45) aisló uno de esos flagelados, al que identificó como **Neocaltimastix frontalis**. En esta investigación se revela que el ciclo de vida de estos microorganismos consiste de dos fases alternativas: una fase móvil de flagelado (zoosporos) y una fase no móvil vegetativa, reproductiva (esporangio). Dentro de estas bases, Orpin sugirió que este organismo podía ser un hongo. Señaló, además, que la posesión de rizoides por el cuerpo reproductivo era una característica de los hongos más que de los protozoarios. Igualmente, observó que los llamados protozoos flagelados o formas móviles eran liberados de esos cuerpos reproductivos. Se establecieron las condiciones óptimas para la germinación y reproducción de estos microorganismos, encontrándose que ellos requieren de una temperatura de 39°C, pH 6.5, ausencia de oxígeno y presencia de CO₂ (45,46,48,67). Esos hallazgos confirmaron a estos organismos como verdaderos entes ruminales, ya que ellos podían crecer bajo las condiciones ambientales encontradas en el rumen (28). Posteriormente fueron identificados otros flagelados,

Sphaeromonas communis (46), **Piromonas communis** (48) y **Neocallimastix patriciarum** (57), los cuales mostraron características diferentes a las presentadas por el **N. frontalis**.

Finalmente, el descubrimiento de quitina en las paredes celulares de estos microorganismos (49) confirmó que estos eran verdaderos hongos, ya que entre los microorganismos no fotosintéticos la ocurrencia de quitina o de celulosa es una característica particular a los hongos (64).

FILOGENIA, GENERO Y ESPECIE

La clasificación de los hongos del rumen es un tanto incierta hasta el presente. En la clasificación de estos hongos se ha prestado poca atención a la estructura vegetativa (61). La ultra estructura de los zoosporos poliflagelados ha sido usada como la base para la clasificación como Chitridiomycetos (8, 25). El género *Neocallimastix* ha sido asignado a una nueva familia (**Neocalimasticaceae**) dentro de los Spizellomycetales. Sin embargo, el análisis de sus características mitóticas no confirma este punto substancialmente (26). Munn et al (42) examinaron, por microscopía electrónica, las características ultraestructurales de **Piromonas** y **Sphaeromonas**, comparándola con las observaciones nuevas o las ya reportadas para el **N. frontalis**. Lo que permitió a Heath et al (25) considerar que esos géneros contienen las características descritas para los Chitridiomycetos (7). Sin embargo, el orden propuesto fue cuestionado por muchas razones, entre otras, siendo los chitridos del rumen anaerobios obligados, la mitocondria no está estrechamente asociada con el microcuerpo (7); por lo tanto, ha sido propuesta una nueva clasificación que pueda contener características afines para los Spizellomycetales y Chytridiales (20, 41).

Las investigaciones de Munn et al (42) revelaron que existen varias características distintivas en común entre los géneros **Neocaltimastix**, **Piromonas** y **Sphaeromonas**, las cuales podrían ser usadas colectivamente para definir un nuevo grupo. Algunas de estas características más resalantes se destacan por la presencia de hidrogeno somos en todos los estados del ciclo de vida, de unos cristales característicos cubiertos con partículas dispuestas en forma hexagonal en los rizoides y esporangios de distintas capas de superficie, tanto en los organelos para la motilidad como en el cuerpo celular de los zoosporos, la organización de los ribosomas en una disposición espiral y globular y las estructuras asociadas con los cinetosomas. Estas características claramente diferencian esos anaerobios obligados de los chitridiomycetos anaeróbicos facultativos y aeróbicos.

Hasta el presente han sido descritos otros tipos morfológicos, tales como **Neocaltimastix** sp. R1 (70), NF1 (42), **Neocallimastix joyonii** (1 6), **NeocaltimastixEB188** (5). Sin embargo, sólo el género **Neocaltimastix** ha sido formalmente descrito (25). Este género conteniendo originalmente sólo una especie, el **N. frontalis** fue enmendado para incluir **N patriciarum**, **Piromonas** (46) y **Sphaeromonas** (48). Los zoosporos fueron nombrados originalmente por Liebetanz (33) y luego descritos por Braune (1 5). En términos de las diferencias entre géneros, los zoosporos del **Neocaltimastix** son poliflagelados (45, 57), mientras que los de **Piromonas** y **Sphaeromonas** son monoflagelados (61). Como se ha mencionado, tanto las diferencias y similitudes ultraestructurales y morfológicas de los zoosporos entre los géneros han constituido las bases de la actual taxonomía. Sin embargo, se requieren más estudios de sistemática para la categorización de estos microorganismos.

DISTRIBUCIÓN

La distribución de estos hongos estrictamente anaeróbicos parece estar limitada al tracto digestivo de los herbívoros. Estando altamente relacionados con las dietas fibrosas, teniendo de esta manera una distribución geográfica muy amplia (12, 61). Desde que Orpin (45) demostrara que los hongos anaeróbicos están presentes en el rumen, otros ambientes similares han sido investigados. Así, han sido aislados del ciego y colon del caballo y del contenido fecal de caballos y elefantes (12). Milne et al (38) aislaron hongos anaeróbicos de las heces de varios herbívoros, entre otros, camellos, antílopes, llamas, vicuñas, gaures, cebras. Igualmente, Bauchop (10) encontró hongos anaeróbicos en contenido ruminal obtenido de impalas y otros cérvidos, así como del contenido esto maca de marsupiales. En general, el hallazgo de los hongos anaeróbicos en estos ambientes y su amplia distribución en diferentes especies de herbívoros salvajes sugiere una paralela evolución con la digestión microbiana y demuestra que estos hongos están bien adaptados al medio ambiente intestinal (12).

CICLO DE VIDA

Orpin (45, 46, 48, 50) observó que algunos componentes de la dieta (inductores) parecían ser responsables por la iniciación de la diferenciación dentro de los esporangios y posterior liberación de los zoosporos. La zoosporogénesis fue inducida **in vitro** cuando los esporangios de **N. frontalis** fueron expuestos a un compuesto extraído con solventes de la cebada (50). Posteriormente se demostró, que compuestos del grupo hem y afines, los cuales están presentes en casi todos los tejidos vegetales, eran capaces de estimular el crecimiento y la zoosporogénesis del **N. frontalis** (35, 58, 59, 60).

Por lo tanto, el material vegetal que entra al rumen no sólo proporciona los inductores para estimular la zoosporogénesis, sino que también es usado como substrato para el crecimiento vegetativo (47). Cuando los flagelados son liberados, ellos invaden, se adhieren y germinan en el material vegetal, tanto en el rumen como **in vitro** (9,

10, 47). Los flagelados de **N. frontalis** muestran particular preferencia por ciertos tejidos de la planta como la inflorescencia, donde invaden el estoma, tejido vascular tejidos del tallo y hojas, y zonas que han sufrido daño (9, 10, 12, 14, 47). Esta selectiva invasión y colonización de la planta ha sido explicada en atención a una respuesta quimiostática por los carbohidratos solubles que son encontrados en los diferentes tejidos vegetales (51).

Lowe et al (36) observaron que los zoosporos antes de adherirse a la matriz sólida, muestran ciertos cambios en su figura de tipo amiboideo, los cuales son considerados como preparatorios para el enquistamiento. La posterior Terminación del zoosporo enquistado da como resultado la producción de un tallo con una amplia porción radical (rizoide) y el esporangio (9). Aunque el desarrollo de los rizoides es rápido, el tamaño del esporangio maduro es alcanzado entre 12 y 24 horas después de la fijación del zoosporo (1 2, 14). La aparición de la zoosporogénesis se inició justo con la aparición del tabique o septum, el cual constituye una barrera para el flujo del citoplasma desde el sistema radical (25, 36).

Así, se ha estimado que la duración del ciclo de vida de los hongos anaeróbicos, habitando en el rumen de animales que son alimentados una vez por día, puede durar entre 24 y 32 horas (1 4,36, 67).

FUNCIÓN DE LOS HONGOS ANAERÓBICOS DEL RUMEN

Una abundante digestión de los componentes fibrosos de las plantas por parte de los hongos anaeróbicos ha sido claramente demostrada en numerosos experimentos **in vitro** (1, 2, 4, 9,10,13, 17, 21, 55, 66)..Estos hongos han demostrado poseer una amplio rango de enzimas que pueden degradar los principales carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) de las paredes celulares de las plantas (6, 23, 27, 32, 35, 612, 73, 74, 75).

Aunque no hay evidencia de que los hongos anaeróbicos pueden utilizar lignina como fuente de carbono, estos hongos fueron capaces de disolver hasta un 16% de la lignina de la paja y heno de trigo (**in vitro**) (56,22). Estos hongos fueron capaces de degradar y debilitar substancialmente los tejidos significados de forrajes fertilizados con azufre (2).

Particularmente, el **N. frontalis** produce grandes cantidades de celulosas activas, cuya producción fue significativamente incrementada en cultivos mixtos con bacterias metanogénicas (40,76). Adicionalmente, la degradación de la celulosa por los hongos en presencia de las bacterias metanogénicas fue mucho más rápida que cualquier dato reportado previamente (39, 63). Igualmente, la actividad sinérgica de los hongos anaeróbicos del rumen sobre degradación de la celulosa fue considerable en cultivos mixtos con las bacterias **Veillonella alcalescens** y **Megasphera elsdenii** que utilizan lactato, y en cultivos con **Fibrobacter succinogenes** (63).

Al igual que para las bacterias ruminales, existen diferencias entre las diversas cepas de hongos anaeróbicos en cuanto a la utilización de los distintos substratos. En términos generales, muchas de las especies de estos hongos son capaces de usar como fuentes de carbono los carbohidratos solubles glucosa, celobiosa, xilosa, maltosa y sucrosa (45, 46, 48, 52, 54, 65, 73, 74).

En la fermentación de la celulosa (**in vitro**) por los hongos anaeróbicos se han detectado los siguientes productos finales: acetato, lactato, formato, etanol, CO₂ y H₂. Para todos los carbohidratos que soportan el crecimiento de los hongos, los productos finales más abundantes fueron acetato y lactato con pequeñas cantidades de hidrógeno, dióxido de carbono y piruvato (52).

Sin embargo, a pesar de la gran capacidad de estos hongos para degradar los componentes estructurales de las paredes de las plantas, el mayor porcentaje de esta degradación es aún asignada al grupo bacterico (65, 71). Destacándose que para poder cuantificar el papel de estos hongo **in vivo**, es necesario hacer una buena estimación de su biomasa (9, 19, 61, 65). Aunque por otro lado, Whindham y Akin (71) han concluido que el desarrollo de gran número de esporangios sobre la fibra puede no ser indicativo de un substancial rol en la degradación de la fibra. Sin embargo, las investigaciones señalan que las dietas más fibrosas soportan las más grandes poblaciones de estos hongos (1 2). Igualmente, se ha observado que las poblaciones de los hongos del rumen tienden a disminuir en las dietas ricas en almidón (24, 43). Orpin y Joblin (61) han sugerido que los hongos del rumen pueden ser importantes para la función ruminal cuando la dieta consiste de forrajes de pobre calidad.

Diferentes metodologías se han implantado para estimar las densidades poblacionales de los hongos anaeróbicos en el rumen tales como: contaje directo de los zoosporos y esporangios en el licor ruminal (44), estimándose por este método entre 103Y 1 01 ml, por medio de una modificación del método de tubos enrollados de Hungate; Joblin (29), utilizando licor ruminal filtrado como inóculo contó 2 x 10 zoosporos viables por ml; Akin et al (2) y Ushida et al (68), utilizando la técnica de suspender substratos sólidos en bolsas de nylon in vivo o in vitro por 24 horas, contaron entre 5 x 1 0-1 y 12.x 103 esporangios por CM² en períodos de incubación de 24 horas; Obispo (43), utilizando una variante de la técnica del número más probable, con licory sólidos ruminales (en conjunto o separadamente) como inóculos, logró hacer estimaciones diferencia-

les de la población de hongos anaeróbicos para los períodos correspondientes a 0 - 1,5 - 3 horas posteriores al ofrecimiento del alimento en novillos, observando un significativo incremento de la población de los hongos 1,5 h después de ofrecido el alimento, con el mayor incremento (78%) relacionado con el material sólido del contenido

ruminal. Para esta investigación, las concentraciones totales oscilaron entre $1,5 \times 10^3$ y $1,5 \times 10^6$, lo cual constituye un rango mayor a los reportados previamente.

Se ha sugerido que los hongos anaeróbicos juegan un papel importante, debilitando los tejidos significados, ya que se ha observado que después de la colonización de la partícula de fibra, la fuerza de tensión de ésta es significativamente menor (2). Este debilitamiento de los tejidos significados podría incrementar sustancialmente la digestión por facilitarse la fractura de éstos, con incremento de los sitios disponibles para la colonización bacteriana. Mostrándose de esta manera que la acción fungal, contrariamente de la bacteriana, demuestra ser más independiente del estado de daño ocasionado a la partícula de fibra vegetal (61). Sin embargo, la incógnita de la (s) vía (s) (acción enzimático, mecánica o combinada) por las cuales los hongos anaeróbicos penetran las paredes celulares vegetales todavía permanecen (31). A diferencia de las bacterias celulolíticas, estos hongos son proteolíticos, y es probable que a través de esta acción se facilite la penetración de las capas de proteínas (capas protectoras que previenen el acceso de las bacterias a la capas secundarias de las paredes celulares) por parte de los rizoides (18).

Se ha referido que los hongos anaeróbicos del rumen son capaces de romper físicamente las partículas de la digesta, lo que ocasionaría una disminución del tiempo de, residencia de las partículas en el rumen (2, 3, 30, 56). Pero las acciones observadas *in vitro* pueden, en cierta manera, sobreestimar la efectividad degradativa *in vivo* cuando hay competencia con otros organismos en el rumen (72). A este respecto, cabe señalar que la mayor contribución con la disminución del tamaño de las partículas de la digesta es asignada a la masticación y ruminación (37). Asignándosele a los hongos la acción de debilitar la estructura de algunos tejidos de las plantas, con la cual, por ende, se mejora la efectividad de la rumia; pero se necesitan más evidencias para poder asignarle a los hongos anaeróbicos del rumen una acción directa de reducción física del tamaño de las partículas (72).

CONCLUSIONES

Un grupo de microorganismos habitantes del rumen, los cuales habían sido identificados originalmente como protozoarios flagelados, fueron aislados e identificados como hongos anaeróbicos. Su ubicación taxonómica no está lo suficientemente clara al presente; utilizándose como criterios para su clasificación dentro de los chitridiomycetos los rasgos ultraestructurales de los zoosporos poliflagelados. El hecho de ser anaeróbicos estrictos los circunscribe a aquellos ambientes similares al rumen, lo que refleja una evolución paralela con la digestión microbiana. Su ciclo de vida está caracterizado por presentar dos fases bien diferenciadas, una móvil de zoosporo y una vegetativa reproductiva no móvil. Se ha demostrado que estos hongos producen potentes enzimas capaces de degradar los componentes estructurales de las paredes celulares de las plantas, lo que hace pensar que ellos juegan una importante función en el debilitamiento de la fibra a nivel ruminal; especialmente cuando se observa que las dietas más fibrosas se relacionan con altas poblaciones de hongos en el rumen. La concentración a nivel ruminal ha sido estimada oscilar entre 10^3 y 10^6 hongos por ml de contenido ruminal, debiéndose esta variabilidad observada principalmente a la metodología empleada para la estimación, tipo de animal y dieta.

BIBLIOGRAFÍA

1. AKIN, D. E. Association of rumen fungi with various forage grasses. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 16: 273-285. 1987.
2. AKIN, D. E.; GORDON, G. L. R. and HOGAN, J. P. Rumen bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentzii* grown with or without sulfur. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 738-748. 1983.
3. AKIN, D. E. and RIGSBY, L. L. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1987-1995. 1987.
4. AKIN, D. E. and BENNER, R. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1117-1125. 1988.
5. BARICHIEVICH, E. M. and CALZA, R. E. Characterization of a new species of rumen fungi from beef cattle. *J. Animal Science/J. Dairy Science* 67/72 (Supl. 1): 521. 1989.
6. BARICHIEVICH, E. M. and CALZA, R. E. Media carbon induction of extracellular cellulase activities in *Neocallimastix frontalis* isolate EB-188. *Current Microbiol.* 20: 265-271. 1990.
7. BARR, D. J. S. An outline for the reclassification of the Chytriales, and for a new order, the Spizellornycetales. *Bot.* 58: 2380-2394. 1980.
8. BARR, D. J. S. The phylogenetic and taxonomic implications of flagellar roset morphology among zoosporic fungi. *Bio-systems* 14: 359-370. 1981.
9. BAUCHOP, T. Rumen anaerobic fungi of cattle and sheep. *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 148-158. 1979a.
10. BAUCHOP, T. The rumen anaerobic fungi: colonizers of plant fibre. *Ann. Rech. Vét.* 10: 246-248. 1979b.
11. BAUCHOP, T. and MOUNTFORT, D. O. Cellulose fermentation by rumen anaerobic fungus in both the absence and presence of rumen methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 1103-1110. 1981.
12. BAUCHOP, T. The anaerobic fungi in rumen fibre digestion. *Agriculture and Environment.* 6: 339-348. 1981a.
13. BAUCHOP, T. Rumen anaerobic fungi and the utilization of fibrous feeds. *Reviews in Rural Science* 6: 118-123. 1981b.
14. BAUCHOP, T. The gut anaerobic fungi: colonizers of dietary fibre. In *Fibre in human and animal nutrition*. Ed. Wallace, G.; L. Bell. 143-148. Wellington: Royal Society of New Zealand. 1983.

15. BRAUNE, R. Untersuchungen uber die in Wiederkauernagen vorkommenden protozoen. Arch. Protist. 32: 111-170. 1913.
16. BREON, A.; GAILLARD, B.; BERNALIER, A.; BONNEMOY, F. and FONTY, G. Morphological and metabolic characterization of a new species of strictly anaerobic rumen fungi. Reprod. Nutr. Dévelop. 28 (Suppl. 1): 67-68. 1988.
17. DEMEYER, D. I. Introductory lecture: rumen microbes and digestion of plant cell walls. Agriculture and Environment. 6: 295-337. 1981.
18. ENGELS, F.M. and BRICE, R.E. A barrier covering lignified cell walls of barley straw that resists access by rumen microorganisms. Curr. Microbio. 12: 217-224. 1985.
19. FONTY, G.; GRENET, E.; FÉVRE, M.; BRETON, A. and GOUET, Ph. Ecology and functions of rumen anaerobic fungi. Reprod. Nutr. Dévelop. 28: 1-18. 1988.
20. GAILLARD, B.; CITRON, A. and BRETON, A. Ultrastructural study of a strictly anaerobic rumen fungus, *Piromonas communis*. Reprod. Nutr. Dévelop. 18: 129-130. 1988.
21. GORDON, G. L. R. and ASHES, J. R. In vitro digestion of wheat straw by different rumen anaerobic fungi. Can. J. Anim. Sci. 64 (Suppl. 1): 156-157. 1984.
22. GORDON, G. L. R. The potential manipulation of rumen fungi. In Reviews in Rural Science, Ed. Leng, R. A.; Barker, J. S. F.; Adams, D. B.; Hutchinson, K. J. Vol. 6: 124-128, Armidale, Australia: University of New England, publications Office. 1985.
23. GORDON, L. R. and PHILLIPS, M.W. Degradation and utilization of cellulose and straw by three different anaerobic fungi from the ovine rumen. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1703-1710. 1989a.
24. GRENET, E.; BRETON, A.; FONTY, G.; BARRY, P. and REMOND, B. Influence of the diet on rumen anaerobic fungi. Reprod. Nutr. Dévelop. 28: 127-128. 1988.
25. HEATH, B.; BAUCHOP, T. and SKIPP, R. A. Assignment of the rumen anaerobe *Neocallimastix frontalis* to the Spizellornycetales (Chytridiomycetes) on the basis of its polyflagellate zoospores ultrastructure. Can. J. Bot. 61: 295-307. 1983.
26. HEATH, B. and BAUCHOP, T. Mitosis and phylogeny of the genus *Neocallimastix frontalis* Can. J. Bot. 63: 1595-1604. 1985.
27. HEBRAUD, M. and FÉVRE, M. Characterization of hydrolases produced by rumen anaerobic fungi. Reprod. Nutr. Dévelop. 28: 131-132. 1988.
28. HUNGATE, R. E. The rumen and its microbes. New York: Academic Press. 1966.
29. JOBLIN, K. N. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. Appl. Environ. Microbiol. 42: 1119-1122. 1981.
30. JOBLIN, K. N. Physical disruption of plant fibre by the rumen fungi of the *Sphaeromonas* group. In the roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Nolan, J. V.; Leng, R. A.; Demeyer, D. I. Editors. Armidale, NSW. 2351, Australia: Penambui Books. Proceedings of an International Seminar OECD, 26-29. September, 1988. p. 159-260. 1989.
31. KOLATTUKUDY, P. E. Enzymatic penetration of plant cuticle by fungal pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 223-250. 1985.
32. KOPEÓNÝ, J. and WILLIAMS, A. G. Synergism of rumen microbial hydrolases during degradation of plant polymers. Folia Microbio. 33: 208-212. 1988.
33. LIEBETANZ, E. Die parasitischen protozoen der wiederkauermagens. Arch. Protist. 19: 19. 1910
34. LOWE, S.E.; THEODOROU, M.K. and TRINCI, A.P.J. Cellulases and xylanase of an anaerobic rumen fungus grown on wheat straw, sheat straw holocellulose, cellulose, and xylan. Appl. Environ. Microbio. 53: 1216-1223. 1987a.
35. LOWE, S. E.; THEODOROU, M. K. and TRINCI, A. P. J. Growth and fermentation of an anaerobic rumen fungus on various carbon sources and effect of temperature on development. Appl. Environ. Microbio. 53: 1210-1215. 1987b.
36. LOWE, S. E.; GRIFFITH, G. G.; MILNE, A.; THEODOROU, M. K. and TRINCI, A. P. J. The life cycle and growth kinetics of an anaerobic rumen fungus. J. Gen. Microbio. 133: 1815-1827. 1987c.
37. Mc LEOD, M. N. and MINSON, D. J. J. Animal Science 66: 992. 1988.
38. MILNE, A.; THEODOROU, M. K.; JORDAN, M. G. C.; KINGSPONER, C. and TRINCI, A. P. J. Survival of anaerobic fungi in feces, in saliva, and in pure culture. Experimenta Mycology 13: 27-37. 1989.
39. MOUNTFORT, D. O.; ASHER, R. A. and BAUCHOP, T. Fermentation of cellulose to methane and carbon dioxide by a rumen anaerobic fungus in a triculture with *Methanobrevibacter* sp. Strain RA1 and *Methanosarcina barkeri*. Appl. Environ. Microbio. 44: 128-134. 1982.
40. MOUNTFORT, D. O. and ASHER, R. A. Production and regulation of cellulase by two strains of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. Appl. Environ. Microbiol. 49: 1314-1322. 1985.
41. MUNN, E. A.; GREENWOOD, C. A. and ORPIN, C. G. Organization of the kinetosomes and associated structures of zoospores of the rumen Chytridiomycete *Neocallimastix patriciarum*. Can. J. Bot. 65: 456-465. 1987.
42. MUNN, E. A.; ORPIN, C. G. and GREENWOOD, C. A. The ultra structure and possible relationship of four obligate anaerobic Chytridiomycete fungi from the rumen of sheep. Biosystem 22: 67-81. 1988,
43. OBISPO, N. E. Most-probable-number method for enumeration of rumen fungi with studies on factors affecting numbers in the rumen. Master Thesis, the Ohio State University, Ohio, USA. 1990.
44. ORPIN, C. G. The rumen flagellate *Callimastix frontalis*: does the sequestration occur J. Gen. Microbio. 84: 395-398. 1974.
45. ORPIN, C. G. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. J. Gen. Microbiol. 91: 249-262. 1975.
46. ORPIN, C. G. Studies on the rumen flagellate *Sphaeromonas communis*. J. Gen. Microbiol. 94: 270-280. 1976.
47. ORPIN, C. G. Invasion of plant tissue in the rumen by the flagellate *Neocallimastix frontalis*. J. Gen. Microbio. 98: 423-430. 1977a.

48. ORPIN, C. G. The rumen flagellate *Piromonas communis*: Its life-history and invasion of plant material in the rumen. *J. Gen. Microbiol.* 99: 107-117. 1977b.
49. ORPIN, C. G. Short communications: the occurrence of chitin in the cell walls of the rumen organism *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* 99: 215-218. 1977c.
50. ORPIN, C. G. On the induction of zoosporogenesis in the rumen Phycomycetes *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* 101: 181-189. 1977d.
51. ORPIN, C. G. and BOUNTIFF, L. Zoospore chemotaxis in the rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *J. Gen. Microbiol.* 104: 113-122. 1978.
52. ORPIN, C. G. Carbohydrate fermentation in a defined medium by the rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *Society for General Microbiology: Proceedings* 5: 98-99. 1978a.
53. ORPIN, C. G. Induction of zoosporogenesis in the rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis* in rumen fluid after the addition of haem-containing compounds. *Society for General Microbiology: Proceedings* 5: 46-47. 1978b.
54. ORPIN, C. G. and LETCHER, A. J. Utilization of cellulose, starch, xylose, and other hemicelluloses for growth by the rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *Current Microbiology* 3: 121-124. 1979.
55. ORPIN, C. G. and HART, Y. Digestion of plant tissues by rumen Phycomycete fungi. *J. Appl. Bacteriol.* 49: x. 1980.
56. ORPIN, C. G. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Animal Feed Science and Technology* 10: 121-143. 1983/84.
57. ORPIN, C. G. and MUNN, E. *Neocallimastix patriciarum* sp. nov., a new member of the Neocallimastixaceae inhabiting the rumen of sheep. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 86: 178-181. 1986.
58. ORPIN, C. G. and GREENWOOD, Y. Nutritional and germination requirements of the rumen Chytridiomycete *Neocallimastix frontalis*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 86: 103-109. 1986a.
59. ORPIN, C. G. and GREENWOOD, Y. The haems and related compounds in the nutrition and zoosporogenesis of the rumen Chytridiomycete *Neocallimastix frontalis* H8. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2179-2185. 1986b.
60. ORPIN, C. G. Nutrition and biochemistry of anaerobic Chytridiomycetes. *Biosystems* 21: 365-370. 1988.
61. ORPIN, C. G. and JOBLIN, K. N. The rumen anaerobic fungi. In the rumen microbial ecosystems. Ed. P. N. Hobson. p. 129-150. Elsevier Science Publisher. 1988.
62. PEARCE, P. D. and BAUCHOP, T. Glycosidases of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* grown on cellulosic substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 1265-1269. 1985.
63. RICHARDSON, A. J.; STEWART, C. S.; CAMPBELL, G. P.; WILSON, A. S. and JOBLIN, K. N. Influence of coculture with rumen bacteria on the lignocellulolytic activity of Phycomycetous fungi from the rumen. In *Microbial Ecology Section. XIV International Congress of Microbiology, 7-13 September (Manchester, England)*. 1986.
64. ROGERS, H. J. and PERKINS, H. R. Cell walls of filamentous fungi. In *Cell Walls and Membranes*, p. 153-160. London, E. & F. N. Sponsons. 1968.
65. THEODOROU, M. K.; LOWE, S. E. and TRINCI, A. P. J. The fermentative characteristics of anaerobic rumen fungi. *Biosystem* 21: 371-376. 1988.
66. THEODOROU, M. K.; LONGLAND, A. C.; DHANOA, M. S.; LOWE, S. E. and TRINCI, A. P. Growth of *Neocallimastix* sp. strain R1 on Italian ryegrass hay: removal of neutral sugars from plant cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1363-1367. 1989.
67. ORPIN, C. G. Nutrition and biochemistry of anaerobic Chytridiomycetes. *Biosystems* 21: 365-370. 1988.
68. ORPIN, C. G. and JOBLIN, K. N. The rumen anaerobic fungi. In the rumen microbial ecosystems. Ed. P. N. Hobson. p. 129-150. Elsevier Science Publisher. 1988.
69. PEARCE, P. D. and BAUCHOP, T. Glycosidases of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* grown on cellulosic substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 1265-1269. 1985.
70. RICHARDSON, A. J.; STEWART, C. S.; CAMPBELL, G. P.; WILSON, A. B. and JOBLIN, K. N. Influence of coculture with rumen bacteria on the lignocellulolytic activity of Phycomycetous fungi from the rumen. In *Microbial Ecology Section. XIV International Congress of Microbiology, 7-13 September (Manchester, England)*. 1986.
71. ROGERS, H. J. and PERKINS, H. A. Cell walls of filamentous fungi. In *Cell Walls and Membranes*, p. 153-160. London, E. & F. N. Sponsons. 1968.
72. THEODOROU, M. K.; LOWE, S. E. and TRINCI, A. P. J. The fermentative characteristics of anaerobic rumen fungi. *Biosystem* 21: 371-376. 1988.
73. THEODOROU, M. K.; LONGLAND, A. C.; DHANOA, M. S.; LOWE, S. E. and TRINCI, A. P. Growth of *Neocallimastix* sp. strain R1 on Italian ryegrass hay: removal of neutral sugars from plant cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1363-1367. 1989.
74. USHIDA, K.; TANAKA, H. and KOJIMA, Y. A simple in situ method for estimating fungal population size in the rumen. *Letters in Appl. Microbiol.* 9: 109-111. 1989.
75. WARNER, A. C. 1. Diurnal changes in the concentrations of microorganisms in the rumen of sheep fed limited diets once daily. *J. Gen. Microbiol.* 45: 213-235. 1966.
76. WEBB, J. and THEODOROU, K. M. A rumen anaerobic fungus of the genus *Neocallimastix*: ultrastructure of the polyflagellate zoospore and young thallus. *Biosystem* 21: 393-401. 1988.
77. WHINDHAM, W. R. and AKIN, D. E. Rumen fungi and forage fiber degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 473-476. 1984.
78. WILSON, J. R. and ENGELS, F. M. Do rumen fungi have a significant direct role in particle size reduction? In the roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. J. V. Nolan; R. A. Leng; D. I. Demeyer Editors. Armidale NSW 2351, Australia: Penambui Books. *Proceedings of an International Seminar OECD 26-29 September, 1988*. p. 255-257. 1989.

73. WILLIAMS, A. G. and ORPIN, C. G. Glycoside hydrolase enzymes present in the zoospore and vegetative growth stages of the rumen fungi *Neocallimastix patriciarum*, *Piromonas communis*, and an unidentified isolate, grown on a range of carbohydrates. *Can. J. Microbio.* 33: 427-434. 1987a.
74. WILLIAMS, A. G. and ORPIN, C. G. Polysaccharide-degrading enzymes formed by three species of anaerobic rumen fungi grown on a range of carbohydrates substrates. *Can. J. Microbiol.* 33: 418-426. 1987b.
75. WILLIAMS, A. G.; WITHERS, S. E. and STRACHAN, N. H. Postprandial variation in the activity of polysaccharide-degrading enzymes in microbial populations from the digested solids and liquor fractions of rumen contents. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 15-26. 1989.
76. WOOD, T. M.; WILSON, C. A.; McCRAE, S. I. and JOSLIN, K. N. A highly active extracellular cellulase from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis*. *FEMS Microbio. Letters* 34: 37-40. 1986.

Volver a: [Manejo del alimento](#)