

Evidence-Based Ruminant Microbiota

Microbiota ruminal, apoyada en la evidencia

Andres Haro Haro^{1-3*}; María Andrade², Andrés Suarez³

ABSTRACT

Ruminants break down the fiber of the feed intake in the rumen through a microbial symbiosis, which performs its enzymatic hydrolysis and subsequent fermentation. The objective was demonstrating the activity of rumen microorganisms consisting of bacteria, protozoa, fungi and methanogenic archaea. Bacterial populations are located at three different levels in the rumen: attached to the solid. The concentration of bacteria in the rumen is higher than that of protozoa. Protozoa support a fundamental role in fiber degradation, store large amounts of starch and slow down the production of acids that reduce rumen pH. Fungi have an important function in the digestion of the cell walls of plants, especially those of low quality. Archaea in the rumen are strictly anaerobic microorganisms and produce methane from CO₂ and hydrogen. Conclusion: Rumen microorganisms establish complex relationships among themselves, which allow the degradation of the feed that reaches the rumen and consequently the use of the nutrients it contains.

Keywords: rumen microbes 1; rumen 2; bacteria 3; fungi 4; archaea 5; protozoa 6.

RESUMEN

Los rumiantes degradan en el rumen la fibra de los alimentos consumidos a través de una simbiosis microbiana, que realiza su hidrólisis enzimática y posterior fermentación. El objetivo es evidenciar la actividad de los microorganismos del rumen constituidos por bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas. Las poblaciones bacterianas se ubican en tres niveles diferentes en el rumen: adheridas al sólido. La concentración de bacterias en el rumen es mayor a la de los protozoos. Los protozoos juegan un papel fundamental en la degradación de la fibra, almacenar grandes cantidades de almidón y ralentizan la producción de ácidos que reduce el pH ruminal. Los hongos tienen una función importante en la digestión de las paredes celulares de los vegetales, sobre todo en aquellos de baja calidad. Las arqueas en el rumen son microorganismos anaerobios estrictos y producen metano a partir de CO₂ e hidrógeno. Conclusión: Los microorganismos ruminales establecen entre sí relaciones complejas, que permiten la degradación del alimento que llega al rumen y en consecuencia la utilización de los nutrientes que contiene.

Palabras clave: microbiota ruminal 1; rumen 2; bacterias 3; hongos 4; arqueas 5; protozoos.

Recibido 22 de noviembre de 2022 Aceptado 15 de diciembre de 2022

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, 010205, Cuenca, Ecuador

² Departamento del Conocimiento Ganadero, Milk and Meat, 060103, Ecuador, ma.joseandrade88@gmail.com

³ Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 060106, Ecuador, andres.suarez@esPOCH.edu.ec

*Autor de correspondencia: Telf de contacto: +593 96 977 2984; email: andresharo86@hotmail.com

1. INTRODUCCIÓN

Los animales rumiantes realizan la mayor parte de su digestión en el retículo-rumen, característica que difiere de los animales monogástricos que realizan la digestión en el intestino. Dada la localización al inicio del tracto gastrointestinal, la fermentación ruminal determina el sitio de digestión, ya que solo podría digerirse en el intestino lo que no ha sido fermentado en el rumen (Mackie, 2002 y Haro, 2019). El rumen, compartimento de mayor capacidad en los animales adultos, hospeda una red biológica compleja, donde todas las formas primitivas conviven en simbiosis dentro del ecosistema ruminal (Choudhury et al., 2012). Los mecanismos simbióticos de los microorganismos les permite extraer energía (ácidos grasos volátiles, ácido fórmico, H₂, CO₂ y CH₄) por fermentación, apoyada por los microorganismos ruminales como las bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas, y el animal hospedero (Carro, 2016 y Haro, 2019). El estudio del rumen mediante la manipulación y modificación del ecosistema microbiano tiene como rigor maximizar la productividad y mejorar la salud general de los animales rumiantes. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es el análisis individual de los microorganismos, estructura microbiana, composición y simbiosis ruminal que favorecerá con el conocimiento sobre la microbiología del rumen.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La compilación de información para la elaboración de esta revisión sobre los tratamientos de protección de las proteínas frente a la degradación ruminal fragmentó el material sistemático partiendo de las palabras clave protección de proteínas, tratamientos físicos y químicos, degradabilidad ruminal. El material científico fue de revisión de literatura dentro de artículos científicos, secciones en libros, revistas, páginas web de diferentes comunidades científicas, apartados de tesis doctorales y extraídos de bibliotecas científicas electrónicas como: *Nutri News*, *Springer*, *Springer Verlag*, *Acribial*, *BioOne*, *Taylor*, *Wiley*, *Scopus*, *Latindex*, *Redalyc*, *Scielo*, *Dspace* y revistas científicas, especialmente de *Reproduction Nutrition Development*, *Nutrition Research Reviews*, *Canadian Journal of Animal Science*, *Archives of Animal Nutrition*, *Animal Feed Science and Technology*, *Microbiology*, *Applied and environmental microbiology*, *Biochemical Journal*, *Applied microbiology and biotechnology* y *Book's: Livestock Green House Gases*, *Satish Serial Publishing House*, *Nature Publishing*

Company, Rumen microbiology. Para el análisis directo se utilizó los relacionados con la importancia sobre la compleja red microbiana ruminal basa en la evidencia científica.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rumiantes degradan en el rumen la fibra de los alimentos consumidos a través de una simbiosis microbiana, que realiza su hidrólisis enzimática y posterior fermentación. Los microorganismos del rumen son anaeróbicos o anaerobios facultativos conformando el ecosistema ruminal.

3.1. Ecosistema ruminal

Las características físicas y químicas del ecosistema ruminal se observan en la tabla 1. Los animales rumiantes proporcionan a los microorganismos un medio ambiente conveniente para su mantenimiento y desarrollo, por su parte, los microorganismos realizan la degradación y fermentación de los componentes fibrosos de los alimentos, sintetizan proteína microbiana de alta calidad, vitaminas del grupo B y pueden detoxificar algunos compuestos tóxicos de los alimentos (Hofmann, 1993 y Enjalbert et al., 2017). El contenido en materia seca del contenido ruminal es de 10 a 20%. Además, el tipo de dieta determina las características ruminales, como el pH neutro o ligeramente ácido (7,0 y 5,5, respectivamente) de su contenido y condiciones de anaerobiosis que proporcionan a los microorganismos un ambiente adecuado para su mantenimiento y desarrollo (Carro, 2016 y Enjalbert et al., 2017). Los microorganismos del rumen son anaeróbicos o anaerobios facultativos que desencadenan una simbiosis entre el animal hospedador, constituida por una variada población microbiana, principalmente de bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas (Carro, 2016 y Haro, 2019). Durante este proceso la población microbiana es la encargada de degradar e hidrolizar los nutrientes de los alimentos consumidos en beneficio propio. A consecuencia de la actividad fermentativa las bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas producen ácidos grasos volátiles (AGV, acético, propiónico y butírico entre 60 y 80 mmol/L, 16 y 30 mmol/L, 10 y 28 mmol/L, respectivamente) que son utilizados por el rumiante como su principal fuente de energía y que pueden llegar aportar hasta con el 80% de la energía total obtenida de la dieta. En el transcurso, el proceso fermentativo genera calor, gases (CO_2 , CH_4 , CO_2 , CH_4 , N_2 , O_2 y H_2). Posterior a las 2 h del consumo de alimento su contenido en

aminoácidos, oligopéptidos y carbohidratos solubles es menor a 1 mmol/L, mientras que el contenido de amoníaco es de 3 a 10 mmol/L (Seal y Reynolds, 1993 y Mackie et al., 1999).

Tabla 1. Características del ecosistema ruminal.

Fuente	Propiedades físicas y químicas			
	Temperatura, °C		39 ± 2	
	pH		5,5 – 7,0	
	Materia seca, %		10 y 20	
Mackie et al., 1999,	Aminoácidos	< 1 mmol/L presente a partir de las 2 h después del consumo de alimento		
Castro-Montoya et al., 2011 y Haro et al., 2020	Oligopéptidos			
	Carbohidratos solubles			
	Amoníaco, mmol/L		3 y 10	
	Fase gaseosa		CO ₂ , CH ₄ , N ₂ , O ₂ , H ₂	
	Ácidos grasos volátiles, mmol/L		Acético 60 y 80, propiónico 16 y 30, butírico 10 y 28, de cadena larga y ramificada 2 y 6	
Fuente	Propiedades microbiológicas		Masa microbiana	Intervalo de generación
	Bacterias, células/mL	10 ¹⁰ - 10 ¹¹	60 – 90 %	20 min (variable)
Stewart et al., 1997,	Protozoos, células/mL	10 ⁵ - 10 ⁶	10 – 40 %	8 – 36 horas
Wright y Klieve, 2011 y Zhou et al., 2017	Hongos anaerobios, células/mL	10 ³ - 10 ⁵	5 -10 %	24 horas
	Arqueas, células/mL	Sin determinar	< al 1%	Sin determinar

3.2. Bacterias

Las poblaciones bacterianas se ubican en tres niveles diferentes en el rumen: adheridas a la pared ruminal, asociadas a las partículas alimenticias y libres flotando en el líquido ruminal. Las bacterias adheridas a la pared hidrolizan la urea de una forma muy rápida. Las bacterias asociadas a las partículas (bacterias celulolíticas y hemicelulolíticas) atacan los sustratos no solubles, mientras que las que flotan en el líquido ruminal degradan sustratos solubles y más rápidamente degradables (Haro et al., 2020). La concentración de bacterias (Tabla 1) en el rumen es de 10¹⁰ - 10¹¹ células/mL de contenido ruminal (Mackie et al., 1999, Stewart et al., 1997 y Wright y Klieve, 2011).

Las bacterias se clasifican según el sustrato que utilizan o según sus productos finales de fermentación. Las bacterias amilolíticas predominan en el rumen de animales que consumen

dietas con alto contenido de almidón, mientras que las bacterias celulolíticas predominan cuando se administran dietas con alto contenido en forraje, así como bacterias hemicelulolíticas y pectinolíticas. Las bacterias que utilizan ácidos intermedios (ácidos láctico, succínico, málico) realizan la fermentación secundaria de los productos finales de otras bacterias (Choudhury et al., 2012 y Chojnacka et al., 2015). El lactato suele ser fermentado hasta ácido propiónico, mientras que los ácidos succínico y málico son convertidos en ácido propiónico y CO₂.

Las bacterias proteolíticas poseen diferentes enzimas proteolíticas (proteinasas, exopeptidasas, tabla 2) que posibilitan la degradación de las proteínas hasta péptidos y aminoácidos, cuya desaminación genera amoníaco. El amoníaco se puede obtener también de la hidrólisis de la urea y en este proceso actúan bacterias con capacidad ureolítica. Las bacterias lipolíticas hidrolizan triglicéridos y fosfolípidos, liberando glicerol y ácidos grasos. Las arqueas productoras de metano están muy asociadas a la fermentación de forraje y sus condiciones óptimas son similares a las de las bacterias celulolíticas (Chojnacka et al., 2015 y Choudhury et al., 2015).

Tabla 2. Microorganismos ruminales.

Tipo de microorganismo	Género y especie	Fuente
Bacterias (Acetogénicas, celulolíticas, hemicelulolíticas, lipolíticas, pectinolíticas, proteolíticas, amilolíticas, sacarolíticas, taninolíticas, ureolíticas)	<i>Acetitomaculum ruminis</i> , <i>Eubacterium limosum</i> , <i>Megasphaera elsdenii</i> , <i>Wolinella succinogenes</i> , <i>Veillonella gazogene</i> , <i>Micrococcus lactolytica</i> , <i>Oxalobacter formigenes</i> , <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> , <i>Desulfo-tomaculum ruminis</i> , <i>Succiniclasticum ruminis</i> , <i>Fibrobacter succinogenes</i> , <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> , <i>Ruminococcus flavefaciens</i> y <i>albus</i> , <i>Clostridium cellobio-parum</i> , <i>longisporum</i> y <i>lochheadii</i> , <i>Eubacterium cellulosolvens</i> , <i>Prevotella ruminicola</i> , <i>Eubacterium xy-lanophilum</i> y <i>uniformis</i> , <i>Anaerovibrio lipolytica</i> , <i>Treponema saccharophilum</i> , <i>Lachnospira multiparus</i> , <i>Prevotella ruminicola</i> , <i>Ruminobacter amylophilus</i> , <i>Clostridium bifermentans</i> , <i>Streptococcus bovis</i> , <i>Ruminobacter amylophilus</i> , <i>Prevotella ruminicola</i> , <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> y <i>amylolytica</i> , <i>Selenomonas ruminantium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>casei</i> , <i>fermentum</i> , <i>plantarum</i> , <i>brevis</i> y <i>helveticus</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i> , <i>ruminale</i> y <i>ruminantium</i> ,	Stewart et al., 1997, Choudhury et al., 2015 y Zhou et al., 2017

	<i>Streptococcus caprinus, Eubacterium oxidoreducens, Megaspheera elsdenii</i>	
Protozoos	<i>Entodinium bovis, bubalum, bursa, caudatum, chat-terjeei, parvum, longinucleatum, dubardi y exiguum, Epidinium caudatum, Isotricha prostoma e intestinalis, Dasytricha ruminantium, Diplodinium dendatum e indicum, Oligoisotricha bubali, Polyplastron multivesiculatum, Eremoplastron asiaticus y bubalus</i>	Choudhury et al., 2015, Enjalbert et al., 2017 y Solomon et al., 2022
Hongos	<i>Piromyces communis, mae, minutus, Piromyces dum-bonicus, rhizinflatus, spiralis, citronii y polycephalus, Anaeromyces mucronatus y elegans, Caecomyces communis, equi y sympodialis, Cyllamyces aberensis y icaris, Neocallimastix frontalis, patriciarum, hurleyensis y variabilis, Orpinomyces joynii e intercalaris</i>	Wright y Klieve, 2011 y Choudhury et al., 2015
Arqueas	<i>Methanobacterium formicicum y bryantii, Methanobrevibacter ruminantium y smithii, Methanomicrobium mobile, Methanosarcina barkeri, Methanoculleus olentangyi</i>	Whitman et al., 2001, Choudhury et al., 2015 y Zhou et al., 2017

3.3. Protozoos

Los protozoos ruminales son clasificados en flagelados y ciliados según su función morfológica, aparte se han descrito alrededor de 40 especies de protozoos determinados por géneros y especies que podemos observar en la Tabla 2. En comparación con las bacterias, la concentración de protozoos ($10^5 - 10^6$ células/mL, tabla 1) en el rumen es menor, debido a su mayor tamaño entre 15 y 200 μm , pueden constituir hasta el 50% del nitrógeno microbiano total (Choudhury et al., 2015 y Solomon et al., 2022).

Los protozoos juegan un rol fundamental en la degradación de la fibra, en rumiantes que reciben dietas ricas en concentrados, se ha observado que pueden almacenar grandes cantidades de almidón y ralentizar la producción de ácidos, resultado de una reducción en el pH ruminal. Al mismo tiempo, los protozoos son depredadores de bacterias, por lo que su baja concentración suele incrementar la síntesis de proteína microbiana (Van Soest, 1994). Los productos finales que se han generado en su metabolismo suelen ser equivalentes a los generados por las bacterias, entre ellos se destacan el hidrógeno y AGV en especial el acético y butírico. Por lo demás, viven asociadas a los protozoos algunas arqueas metanogénicas que proporcionan un acceso inmediato al hidrógeno generado y utilizarlo junto con CO_2 para producir metano (Mackie et al., 2000 y Solomon et al., 2022).

3.4. Hongos

Los hongos concurrentes en el compartimiento retículo-rumen no son fundamentales para la vida de los rumiantes, a pesar de que no se conoce en profundidad su papel en la fermentación ruminal, se ha observado que poseen actividad celulolítica y tienen una importante participación en la degradación de tejidos vegetales lignificados, sobre todo en fuentes fibrosas de baja calidad (Barichievich y Calza, 1990 y Haro, 2019). La presencia de alimento fibrosos en la dieta y de resistencia a la degradación de los polímeros de la pared celular vegetal más resistentes son los delimitantes en la concentración de hongos en el rumen, condicionalmente presentan baja reproducción de forma que precisan sustratos con tiempos de permanencia más larga en el rumen para poder llevar a buen fin el crecimiento del esporangio. La concentración también varía en gran medida entre animales del mismo rebaño y que reciben la misma dieta. Los hongos que constituyen el grupo microbiano no se encuentran exclusivamente en el rumen de los animales, sino a lo largo de todo el tracto digestivo, también difieren de sus homólogos aeróbicos puesto que poseen hidrogenosomas en lugar de mitocondrias como sitio para la producción de energía, curiosamente, se han encontrado aislados de la saliva y heces, apuntando a estructuras tolerantes al oxígeno y desecación (García-Vallve et al., 2000 y Haro, 2019).

Los hongos pueden llegar a suponer hasta el 15% ($10^3 - 10^6$ células/mL de contenido ruminal, ver tabla 1) del total de la biomasa microbiana del rumen y solo se han descrito seis géneros que se observan en la tabla 2 (Wright y Klieve, 2011 y Choudhury et al., 2015).

3.5. Arqueas

Las arqueas están calificadas entre los primeros organismos originados en el planeta, representan tres de las siete clases de filos Eurotas, extendiéndose filogenéticamente. Evidencias recientes con secuenciación de ADN han divulgado que se componen de aproximadamente 70 especies entre 30 géneros. El filo arqueal más abundante en el rumen es la *Euryarchaeota* que constituye alrededor del 99% de la población de arqueas ruminales. Además, el género más abundante (Tabla 2) es el *Methanobrevibacter*, que representa aproximadamente el 90% (Whitman et al., 2001 y Zhou et al., 2017).

Las arqueas existentes en el rumen son microorganismos anaerobios estrictos y producen metano a partir del hidrógeno y CO₂ producidos por los protozoos, hongos y bacterias a partir del catabolismo de las hexosas para producir metano y generar adenosín trifosfato (ATP, en inglés *adenosine triphosphate*) (Lange, et al., 2005 y Zhou et al., 2017). Estos

microorganismos poseen específicamente tres coenzimas involucradas en la transferencia de electrones, de grupos metilo y en la reacción final de producción de metano (Whitman et al., 2001 y Zhou et al., 2017).

La concentración de estos microorganismos en el rumen no ha sido determinada con precisión, no obstante, desempeñan un papel especial en la fermentación ruminal al reducir las concentraciones de hidrógeno. Debido a que el metano emitido al medio ambiente contribuye al calentamiento global, su reducción es un objetivo prioritario en la nutrición de los animales rumiantes (Mackie et al., 1999 y Lange, et al., 2005).

4. CONCLUSIONES

Los estudios más recientes sobre microbiota ruminal han determinado la capacidad para describir la composición, estructura y poblaciones microbianas, además de sus funciones específicas, determinando las relaciones entre el microbioma y el huésped. Además, estudiar el ecosistema ruminal permite determinar la interacción del alimento con los procesos digestivos producidos por los microorganismos ruminales que establecen entre sí relaciones complejas, que permiten la degradación del alimento que llega al rumen y en consecuencia la utilización de los nutrientes que contiene, gracias a la actividad de las bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas sobre la fibra de los alimentos.

Contribuciones de los autores: Redacción—revisión y edición, Andrés Haro H; Metodología, María José Andrade; Conceptualización, Andrés Suarez. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: "No aplicable"

Declaración de consentimiento informado: "No aplicable"

Declaración de disponibilidad de datos: Nutri News, Springer, Springer Verlag, Acribial, BioOne. Taylor, Wiley, Scopus, Latindex, Redalyc, Scielo, Dspace y revistas científicas, especialmente de *Reproduction Nutrition Development*, *Nutrition Research Reviews*, *Canadian Journal of Animal Science*, *Archives of Animal Nutrition*, *Animal Feed Science and Technology*, *Microbiology*, *Applied and environmental microbiology*, *Biochemical Journal*, *Applied microbiology and biotechnology* y *Book's: Livestock Green House Gases*, *Satish Serial Publishing House*, *Nature Publishing Company*, *Rumen microbiology*.

Agradecimientos: A la Universidad de Cuenca y a la Consultora Internacional Milk and Meat por su aporte compartiendo el conocimiento ganadero.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

- Barichievich, E.M.; Calza, R.E. Supernatant protein and cellulase activities of the anaerobic ruminal fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1990; Volumen 56(1): 43-48. <https://doi.org/10.1128/aem.56.1.43-48.1990>
- Carro, M.D. Fisiología del tracto gastrointestinal en los animales rumiantes. *Nutri News. Monográfico sobre salud gastrointestinal*, 2016; 26-37.
- Castro-Montoya, J.M.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system rumen. *Can. J. Anim. Sci.* 2011; 91: 433-448
- Chojnacka, A.; Szczęsny, P.; Błaszczuk, M.K.; Zielenkiewicz, U.; Detman, A.; Salamon, A.; Sikora, A. Noteworthy facts about a methane-producing microbial community processing acidic effluent from sugar beet molasses fermentation. *PLoS One*, 2015; 10(5), e0128008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128008>
- Choudhury, P.K.; Sirohi, S.K.; Puniya, A.K.; et al. Harnessing the diversity of rumen microbes using molecular approaches. In: Sirohi SK, Walli TK, Singh B, Singh N (eds) *Livestock Green House Gases: emission and options for mitigation*. Satish Serial Publishing House, Delhi, Section-B, Chapter 6, 2012; p. 65–82. ISBN 978-93-81226-52-065
- Choudhury, P.K.; Salem, A Z.M., Jena, R.; Kumar, S.; Singh, R.; Puniya, A.K. Rumen microbiology: An overview. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 2015; 3-16.
- Enjalbert, F.; Combes, S.; Zened, A.; Meynadier, A. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *J. App. Microb.* 2017; 123(4), 782-797. <https://doi.org/10.1111/jam.13501>
- Garcia-Vallve, S.; Romeu, A.; Palau, J. Horizontal gene transfer of glycosyl hydrolases of the rumen fungi. *Mol. Biol. Evol.*, 2000; 17(3), 352-361. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026315>
- Haro Haro, A.N. Control of protein degradation in the rumen for improving protein efficiency and reducing polluting emissions (Doctoral dissertation, Agronomical) 2019. <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.57432>.
- Haro, A.N.; Carro, M.D.; De Evan, T.; González, J. Influence of feeding sunflower seed and meal protected against ruminal fermentation on ruminal fermentation, bacterial composition and in situ degradability in sheep. *Ar Anim Nutr*, 2020; 74(5): 380-396. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2020.1756679>

- Hofmann, R.R. Anatomía del conducto gastrointestinal. En: El Rumiante. Fisiología Digestiva y de la Nutrición. Church D.C. (ed.). Acribia, Zaragoza, España, 1993; p. 15-46.
- Lange, M.; Westermann, P.; Ahring, B.K. Archaea in protozoa and metazoa. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005; 66: 465-474. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1790-4>
- Mackie, R.I.; McSweeney, C.S.; Aminov, R.I. Rumen. In: *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing Company, London. 1999.
- Mackie, R.I.; Aminov, R.I.; White, B.A.; McSweeney, C.S. Molecular ecology and diversity in gut microbial ecosystems. *Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction*, 2000. Volúmen 3, 61-777. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/47267844/2000>
- Mackie, R.I. Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. *Int. Comp. Biol*, 2002; 42(2), 319-326. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.319>
- Seal, C.J.; Reynolds, C.K. Nutritional implication of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutr. Res. Rev.*, 1993; 6(1): 185-208. <https://doi.org/10.1079/NRR19930012>
- Solomon, R., Wein, T., Levy, B., Eshed, S., Dror, R., Reiss, V., ... & Jami, E. Protozoa populations are ecosystem engineers that shape prokaryotic community structure and function of the rumen microbial ecosystem. *The ISME journal*, 16(4), 2022; 1187-1197. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01170-y>
- Stewart, C.S.; Flint, H.J.; Bryant, M.P. The rumen bacteria. In *The rumen microbial ecosystem* Springer, Dordrecht, 1997; p. 10-72. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_2
- Wright, A.D.G.; Klieve, A.V. Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation. *Anim. Feed. Sci. Technol*, 2011; 166-167:248-253. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.015>
- Van Soest, P.J. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. (2nd Ed). Diet quality and ungulate diversity. Cornstock Publishing 408 Associates, Cornell University Press. Ithaca. NY, EEUU, 1994. ISBN: 0-8014-2772-X
- Whitman, W.B.; Boone, D.R.; Koga, Y.; et al. Taxonomy of methanogenic archaea. In: Garrity GM (ed) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer Verlag, New York, 2001; p 211-213. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6>
- Zhou, Z.; Fang, L.; Meng, Q.; Li, S.; Chai, S.; Liu, S.; Schonewille, J.T. Assessment of ruminal bacterial and archaeal community structure in yak (*Bos grunniens*). *Front. Microbiol*, 2017; 8: 179. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00179>