

# Modelo Dinámico Mecanístico para la Estimación de Parámetros de Crecimiento Bacteriano Ruminal: Descripción del Modelo

L. Vargas-Villamil<sup>1,2</sup>, J. Ku-Vera,

Unidad de Posgrado e Investigación, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5, Apdo. Postal 4-116 Itzinná, 97100 Mérida, Yuc., México. Tels +52 (999) 942-3204. Fax +52 (999) 942-3205.

F. Vargas-Villamil

Prog. de Matemáticas Aplicadas y Comp. Instituto Mexicano del Petróleo. Eje Central Lázaro Cárdenas Norte 152, Gustavo A. Madero. 07730 México, D.F. México.

S. Medina-Peralta,

Facultad de Matemáticas, Universidad Autónoma de Yucatán. Calle 8 s/n por 21 Colonia Maria Luisa, 97199 Mérida, Yuc. México.

**Resumen.** Se desarrollo un modelo dinámico, mecanístico y determinístico (*Turix*) que es útil como base de una función de regresión durante el ajuste de tres parámetros, relacionados a sistemas cerrados de crecimiento bacteriano ruminal. El modelo de 10 variables de estado, que no requiere la condición de estado estacionario, esta basado en los conceptos de los modelos de Monod, Michaelis-Menten y de caja negra, así como información disponible en la literatura. Se asume que la concentración de sustrato microbioal es directamente proporcional a si misma y a la concentración de biomasa bacteriana; así como a la existencia de un metabolito intermedio. También se asume que la biomasa y la concentración de ácidos grasos volátiles dentro del sistema son función del metabolito intermedio. Para la descripción del comportamiento del sistema se desarrollaron cuatro submodelos; a) Degradación de alimento b) Crecimiento animal y c) Fermentación bacteriana. Los parámetros estimados son:  $k_{M,SmL}$ , que determina el comportamiento del proceso de captura del sustrato microbioal;  $k_{LM}$ , que determina el comportamiento del proceso de crecimiento bacteriano a partir de un metabolito intermedio y  $Y_{AGV,SF}$ , que determina el rendimiento microbioal de producción de ácidos grasos volátiles. Se discuten los conceptos básicos utilizados durante

---

<sup>1</sup>luis@avanzavet.com

<sup>2</sup>A quien debe dirigirse cualquier correspondencia

el desarrollo del modelo *Turix*. El modelo demostró ser capaz de ajustar parámetros que tienen relación a procesos cinéticos y de rendimiento de ácidos grasos volátiles que son útiles para la comprensión del sistema ruminal.

**Palabras claves:** Modelos, Parámetros, Mecanístico, Crecimiento ruminal.

## 1. Introducción

Durante el desarrollo de los modelos ruminales, la digestión, el pasaje, la formación de biomasa (**M**) y la fermentación deben de ser descritos con la mayor precisión posible. Puesto que, una suposición inadecuada durante el proceso de modelado disminuye la predictibilidad. Los modelos de crecimiento bacteriano son claves para describir los procesos de fermentación ya que las bacterias son las unidades que controlan este proceso, una descripción inadecuada resulta en una mala predicción de la formación de **M** y los ácidos grasos volátiles (**AGV**); y por consecuencia de los procesos de la digestión.

Debido a la gran variedad de ambientes en los sistemas ruminales, es difícil obtener una serie completa de trabajos para ser utilizados como base del desarrollo de modelos para ambientes particulares. Sin embargo, es factible la utilización de resultados de trabajos internacionales para el desarrollo de modelos mecanísticos. Lo anterior crea la necesidad de desarrollar métodos de investigación que permitan la obtención de la información faltante para la descripción del sistema, tomando en cuenta la escasez de recursos, muy frecuente en países tropicales. Ante esta problemática, se plantea en este trabajo el desarrollo de un modelo ruminal, con el objetivo de ser la base de una función de regresión para la obtención de parámetros con significado biológico, que puedan ser utilizados tanto para la comparación de **N**, así como para su futura utilización en modelos ruminales de predicción.

## 2. Descripción del modelo

El modelo *Turix* de este trabajo es la base de la función de regresión utilizada durante la estimación de dos parámetros cinéticos y uno de rendimiento de **AGV**, en un sistema cerrado de crecimiento bacteriano ruminal, para lo cual se utilizaron datos obtenidos de cultivos discontinuos (Aranda, 2000). En este trabajo, se considera al alimento o sustrato animal (**N**), como al sustrato añadido a cualquier medio de cultivo ruminal o proporcionado al rumiante para su estudio, que todavía no ha sufrido transformación alguna por el contacto con el animal o medio de cultivo.

La sintaxis y la semántica del tipo de ecuaciones diferenciales utilizadas se apegaron a las consideraciones recomendadas por Nagasaki et al. (1999) sobre bio-cálculo. En esta semántica todas las relaciones entre moléculas son ejecutadas como aquellas definidas por sistemas de ecuaciones diferenciales. Para la solución numérica del modelo y la estimación de los parámetros se utilizó el programa Berkeley Madonna v8.0.1 (Macey et al., 2000). Para una descripción matemática detallada de los métodos matemáticos utilizados para la estimación de parámetros se puede consultar el trabajo de Herrera (2002).

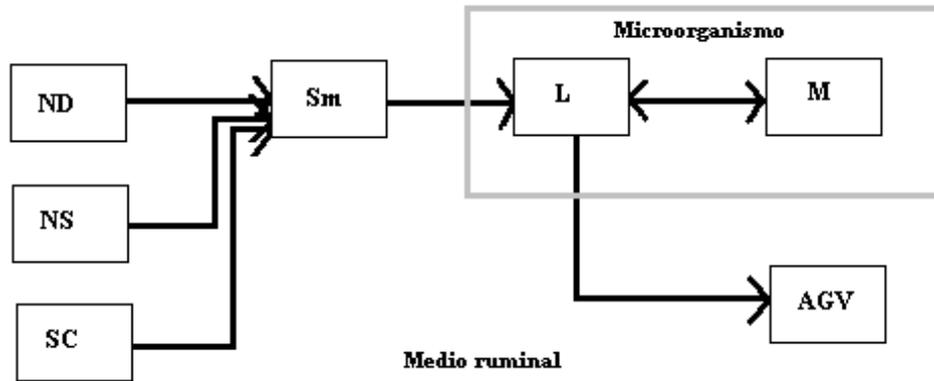


Figura 1: Representación esquemática del modelo Turix

## 2.1. Suposiciones

Las variables de estado son entidades cinéticas que únicamente describen el comportamiento cinético del sistema. Las suposiciones, en este sentido, son generalizaciones no igualdades, con fines descriptivos desde un punto de vista cinético. Lo cual significa que la generalización sustrato microbiano ( $S_m$ ), N, metabolito intermedio ( $L$ ) = Glucosa ( $Glu$ ) se entenderá en este trabajo como el predominio cinético del comportamiento de la Glu, sin que lo anterior implique la ausencia de otros compuestos como celobiosa ( $Cel$ ) o pentosas etc. Se asume que las cinéticas de los compuestos *in vivo* son similares a las cinéticas *in vitro* e *in situ*. Se considerará que la fibra detergente neutra ( $FDN$ ) = N.

Se considera el sistema como **no estructurado** debido a que no se estudian los cambios en composición de la bacteria durante el crecimiento bacteriano (Panikov, 1995b) y espacialmente **homogéneo** (mezclado perfecto), entendido esto, como la ausencia de gradiente espacial en concentración de sustrato ( $S$ ), producto ( $P$ ), M y L (Panikov, 1995a). Se considera que la composición final de los productos es: M + AGV.

Se asume que el sistema de estudio se encuentra en estado no estacionario en cualquier variable de estado. En todos los valores que biológicamente tiendan a 0 se utilizará el valor **suficientemente pequeño** ( $\epsilon$ ) como valor inicial. De igual forma, todos los valores que tiendan al  $\infty$  se utilizarán el valor **suficientemente grande** ( $E$ ).

## 2.2. Parámetros

Los parámetros estimados son:

- $k_{M,S_mL}$ , determina el comportamiento del subproceso de captura de  $S_m$ ;
- $k_{LM}$ , determina el comportamiento del subproceso de crecimiento bacteriano desde L y  $Y_{AGV,SF}$ , determina el rendimiento ( $Y$ ) microbial de producción de AGV.

Los valores recomendados como valores iniciales del ajuste en este trabajo son:  $k_{M,S_mL}$  con valor Mínimo de 2.39E-02, Estimado 1 de 1.04E-01, Estimado 2 de 3.37E+00 y Máximo

de  $1.66\text{E}+01$  ( $\text{ml}(\text{h})^{-1}(\text{mgM})^{-1}$ );  $k_{LM}$  con valor Mínimo de  $5.00\text{E}-01$ , Estimado 1 de  $1.50\text{E}+01$ , Estimado 2 de  $6.67\text{E}+01$  ( $\text{h})^{-1}$  y Máximo de  $2.00\text{E}+03$ ;  $Y_{AGV,SF}$  con valor Mínimo de  $5.00\text{E}-01$ , Estimado 1 de  $7.10\text{E}-01$ , Estimado 2 de  $7.90\text{E}-01$  y Máximo de  $1.00\text{E}+00$  ( $\text{g}(\text{g})^{-1}$ ); los cuales fueron obtenidos de información de la literatura.

### 2.3. Obtención de datos experimentales utilizados para el ajuste

Para el estudio del comportamiento del modelo durante el ajuste se utilizó una serie de datos obtenida de los experimentos de Aranda (2000) donde se utilizó como tratamiento la fracción FDN de la caña de azúcar (**CZ**). La idea principal para lo anterior es la de evaluar el comportamiento del modelo, sin variaciones particulares, que pudieran afectar el resultado de esta evaluación, para posteriormente en otro trabajo, analizar el ajuste de parámetros durante el estudio de la CZ para cada una de sus diferentes fracciones (Vargas-Villamil, 2003, datos sin publicar).

### 2.4. Descripción

El modelo *Turix* esta compuesto por 10 **variables de estado** que describen el sistema. Se utilizó el concepto de balance de masas derivada de la primera ley de la termodinámica para desarrollar un modelo que describe la Degradación del Alimento, Crecimiento Bacteriano y Fermentación Bacteriana basado en los conceptos de los modelos de Monod y Michaelis-Menten. En la Figura 1 se pueden observar un diagrama que representan el modelo *Turix*.

#### 2.4.1 Submodelo de Degradación de alimento

En este trabajo se considera que N esta compuesto por tres entidades cinéticas definidas como: **ND**, la fase degradable; **NS**, la medianamente degradable y **SC**, la altamente degradable.

El presente submodelo describe la cinética de degradación de N hacia Sm. Se considera que la razón de cambio con respecto al tiempo como consecuencia de la degradación es directamente proporcional a N. La expresión de bio-cálculo para el submodelo de degradación de alimento se presenta en el Cuadro 1 y su sistema de ecuaciones diferenciales (1.1-1.6) en el Anexo.

#### 2.4.2 Submodelo de Crecimiento microbiano

Este submodelo describe el crecimiento microbiano mediante el aumento de la concentración de M en un cultivo discontinuo como función de Sm, de L y M. La generalización del submodelo consintió que éste sea tratado como modelo de caja negra que describe el comportamiento de un sistema donde no se conoce L.

El crecimiento bacteriano esta formado por dos subprocesos, el primero, irreversible, que describe la captura de sustrato microbiano y el segundo, reversible, que describe el crecimiento bacteriano. La expresión de bio-cálculo se presenta en el Cuadro 2 y su sistema de ecuaciones diferenciales (2.1-2.15) en el Anexo. El subproceso de crecimiento bacteriano describe el aumento de M en el sistema, definido no solo por los procesos que describen el

Tabla 1: Expresión de biocálculo para el submodelo de Degradación de Alimento.

Permitir def		
	ND => Sm	$k_{NDSm}$
	NS => Sm	$k_{NSSm}$
	SC => Sm	$k_{SCSm}$
en $C_{ND}(0.5) = 2.18E-01 \text{ mg ND(ml)}^{-1}$ , $C_{NS}(0.5) = 5.32E-02 \text{ mg NS(ml)}^{-1}$ , $C_{SC}(0.5) = 1.95E-01 \text{ mg SC(ml)}^{-1}$ , $C_{Sm}(0.5) = \epsilon \text{ mg NSm(ml)}^{-1}$ , $k_{NDSm} =$ $1.91E-02 \text{ h}^{-1}$ , $k_{NSSm} = 3.02E-01 \text{ h}^{-1}$ , $k_{SCSm} = E \text{ h}^{-1}$ .		

aumento de M debido a la dependencia en L, sino por la relación de L con M y Sm. El valor inicial de  $C_M$  en el modelo corresponde al primer valor de la concentración de M calculado a partir de los datos de Aranda (2000). Se consideró el valor inicial de  $C_L(0.5) = \epsilon \text{ mg SM(ml)}^{-1}$  y  $C_{Sm}(0.5) = \epsilon \text{ mg SM(ml)}^{-1}$  debido a que la concentración de L intracelular es despreciable (Stephanopoulos, 1998) y a que la concentración inicial de Sm es  $\epsilon$  antes de que empiece la degradación de N.

Tabla 2: Expresión de biocálculo para el submodelo de Crecimiento Bacteriano.

Permitir def			
	Sm M	=>	L M $k_{M,SmL}^\dagger$
	2L	=>	M $k_{LM}^\dagger$
	Sm M	=>	Sm L $k_{M,SmL}^\dagger$
en $C_{Sm}(0.5) = \epsilon \text{ mg SM(ml)}^{-1}$ , $C_M(0.5) = 3.56E-03^\ddagger \text{ mg M(ml)}^{-1}$ , $C_L(0.5) = \epsilon \text{ mg L(ml)}^{-1}$ .			
$^\dagger$ Parámetros para ajustar $^\ddagger$ Valor obtenido de Aranda (2000)			

### 2.4.3 Submodelo de Fermentación bacteriana

Este submodelo describe la fermentación ruminal como función del proceso de crecimiento bacteriano, peso molecular (**PM**), rendimientos estequiométricos y Y de AGV en relación con sustrato fermentado (**SF**) ( $Y_{AGV,SF}$ ). Este submodelo de fermentación está compuesto únicamente por el subproceso de fermentación.

La expresión de bio-cálculo se presenta en el Cuadro 3 y su sistema de ecuaciones diferenciales (3.1-3.8) en el Anexo. Este submodelo describe los flujos de formación de Ac, Pr, Bu y Va. Se considera un solo flujo total de formación de AGV; por lo que la descripción de los flujos de cada uno de los AGV se obtiene mediante la utilización del PM y

rendimientos estequiométricos ( $\mathbf{Y}_{AGV,SF}$ ) reportados por Murphy (1984), que corresponden a cada reacción.

Tabla 3: Expresión de biocálculo para el submodelo de Fermentación Bacteriana.

Permitir def	$\mathbf{L} \Rightarrow \mathbf{Ac}$
	$\mathbf{L} \Rightarrow \mathbf{Pr}$
	$\mathbf{L} \Rightarrow \mathbf{Bu}$
	$\mathbf{L} \Rightarrow \mathbf{Va}$
en $C_L(0.5) = \epsilon \text{ mg SM(ml)}^{-1}$ , $C_M(0.5) = 3.56\text{E-}03^\ddagger \text{ mg M(ml)}^{-1}$ , $C_{Ac}(0.5) = \epsilon \text{ mg L(ml)}^{-1}$ , $C_{Pr}(0.5) = \epsilon \text{ mg L(ml)}^{-1}$ , $C_{Bu}(0.5) = \epsilon \text{ mg L(ml)}^{-1}$ , $C_{Va}(0.5) = \epsilon \text{ mg L(ml)}^{-1}$ .	
‡ Valor obtenido de Aranda (2000)	

### 3. Solución y procedimiento de ajuste

El modelo *Turix* descrito por un sistema de ecuaciones diferenciales se integró numéricamente mediante el método de Rosenbrock (stiff) del programa Berkeley Madonna v8.0.1 (Macey et al., 2000), utilizándose su función como función de regresión en el programa Berkeley Madonna v8.0.1 para ajustar los tres parámetros del modelo. Los valores iniciales de los parámetros, utilizados en el ajuste, fueron los reportados previamente. El tiempo inicial fue de 0.5 h, el final de 1.00E+01 h. El intervalo de integración mínimo de 1.00E-06 y el máximo de 1.00E+00. La tolerancia utilizada, según el programa Berkeley Madonna v8.0.1 (Macey et al., 2000) fue de 1.00E-03. El ajuste de los parámetros del modelo *Turix* se realizó mediante el ajuste de la trayectoria de M a los datos de Aranda (2000).

El procedimiento de ajuste para la obtención de los parámetros de degradación se realizó de una manera y con un programa diferente al del modelo *Turix*. Las curvas de datos se ajustaron por regresión. El programa utilizado fue KyPlot v2.0 beta 14 (Yoshioka, 2001).

### 4. Resultados y Discusión

En México, no se ha reportado el desarrollo de modelos mecanísticos ruminales. Por lo anterior, la planeación del desarrollo del modelo y su posterior utilización en el ajuste de parámetros, requirió empezar de lo básico. Se tomaron decisiones arbitrarias basadas en evidencias de la literatura, pero adaptándolas a las necesidades en México y a las experiencias y circunstancias particulares de los investigadores.

En el rumen, los productos de la fermentación han sido ampliamente estudiados (Ørskov et al., 1968; Valdivia, 1996), así como el rendimiento ( $\mathbf{Y}$ ) (Hespel y Bryant, 1979; Owens y Goestch, 1993; van Soest, 1994), con pocos estudios a nivel de ingeniería metabólica. En los modelos generalmente utilizados para análisis de flujos metabólicos es posible, donde

hay una secuencia lineal de reacciones, simplificar estos y considerar únicamente los puntos de bifurcación para la reducción de la complejidad (Stephanopoulos, 1998). Por las anteriores razones, el submodelo de Crecimiento bacteriano se desarrolló como modelo de caja negra, en donde se describe un flujo de entrada desde Sm y dos de salida, uno hacia formación de M y el otro hacia formación de AGV. Los modelos de caja negra son una súper simplificación de los diferentes procesos que se llevan a cabo en las bacterias ruminales, los cuales son consecuencia no solo de los múltiples caminos metabólicos (van Houtert, 1993), factores internos (edad de filamentos, viabilidad, etc.), factores externos (concentración y tipo de sustrato, pH, etc.) (Russell y Baldwin, 1979; Russell y Dombrowski, 1980; Panikov, 1995b) y estado fisiológico como consecuencia de sus antecedentes de cultivo (Panikov, 1995b); sino de la entropía del sistema que controla dicho sistema. Un modelo con estas características no permite comprender los mecanismos internos que determinan el comportamiento de crecimiento bacteriano, sin embargo, a cambio de lo anterior permiten la comparación de los procesos bacterianos claves que determinan el comportamiento del sistema y que son de mayor relevancia en la nutrición de rumiantes. La información obtenida con este tipo de modelos puede ser utilizada para posteriores investigaciones en donde se estudien los mecanismos internos del crecimiento bacteriano, tales como los estudios de ingeniería metabólica bacteriana.

Una suposición en el modelo *Turix* es que la composición final de los productos de la fermentación en el rumen es M + AGV. Lo primero por analizar es el balance estequiométrico entre Glu y los AGV en el rumen. Aunque dicho balance puede cambiar dependiendo de la composición de Sm (van Houtert, 1993), la población bacteriana (Marounek y Bartos, 1987), pH (Miwa et al., 1997), td (Isaacson et al., 1975), etc.; Ørskov et al. (1968) determinó que en términos generales los balances estequiométricos podrían representarse como: a) Acetato (Ac),  $C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 2 CH_3-COOH + 2 CO_2 + 4 H_2$ ; b) Propionato (Pr),  $C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 2 CH_3-CH_2-COOH + 2 H_2O$ ; c) Butirato (Bu),  $C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 2 CH_3-CH_2-CH_2-COOH + 2 CO_2 + 2 H_2$ . Lo que puede resumirse a un solo balance:  $Glu \Rightarrow Ac + Pr + Bu + Va$ . Si se balancean todos los átomos que entran al sistema durante esta reacción se puede calcular que la diferencia es 0. Lo que significa que todos los átomos que entraron a la reacción salieron ya sea como  $CO_2$ ,  $O_2$ ,  $H_2$  o  $H_2O$ . El balance completo se presenta en la tesis doctoral de Vargas-Villamil (2003).

No se puede considerar que, todo lo que ingresa a la bacteria y no se transforma en AGV, entra directamente a la formación de M, ya que los polisacáridos solo representan entre el 11.50 y 18.00 % de la bacteria. Aunque las moléculas de RNA y DNA contienen cierta cantidad de carbohidratos ( $CH_2O$ ), las proteínas (**Pro**) son por mucho el principal componente de las bacterias, con un valor promedio del 50.00 % de la materia seca (**MS**). Un cierto porcentaje, tanto de la Pro (Atasoglu et al., 1998) como de los  $CH_2O$  (Lou et al., 1997), que entran a las células forman directamente el material celular. Se ha calculado que, cuando la concentración en el medio de Pro es baja, las bacterias sintetizan aproximadamente entre el 65.00 y 90.00 % de la Pro a partir de amoníaco; reduciéndose hasta el 15.00 % cuando la concentración en el medio de Pro aumenta (Atasoglu et al., 1998). En el caso de los  $CH_2O$  es la tasa de dilución (**td**) del sistema que regula su deposición en el interior de las bacterias. La deposición de los  $CH_2O$  hacia glucógeno bacteriano, puede reducirse de un máximo del 60.00 % hasta un mínimo de 28.00 % en relación a la MS, cuando la td aumenta. Lo anterior quiere decir que, en el nivel más bajo el 35.00 % [(Pro:  $0.15 * 0.50 = 0.075$ ) +

(Glu: 0.28) = 0.35] y en el más alto el 95.00 % [(Pro: 0.90 \* 0.35 = 0.32) + (Glu: 0.60 = 0.95)], de la masa bacteriana esta formada por moléculas del medio exterior que no sufrieron modificación alguna.

Si consideramos que el rendimiento de biomasa ( $Y_{M,SF}$ ) va de 21 a 46 (gM(gSF)<sup>-1</sup>) cuando la td aumenta del 2.5E-02 al 2.00E-01 (Kerley, 2000), quiere decir que del sustrato fermentado [(0.35 \* 0.21 = 0.0735) + 0.79 = 0.8635; (0.95 \* 0.21 = 0.1995) + 0.79 = 0.9895; (0.35 \* 0.46 = 0.161) + 0.54 = 0.701; (0.95 \* 0.46 = 0.437) + 0.54 = 0.977], del 70.10 al 97.70 % es material que se integra a las bacterias sin modificación alguna, dependiendo de las circunstancias del medio exterior.

La M que se desarrolla en un ambiente *in vivo* presenta una composición que cambia según las condiciones de éste. De esta forma podemos ver cambios en la composición química de M como consecuencia de td, tasa de crecimiento (Isaacson et al., 1975; van Soest, 1994; Lou et al., 1997), de la concentración de sustrato microbiano (Sm) (Maeng y Baldwin, 1975; Panikov, 1995c; Atasoglu et al., 1998), tipo de Sm (Maeng y Baldwin, 1975; Panikov, 1995c; Lou et al., 1997; Atasoglu et al., 1998), dieta (Hespel y Bryant, 1979) y la población bacteriana (Hespel y Bryant, 1979), que determinan a su vez la composición de M que pasa al tracto posterior para la alimentación del rumiante. Debido a que el sistema se considera no estructurado y homogéneo el modelo es incapaz de predecir dichos cambios, así como el efecto de los gradientes de concentración presentes en un ambiente *in vivo* estratificado como el que se encuentra en el rumen (Murphy y Kennedy, 1993). La técnica utilizada para el cultivo de las bacterias presenta factores que difieren de los presentes *in vivo*, como son la falta de interacción entre poblaciones, auto selección durante el curso del cultivo y cambios fenotípicos en el estado fisiológico de las bacterias en respuesta a cambios en el ambiente (diferencias con respecto a la disponibilidad y espectro de Sm y modificadores, temperatura, etc.) (Panikov, 1995a). En el rumen las bacterias representan entre el 60.00 y 90.00 % de la masa microbiana, los protozoarios entre el 10.00 y 40.00 % y los hongos entre 5.00 y 10.00 % con múltiples interacciones entre ellos (van Soest, 1994), que modifican la estructura del sistema, así como la composición bacteriana.

La descripción de la fermentación bacteriana, en el modelo *Turix*, esta dada por la división de un solo flujo total de AGV en diferentes flujos individuales, mas comúnmente encontrados en la fermentación ruminal. Cada flujo de AGV, individualmente, depende de las constantes obtenidas de la literatura, por lo que la precisión en la descripción está íntimamente ligada a las condiciones y suposiciones de los trabajos de donde se obtuvieron. Debido a que la entropía individual del sistema determina las vías metabólicas, los productos (Brown y LeMay Jr, 1987) y la eficiencia; la producción de cada uno de los AGV varía dependiendo de cada situación: siendo muy poco probable obtener una descripción muy precisa de la producción de cada uno de ellos. Esto ha sido un problema difícil de resolver en modelos de digestión ruminal (Bannink et al., 1997) donde se describe mejor el comportamiento de la producción total de AGV pero no así la producción individual (Dijkstra et al., 1992; Bannink et al., 1997). Uno de los objetivos en el desarrollo del modelo en este trabajo es el estudio de  $Y_{AGV,SF}$  que nos permite describir el comportamiento del flujo total de AGV. Para la descripción de los flujos individuales de AGV se utilizaron constantes de Murphy (1984). Aunque estas constantes utilizadas en el modelo *Turix* para el análisis de la FDN de la CZ fueron obtenidas para dietas forrajeras similares en composición a la CZ, la repetición de este trabajo, con constantes obtenidas con experimentos basados en la CZ;

podría mejorar la precisión en la descripción de los AGV individuales. Sin embargo, cuando se utilizan las mismas constantes para estudios comparativos entre diferentes tratamientos de N, es muy poco probable que la utilización de constantes obtenidas de N dentro del mismo grupo de forrajes afecte la validez de los resultados.

El crecimiento bacteriano, así como todos los procesos metabólicos dentro de las bacterias son funciones de la concentración de Sm (Panikov, 1995b,c), por lo que es posible considerar la captura de Sm como una reacción maestra, que controla una cadena de reacciones (Panikov, 1995b). Una reacción maestra puede ser la reacción más lenta en el sistema y limitante en el metabolismo de nutrientes de las bacterias (Panikov, 1995c; Kajikawa y Masaki, 1999) y por lo tanto, determinante de la competencia entre bacterias (Russell y Baldwin, 1979; Russell et al., 1981). Según Kajikawa et al. (1997) y Kajikawa y Masaki (1999), la captura de sustrato es una reacción limitante, por lo que este subproceso puede modificar el comportamiento del sistema. El parámetro  $k_{M,SmL}$  que se encuentra dentro del subproceso de captura de sustrato microbiano (C) del modelo *Turix* describe cuantitativamente C para ayudar a la interpretación o explicación biológica del comportamiento de M. Debido a que no se conoce los compuestos que forman Sm. Este parámetro, que es un indicador de la captura de Sm, puede verse afectado por una degradación incompleta; por lo que reflejará parte del comportamiento de la degradación de N más la captura de Sm hacia dentro de las bacterias. Se requieren más trabajos donde se separe este efecto.

Los parámetros ajustados  $k_{LM}$  y  $Y_{AGV,SF}$  están relacionados con la eficiencia bacteriana mediante la síntesis de M y el rendimiento ( $Y$ ) hacia AGV. Estos dos parámetros están íntimamente relacionados ya que de la energía obtenida como consecuencia de la fermentación (Ørskov et al., 1968) de Sm depende la síntesis de M (Hespel y Bryant, 1979). La eficiencia ruminal es importante en el comportamiento del rumiante, como se comprobó en un trabajo donde se calculó que cambios en la eficiencia como consecuencia de diferentes td producen hasta 1.50 de incremento en el flujo de M (Kerley, 2000). Describir la cinética de los diferentes compartimentos involucrados en el sistema ruminal, permitirá, como en el caso de la CZ, donde no se comprende claramente la diferencia entre su potencial nutricional y el comportamiento animal (Aranda, 2000), la optimización de su uso como fuente común de alimentación.

Los valores de los parámetros ajustados encontrados en este trabajo son:  $k_{M,SmL}$ ,  $1.23E+01 \text{ ml h}^{-1}(\text{mg M})^{-1}$ ;  $k_{LM}$ ,  $1.99E+03 \text{ (h)}^{-1}$ ;  $Y_{AGV,SF}$ ,  $7.45 \text{ E-01 g(g)}^{-1}$  y Mínimo de la raíz media del residual al cuadrado,  $2.74E-03$ .

Para evaluar adecuadamente la utilidad del modelo *Turix*, se requieren trabajos posteriores enfocados a problemas específicos. Debido a lo anterior, se llevó a cabo dos trabajos donde se analizan estos aspectos; en uno se diseñaron varios análisis del proceso de ajuste y en otro se analizaron fracciones de la CZ (Vargas-Villamil, 2003, datos sin publicar).

Lo importancia de este modelo es que permite obtener índices cuantitativos de los procesos ruminales, que nos ayudan a evaluar y comparar el comportamiento del sistema ruminal en un ambiente similar al encontrado en los sistemas de producción ruminal bovina mexicana. La predicción no es el objetivo inmediato de este trabajo, sino una consecuencia a futuro de esta evaluación. En México existe más de 30 años de atraso en la modelación dinámica para la producción bovina (Sainz, 2002, comunicación personal), todo adelanto hacia la comprensión de este tipo de modelación es un objetivo en si mismo, independiente de los objetivos particulares. Es difícil predecir la utilidad del modelo *Turix* como base de

una función de regresión para la obtención de parámetros con significado biológico, pero las experiencias obtenidas en el desarrollo del modelo y las evaluaciones y críticas, ayudarán en el desarrollo de futuros modelos.

## 5. Conclusiones

- a) El proceso de ajuste donde se utilizó el modelo *Turix* fue capaz de ajustar tres parámetros, que tienen relación a procesos cinéticos y de rendimiento bacteriano.
- b) El trabajo con modelos mecanísticos es una herramienta útil para aprovechar información obtenida de la literatura y datos experimentales, que se han desarrollado en México y otros países.
- c) Se requieren más trabajos sobre el modelo *Turix*, con la finalidad de una evaluación completa de los aspectos, matemáticos y conceptuales.

## Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo brindado por CONACYT dentro del proyecto 33722-B.

## Referencias

- Aranda, E. M. (2000). *Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes*. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de México. México.
- Atasoglu, C., Valdés, C., Walker, N. D., Newbold, C. J., y Wallace, R. J. (1998). "De novo synthesis of amino acid by the ruminal bacteria *Prevotella bryantii* b<sub>14</sub>, *Selenomonas ruminantium* hd4, and *Streptococcus bovis* es1. *Applied and Environmental Microbiology*, 64:2836–2843.
- Bannink, A., De Visser, H., Dijkstra, J., y France, J. (1997). Causes of inaccurate prediction of volatile fatty acids by simulation models of rumen function in lactating cows. *Journal of Theoretical Biology*, 189:353–366.
- Brown, T. L. y LeMay Jr, H. E. (1987). "Equilibrio químico" *En Química: La Ciencia Central*, páginas 442–467. Practice-Hall Hispanoamérica, S A, México-Englewood Cliffs.
- Dijkstra, J. B., Neal, H. D. S., Breever, D. E., y France, J. (1992). Simulation of nutrient digestion, adsorption and outflow in the rumen: model description. *Journal of Nutrition*, 122:2239–2256.
- Herrera, A. A. (2002). Selección de un método para el ajuste de parámetros en un modelo dinámico para la producción bovina de engorda. Tesis de Licenciatura, Facultad de Matemáticas, Universidad Autónoma de Yucatán, México.

- Hespel, R. B. y Bryant, M. P. (1979). Efficiency of rumen microbial growth: influence of some theoretical and experimental factor on  $y_{ATP}$ . *Journal of Animal Science*, 49:1640–1658.
- Isaacson, H. R., Hinds, F. C., Bryant, M. P., y Owens, F.Ñ. (1975). Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 58:1645–1659.
- Kajikawa, H., Masahiro, A., y Masaki, S. (1997). Glucose transport by mixed ruminal bacteria from a cow. *Applied and Environmental Microbiology*, 63:1847–1851.
- Kajikawa, H. y Masaki, S. (1999). Cellobiose transport by mixed ruminal bacteria from a cow. *Applied and Environmental Microbiology*, 65:2565–2569.
- Kerley, M. S. (2000). Feeding for enhanced rumen function. 61<sup>st</sup> Minnesota Nutrition Conference Papers, University of Minnesota, Bloomington, Minnesota, USA.
- Lou, J., Dawson, K. A., y Strobel, I. J. (1997). Glycogen formation by the ruminal bacterium *Prevotella ruminicola*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63:1483–1488.
- Macey, R., Oster, G., y Zahnley, T. (2000). Berkeley Madonna User's guide version 8.0. University of California, Department of Molecular and Cellular Biology, Berkeley, CA 94720, <http://www.berkeleymadonna.com>.
- Maeng, W. J. y Baldwin, R. L. (1975). Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: effect of amino acid additions to purified diet with nitrogen from urea. *Journal of Dairy Science*, 59:648–655.
- Marounek, M. y Bartos, S. (1987). Interactions between rumen amylolytic and lactate-utilizing bacteria in growth on starch. *Journal of Applied Bacteriology*, 63:233–238.
- Miwa, T., Esaki, H., Umemori, J., y Hino, T. (1997). Activity of  $H^+$ -ATPase in ruminal bacteria with special reference to acid tolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 63:2155–2158.
- Murphy, M. R. (1984). "Particle dynamics" En: *Modeling Digestion and Metabolism, Proceeding of the 2<sup>nd</sup> International Workshop. R. L. Baldwin & A. C. Bywater (Eds.)*, páginas 59–62. University of California.
- Murphy, M. R. y Kennedy, P. M. (1993). "Particle dynamics" En: *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. J. M. Forbes y J. France (Eds.)*, páginas 87–105. CAB Internacional.
- Nagasaki, N., Onami, S., Miyano, S., y Kitano, H. (1999). Bio-calculus: its concept and molecular interaction. *Genome Informatics*, 10:133–143.
- Ørskov, E. R., Flatt, W. P., y Moe, P. W. (1968). Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid. *Journal of Dairy Science*, 51:1429–1435.

- Owens, F.Ñ. y Goetch, A. L. (1993). “*Fermentación Ruminal*” En: *El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición*. D. C. Church(Ed.). Acibia S.A., Zaragoza, (España).
- Panikov, N. S. (1995a). “*Diversity of patterns of microbial growth in situ an ex situ*” En *Microbial Growth Kinetics*, páginas 96–109. Chapman & Hall, London.
- Panikov, N. S. (1995b). “*Historical development of microbial growth theory*” En *Microbial Growth Kinetics*, páginas 1–95. Chapman & Hall, London.
- Panikov, N. S. (1995c). “*Microbial growth under homogeneous conditions*” En *Microbial Growth Kinetics*, páginas 110–237. Chapman & Hall, London.
- Russell, J. B. y Baldwin, R. L. (1979). Comparison of substrate affinities among several rumen bacteria: a possible determinant-of rumen bacterial competition. *Applied and Environmental Microbiology*, 37:531–536.
- Russell, J. B., Cotta, M. A., y Dombrowski, D. B. (1981). Rumen bacterial competition in continuous culture: *Streptococcus bovis* versus *Megasphaera elsdenii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 41:1394–1399.
- Russell, J. B. y Dombrowski, D. B. (1980). Effect of ph on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 39:604–610.
- Sainz (2002). Comunicación personal.
- Stephanopoulos, G. (1998). “*Metabolic flux analysis*” En: *Metabolic Engineering Principles and Methodologist*, páginas 223–255. Academic Press.
- Valdivia, S. V. (1996). Efecto del follaje de *Brosimum alicastrum Sw.* sobre el consumo, degradación ruminal de *Panicum maximum Jacq.* y suministró de nitrógeno microbiano al duodeno en ovinos. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.
- van Houtert, M. F. J. (1993). The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 43:189–225.
- van Soest, P. J. (1994). “*Microbes in the gut*” En *Nutritional Ecology of the Ruminant*, páginas 253–280. Comstock Publishing Associates, A Division of Cornell University Press. 2 ed., Ithaca & London.
- Vargas-Villamil (2003). datos sin publicar.
- Yoshioka, Y. (2001). KyPlot Software v2.00 beta 14. [www.queest.co.jp](http://www.queest.co.jp) Correo: [kyoshi@ja2.so-net.ne.jp](mailto:kyoshi@ja2.so-net.ne.jp).

## Anexo

### A. Submodelo de Degradación de Alimento

Variable de estado,  $C_{ND}$  (mg ND)(ml)<sup>-1</sup>:

$$\frac{dC_{ND}}{dt} = -U_{ND,NDSm} \quad 1.1$$

Ecuación auxiliar:

$$U_{ND,NDSm} = C_{ND} * k_{NDSm} \quad 1.2$$

Variable de estado,  $C_{NS}$ (mg NS)(ml)<sup>-1</sup>:

$$\frac{dC_{NS}}{dt} = -U_{NS,NSSm} \quad 1.3$$

Ecuación auxiliar:

$$U_{NS,NSSm} = C_{NS} * k_{NSSm} \quad 1.4$$

Variable de estado,  $C_{SC}$ (mg SC)(ml)<sup>-1</sup>:

$$\frac{dC_{SC}}{dt} = -U_{SC,SCSm} \quad 1.5$$

Ecuación auxiliar:

$$U_{SC,SCSm} = C_{SC} * k_{SCSm} \quad 1.6$$

### B. Submodelo Crecimiento Bacteriano

Variable de estado,  $C_{Sm}$ (mg Sm)(ml)<sup>-1</sup>:

$$\frac{dC_{Sm}}{dt} = P_{Sm,NDSm} + P_{Sm,NSSm} + P_{Sm,SCSm} - U_{Sm,SmL} \quad 2.1$$

Ecuaciones auxiliares:

$$P_{Sm,NDSm} = U_{ND,NDSm} \quad 2.2$$

$$P_{Sm,NSSm} = U_{NS,NSSm} \quad 2.3$$

$$P_{Sm,SCSm} = U_{SC,SCSm} \quad 2.4$$

$$U_{Sm,SmL} = C_M + C_{Sm} + k_{M,SmL} \quad 2.5$$

Variable de estado,  $C_L(\text{mg L})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_L}{dt} = P_{L,ML} - U_{L,LM} - U_{L,LAc} - U_{L,LPr} - U_{L,LBu} - U_{L,LVa} \quad 2.6$$

Ecuaciones auxiliares:

$$P_{L,ML} = 2(U_{Sm,SmL}) \quad 2.7$$

$$U_{L,LM} = k_{LM} * C_L \quad 2.8$$

$$U_{L,LAc} = (U_{L,LM} * Y_{AGV,SF}) * \left( Y_{Ac,Ce} * \left( \frac{PM_{Ac}}{PM_{Glu}} \right) \right) \quad 2.9$$

$$U_{L,LPr} = (U_{L,LM} * Y_{AGV,SF}) * \left( Y_{Pr,Ce} * \left( \frac{PM_{Pr}}{PM_{Glu}} \right) \right) \quad 2.10$$

$$U_{L,LBu} = (U_{L,LM} * Y_{AGV,SF}) * \left( Y_{Bu,Ce} * \left( \frac{PM_{Bu}}{PM_{Glu}} \right) \right) \quad 2.11$$

$$U_{L,LVa} = (U_{L,LM} * Y_{AGV,SF}) * \left( Y_{Va,Ce} * \left( \frac{PM_{Va}}{PM_{Glu}} \right) \right) \quad 2.12$$

Variable de estado,  $C_M(\text{mg M})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_M}{dt} = P_{M,LM} - U_{M,ML} \quad 2.13$$

Ecuaciones auxiliares:

$$P_{M,LM} = U_{L,LM} \quad 2.14$$

$$U_{M,ML} = U_{Sm,SmL} \quad 2.15$$

## C. Submodelo Fermentación bacteriana

Variable de estado,  $C_{Ac}(\text{mg Ac})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_{Ac}}{dt} = 2(P_{Ac,LAc}) \quad 3.1$$

Ecuación auxiliar:

$$P_{Ac,LAc} = U_{L,LAc} \quad 3.2$$

Variable de estado,  $C_{Pr}(\text{mg Pr})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_{Pr}}{dt} = 2(P_{Pr,LP_r}) \quad 3.3$$

Ecuación auxiliar:

$$P_{Pr,LP_r} = U_{L,LP_r} \quad 3.4$$

Variable de estado,  $C_{Bu}(\text{mg Bu})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_{Bu}}{dt} = 2(P_{Bu,LB_u}) \quad 3.5$$

Ecuación auxiliar:

$$P_{Bu,LB_u} = U_{L,LB_u} \quad 3.6$$

Variable de estado,  $C_{Va}(\text{mg Va})(\text{ml})^{-1}$ :

$$\frac{dC_{Va}}{dt} = 2(P_{Va,LV_a}) \quad 3.7$$

Ecuación auxiliar:

$$P_{Va,LV_a} = U_{L,LV_a} \quad 3.8$$

## D. Coeficientes y Valores Iniciales

### D.1. Coeficientes:

$$\begin{aligned} k_{NDsm} &= 1.91\text{E-}02 \text{ h}^{-1} \\ k_{NSSm} &= 3.02\text{E-}01 \text{ h}^{-1} \\ k_{SCsm} &= \text{E} \text{ h}^{-1} \end{aligned}$$

### D.2. Valores Iniciales:

$$\begin{aligned} C_{ND}(0.5) &= 2.18\text{E-}01 \text{ mg ND}(\text{ml})^{-1} \\ C_{NS}(0.5) &= 5.32\text{E-}02 \text{ mg NS}(\text{ml})^{-1} \\ C_{SC}(0.5) &= 1.95\text{E-}01 \text{ mg SC}(\text{ml})^{-1} \\ C_{Sm}(0.5) &= \in \text{ mg NSm}(\text{ml})^{-1} \\ C_M(0.5) &= 3.56\text{E-}03^{\ddagger} \text{ mg M}(\text{ml})^{-1} \\ C_L(0.5) &= \in \text{ mg L}(\text{ml})^{-1} \\ C_{Ac}(0.5) &= \in \text{ mg L}(\text{ml})^{-1} \\ C_{Pr}(0.5) &= \in \text{ mg L}(\text{ml})^{-1} \\ C_{Bu}(0.5) &= \in \text{ mg L}(\text{ml})^{-1} \\ C_{Va}(0.5) &= \in \text{ mg L}(\text{ml})^{-1} \end{aligned}$$

