

**Investigaciones sobre la microfauna ruminal
de la oveja en León, y los factores que influyen en
su composición cualitativa**

Por Benito Aller Gancedo

I N D I C E

- I. INTRODUCCION.—II. REVISION BIBLIOGRAFICA. A. Taxonomía.
1. Sistemática general. 2. Bases morfológicas para las diferencias de géneros y especies. 3. Evolución de los ciliados, en relación con la taxonomía. 4. Terminología. B. Relaciones ciliado hospedador. 1. Propagación. 2. Papel de los ciliados. 3. Variaciones cuantitativas y cualitativas en las poblaciones de ciliados.—III. MATERIALES Y METODOS. A. Recogida de material. B. Métodos de fijación y tinción. 1. Crítica de los diversos métodos recomendados. 2. Métodos seguidos. C. Parte experimental. 1. Prueba I. 2. Prueba II. D. Valoración de los resultados. E. Clasificación seguida.—IV. RESULTADOS. A. Prueba I. 1. Especies diagnosticadas. 2. Especies señaladas por primera vez en la oveja. 3. Frecuencia de los diversos géneros de ciliados en la oveja. 4. Frecuencia de las diversas especies de ciliados en la oveja. 5. Porcentaje de los diversos géneros en la población ruminal. 6. Fórmula de ciliados en la población ruminal. 7. Variaciones mensuales en la composición procentual de la población de ciliados. 8. Fórmula de ciliados en machos y hembras. 9. Fórmula de ciliados en las diversas edades. B. Prueba II. 1. Fórmula media de ciliados para las tres raciones ensayadas. 2. Variaciones observadas en las ovejas sometidas a control individual. 3. Evolución horaria de las fórmulas de ciliados. C. Relaciones entre los distintos grupos de ciliados.—V. DISCUSION. A. Prueba I. 1. Especies diagnosticadas. 2. Población «normal» de ciliados en la oveja leonesa. 3. Variaciones mensuales. 4. Variaciones en los sexos. 5. Variaciones según la edad. B. Prueba II. 1. Fórmulas de ciliados para las tres raciones ensayadas. 2. Variaciones individuales. 3. Variaciones horarias. 4. Relaciones entre los distintos grupos de ciliados. 5. Valores de pH.—VI. CONCLUSIONES.—VII RESUMEN.—VIII BIBLIOGRAFIA.—IX. ILUSTRACIONES.

I. INTRODUCCION

La fauna ruminal comenzó a estudiarse en 1843, por GRUBY y DELAFONT,³⁸ dos investigadores franceses. A partir de esta fecha, se han ido sucediendo los trabajos, tanto en el aspecto taxonómico, como en los morfológicos, de cultivo, metabolismo y otros. En consecuencia, hoy en día, existe una profusión de investigaciones que demuestran claramente la importancia de este tema.

En España existen algunos trabajos, aunque, a decir verdad, escasos. FERNANDEZ-GALIANO^{31 32 33 34 35} ha estudiado la infraciliatura de *Cycloposthium edentatum* y *Polyplastron multivesiculatum* y el aparato neuromotor de *Ophryoscolex purkinjei* y *Eudiplodinium magii*. OCARIZ⁶⁸ ha dado a conocer algunos aspectos relacionados con la obtención de microfotografías de estos protozoos. MARCOS BARRADO⁶² ha investigado "in vitro" el efecto del clorhidrato de 2-cloro-10-(3-dimetilaminopropil)-fenotiazina, sobre los microorganismos de la panza de la oveja. CORDEIRO¹⁷ ha resumido el estado actual de los conocimientos sobre los ciliados ovinos. Según puede apreciarse el número de publicaciones es realmente parco entre nosotros.

La importancia de los ciliados del rumen en el campo de las ciencias biológicas y los pocos datos nacionales disponibles, han sido los motivos que nos han impulsado a realizar los trabajos que constituyen esta tesis, cuya problemática puede estructurarse en los siguientes puntos:

1. Salvo menciones fragmentarias, con motivo de otro tipo de investigaciones, no se ha realizado en España ningún trabajo dirigido a determinar la composición cualitativa de la microfauna de la panza de la oveja. Por este motivo, el primer aspecto a estudiar sería la diagnosis de las diversas especies presentes en los ovinos de la zona leonesa.

2. Dado que, desde antiguo, se conoce que uno de los factores influyentes en las variaciones de la población ciliada es la alimentación, prolongando la investigación durante un plazo suficientemente largo, podría deducirse si las posibles modificaciones guardan relación con los cambios estacionales en la dieta, impuestos a los ovinos por su estrecha dependencia del pastoreo.

3. La anotación del sexo y la edad de los animales estudiados podría aportar nueva luz sobre la participación de los procesos hormo-

niales o de maduración fisiológica, en las modificaciones de la microfauna.

4. La determinación del pH del contenido de panza, cuyas variaciones a lo largo del período de permanencia de la ingesta en este receptáculo, pueden ser causa de cambios en las proporciones de ciliados, podría aportar nuevos datos.

5. Bajo condiciones experimentales más rigurosamente controladas, se investigaría la adaptación de la población ruminal de ciliados a los cambios de la dieta y, al propio tiempo, la posible existencia de un ciclo diurno, tal y como admiten PURSER y MOIR⁷², PURSER⁷³ y WARNER⁹⁰.

6. Finalmente, al análisis conjunto de los resultados de los trabajos así programados, constituiría la base para observar, con amplia perspectiva, la existencia de determinadas relaciones entre los ciliados, es decir, si ciertos grupos de estos protozoos reemplazan a otros, o bien algunos representantes aparecen constantemente asociados, como han señalado EADIE²⁸ y WARNER⁸⁹.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

A. TAXONOMIA.

1. Sistemática.

Como ya hemos mencionado, GRUBY y DELAFOND³⁸ estudiando la fisiología de la panza, observaron casualmente la presencia de protozoos. Presentaron su trabajo a la Academia de París, y describieron cuatro especies en el rumen y retículo de la vaca y otras siete en el ciego y colon del caballo. Sus descripciones eran muy deficientes, pues, simplemente compararon entre sí los protozoos hallados, sin aportar dibujos de los mismos, por lo que es muy aventurado deducir cuáles fueron las especies observadas. No obstante, fueron los primeros que señalaron la presencia de estos seres en una publicación científica.

Es interesante destacar que no se limitaron a la sola mención, sino que llamaron la atención sobre el papel fisiológico que podrían desarrollar estos seres, indicando que, al transformar las materias ve-

getales en productos animales, después de su muerte serían digeridos por el hospedador y de este modo convertirían indirectamente a los herbívoros en "carnívoros".

En apoyo de esta afirmación, señalaron que el cerdo y el perro, que se nutren de sustancias animales y vegetales, apenas si poseen protozoos intestinales. Al mismo tiempo, hicieron referencia a la importancia del aporte de albúmina animal digerible, que los protozoos del rumen y los del ciego podrían proporcionar a su hospedador.

Desde esta época se han admitido de 18 a 21 géneros según los diversos autores, pertenecientes a la familia Ophryoscolecidae, que contienen unas 200 especies, además de unas trece especies de holótricos, pertenecientes a cinco géneros.

En un principio, los ciliados fueron clasificados en los géneros *Ophryoscolex*, *Entodinium*, *Diplodinium* e *Isotricha*. COLIN¹⁶ hizo la primera contribución a este estudio con 18 dibujos de protozoos del rumen, además de una discusión sobre los procesos digestivos de los ruminantes. Aunque sólo hizo una breve descripción de estos ciliados, estudió especies que posteriormente fueron incluidas en los géneros *Diplodinium*, *Entodinium* e *Isotricha*.

Las primeras bases fundamentales para la taxonomía de los ciliados fueron sentadas por STEIN^{11 12}, que describió los géneros *Ophryoscolex*, *Entodinium* (con las especies *E. bursa*, *dentatum* y *caudatum*) e *Isotricha* (con las especies *I. intestinalis* y *prostoma*), incluyendo los dos primeros dentro de la familia Ophryoscolecidae.

La mayor contribución al estudio de los ciliados del rumen fue hecha por SCHUBERG¹⁷ que, en 1888, publicó los resultados de sus trabajos sobre los géneros *Bütschlia*, *Isotricha*, *Dasytricha* y *Entodinium*. Las especies *Bütschlia parva*, *B. neglecta* y *Dasytricha ruminantium* fueron descritas por él. Añadió varias especies al género *Entodinium*, creado por STEIN y segregó de él un nuevo género, el *Diplodinium*, en el que incluyó aquellas especies que estaban provistas de dos zonas de membranelas, una alrededor de la abertura bucal y la otra en el lado dorsal.

FIORENTINI³⁶ publicó un detallado trabajo, principalmente sobre los géneros *Entodinium* y *Diplodinium*, siendo prácticamente el primero que describió especies individuales de este último género. A él se deben las descripciones de *Diplodinium magii*, *Diplodinium bursa*, *Diplodinium dentatum*, *Diplodinium denticulatum*, *Diplodinium ecaudatum*,

Diplodinium caudatum, *Diplodinium rostratum*, *Diplodinium cattaneoi*, *Entodinium rostratum*, *Bütschlia lanceolata*.

La primera revisión de este grupo fue llevada a cabo por EBERLEIN²⁷, quien también aportó una gran cantidad de estudios originales.

SHARP⁷⁹, en su clásico trabajo sobre el aparato neuromotor de *Diplodinium ecaudatum*, presentó una tabla de ciliados de las especies descritas hasta entonces. En la familia Ophryoscolecidae tres géneros, (*Ophryoscolex*, *Diplodinium* y *Entodinium*) con un total de 18 especies y en la familia Isotrichidae, los géneros *Isotricha*, *Dasytricha* y *Bütschlia*, con un total de seis especies.

En 1923, BUISSON¹⁰ publicó una monografía sobre los ciliados del tubo digestivo de los mamíferos e introdujo un nuevo género, el *Tricaudalia*, en el rinoceronte y algunas especies del *Prototapirella* del rinoceronte y del elefante, así como en el corzo un nuevo *Entodinium*: *E. dubardi*.

Los géneros *Metadinium* AWERINZEW y METAFOWA³, 1914; *Cunhaia* HASSELMAN,¹⁰ 1918, *Ophisthotricum* BUISSON,¹⁰ 1923, *Epidinium* CRAWLEY,²⁰ 1923 y *Caloscolex* DOGIEL²³ 1926, fueron descritos posteriormente. Todos éstos, con la excepción del género *Metadinium*, fueron incluidos en la extensa monografía de DOGIEL,²⁴ sobre la familia Ophryoscolecidae, publicada en 1927.

Admite este autor siete géneros (*Entodinium*, *Ophryoscolex*, *Diplodinium*, *Ophisthotricum*, *Epidinium*, *Cunhaia* y *Caloscolex*) y 119 especies. Suprimió el género *Metadinium* AWERINZEW y METAFOWA y, además, estableció cuatro subgéneros dentro del *Diplodinium*: *Anoplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium* y *Polyplastron*, sin incluir *Diplodinium* como subgénero. El nombre *Anoplodinium*, sin embargo, no se admite, ya que la especie tipo, *D. dentatum*, que caía dentro de aquel subgénero es la específica de *Diplodinium*.

Una mayor organización de la familia Ophryoscolecidae tuvo lugar pocos años más tarde, cuando KOFOID y MACLENNAN^{40 50 51} publicaron sus estudios sobre los ciliados del *Bos indicus*. Desde entonces, la organización de esta familia ha permanecido sin cambios.

KOFOID y MACLENNAN⁵⁰ restringieron primero el género *Diplodinium* y definieron los diez siguientes géneros sobre la base de la posición y tamaño de las zonas de membranas, número y forma de las

placas esqueléticas, forma del macrónucleo, morfología de las fibrillas esofágicas y otras características estructurales internas.

Los cuatro subgéneros establecidos por DOGIEL fueron elevados a la categoría de géneros, ya que presentan importantes diferencias en su estructura nuclear y en las placas esqueléticas. El género *Metadinium*, suprimido por DOGIEL, fue reestablecido a su categoría de género.

Basándose en un estudio de las especies del *Bos indicus*, el género *Diplodinium* perdió algunas especies y se erigió un nuevo género, el *Eodinium*.

Eudiplodinium fue también restringido y se creó uno nuevo, el *Eremoplastron*. El género *Diploplastron* se estableció teniendo en cuenta su estructura general del *Eremoplastron*, combinado con las dos placas esqueléticas del *Metadinium*. Fue retenida la descripción original de DOGIEL del *Polyplastron* y las especies descritas por él más tarde⁴², se incluyeron en el nuevo género *Elytroplastron*. Finalmente, *Ostracodium* fue disminuido y se creó el género *Enoploplastron*.

KOFOID y MACLENNAN⁵¹ crearon un nuevo género *Epiplastron*, para incluir especies similares en la forma a *Epidinium*, pero con un complejo esquelético de cinco placas, en las caras ventral y derecha.

La tabla de los géneros descritos por KOFOID y MACLENNAN da como válidos un total de 17 géneros de ciliados en la familia *Ophryoscolecidae*. Cuando esta lista de géneros se compara con las de NEVEU-LEMAIRE⁶⁷ y KUDO⁵² se observa una ligera diferencia.

KUDO incluye los 17 géneros arriba mencionados, pero NEVEU-LEMAIRE elimina dos, *Ophisthotrichum* y *Epiplastron*. Sin embargo, ambos autores incluyeron el género *Amphacanthus* DOGIEL, 1926, no mencionado por KOFOID y MACLENNAN. O sea, que para la familia *Ophryoscolecidae*, KOFOID y MACLENNAN admiten 17 géneros, mientras NEVEU-LEMAIRE 16 y KUDO 18. Hay que tener en cuenta que, NEVEU-LEMAIRE, dentro de la familia *Ophryoscolecidae*, admite dos subfamilias, *Ophryoscolecinae*, con los 16 géneros anteriormente citados y la *Polydiniinae*, con los géneros *Polydinium* y *Elephantophilus*, creados por KOFOID en 1935.

CORLISS¹⁸ admite 21 géneros. Los tres nuevos son, *Elephantophilus* KOFOID, admitido por NEVEU-LEMAIRE en la subfamilia *Ophryoscolecinae*; *Polydiniella* CORLISS, nueva designación para *Polydinium*;

y *Thoracodinium* LATTEUR, aunque en un comentario aparte admite que, posiblemente estos tres géneros pertenezcan a la familia *Cycloposthiidae*, o a una nueva.

Según CORLISS los 21 géneros serían: *Amphacanthus* DOGIEL; *Caloscolex* DOGIEL; *Cunhaia* HASSELMANN; *Diplodinium* SCHUBERG (sin. *Anoplodinium* p. p.); *Diploplastron* KOFOID y MACLENNAN; *Elephantophilus* KOFOID y MACLENNAN; *Entodinium* STEIN; *Eodinium* KOFOID y MACLENNAN, (sin. *Anoplodinium* p. p.); *Epidinium* CRAWLEY; *Epiplastron* KOFOID y MACLENNAN; *Eremoplastron* KOFOID y MACLENNAN; *Eudiplodinium* DOGIEL; *Metadinium* AWERINZEW y MUTAFOWA; *Ophryoscolex* STEIN; *Opisthotrichum* BUISSON; *Ostracodinium* DOGIEL; *Polydiniella* CORLISS (por *Polydinium*); *Polyplastron* DOGIEL; *Thoracodinium* LATTEUR.

HONIBERG y col.⁴³ dan la clasificación más actual, prácticamente igual a la de CORLISS.

Un resumen aparece en la tabla siguiente:

AUTOR	CLASE	SUBCLASE	ORDEN	SUBORDEN	FAMILIA
NEVEU-LEMAIRE (1943)	Ciliata	Euciliata	Holotrichia	Stomatida	Bütschiidae
KUDO (1954)	Ciliata	Euciliata	Oligotrichia	Gymnostomata	{ Isotrichidae
LEVINE (1961)	Ciliasida	{ Holotrichasina	Holotrichia	{ Trichostomatida	Parisotrichidae
CORLISS (1961)	Ciliata	{ Spirotrichasina	Spirotrichia	{ Gymnostomatida	Ophryoscolecidae
HONIBERG y col. (1964)	Ciliata	{ Holotrichia	{ Trichostomatida	Rhabdophorina	Bütschiidae
		{ Spirotrichia	{ Entodiniomorphida		{ Isotrichidae
			{ Gymnostomatida		{ Parisotrichidae
					{ Blepharocorythidae
					{ Ophryoscolecidae
					Bütschiidae

2.—Bases morfológicas para la diferenciación de géneros y especies.

Los criterios morfológicos para la clasificación de los holótricos son claros y estables, por lo que hay poca confusión en su identificación.

En cambio existe mucha confusión en la taxonomía de los ciliados de la subclase *Spirotrichia*, orden *Entodiniomorphida*, que exhiben gran variedad de tamaños, formas y órganos, lo que hace que sean morfológicamente los ciliados más complejos.

El uso de las espinas es una característica importante para distinguir las especies. Este carácter fue seguido primeramente por STEIN y después por numerosos investigadores, incluyendo a KOFOID y su escuela.

Para la clasificación del género *Entodinium*, KOFOID y MACLENNAN utilizaron como criterio el tamaño total, forma y tamaño del macrónucleo y forma y localización de las espinas.

Pero esta primacía en el estudio de las espinas, es parcialmente responsable de la gran confusión que existe. Numerosos investigadores han demostrado la naturaleza variable de estos apéndices, en poblaciones formadas a partir de clones.

POLJANSKY y STRELKOW¹¹ estudiaron la variabilidad de *Entodinium caudatum* ante influencias del régimen alimentario, la selección y los diferentes hospedadores. Incluso parece ser más difícil establecer una dependencia de los cambios con los factores exteriores. Así y todo, admitieron que las conclusiones de orden sistemático basadas en la longitud del macrónucleo, deben ser hechas con muchas reservas, teniendo en cuenta la gran variabilidad de este carácter. Observando la variabilidad de *Entodinium caudatum* que, a veces, pierde sus apéndices caudales, asemejándose entonces a *Entodinium simplex*, se hicieron la pregunta: ¿*Entodinium simplex* existe como especie autónoma, o no es nada más que una forma de un estadio de *Entodinium caudatum*? Observaron también variabilidad en *Entodinium vorax*, *Eudiplodinium neglectum* y *Eudiplodinium magii*.

Cultivando clones de *Diplodinium denticulatum* y *Entodinium caudatum*¹⁶, se ha encontrado una gran variación en la morfología de los individuos.

También se ha observado en *Ophryoscolex purkinjei*.

LUBINSKY⁵⁵ reexaminó el problema de la espinación de las especies de *Entodinium* y usó como características más estables para la clasificación, la posición de la vacuola contráctil, la forma y desarrollo de la cisura lateral izquierda, no admitiendo las especies *Entodinium dubardi*, *Entodinium caudatum* y *Entodinium loboso-spinosum*, sino creando una nueva clasificación según los caracteres vistos anteriormente.

- | | |
|--|---|
| 1. Vacuola adyacente al macrónucleo | 2 |
| Vacuola en la línea media del lado izquierdo del cuerpo, a nivel del esófago, ventralmente a la cisura lateral izquierda. | 3 |
| 2. 1 espina y 2 lóbulos caudales: <i>E. caudatum f. caudatum</i> .
1 espina y 1 lóbulo caudal: <i>E. caudatum f. loboso-spinosum</i> .
Sin espinas y más o menos sin lóbulos: <i>E. caudatum f. dubardi</i> . | |
| 3. Cisura lateral izquierda estrecha, larga, como una forma de raja, en la mitad anterior | 4 |
| Cisura lateral izquierda ancha, bastante marcada | 5 |
| 4. 1 espina y 2 lóbulos caudales: <i>E. simulans f. caudatum</i> .
1 espina y 1 lóbulo caudal: <i>E. simulans f. loboso-spinosum</i> .
Sin espina y más o menos sin lóbulos: <i>E. simulans f. dubardi</i> . | |
| 5. 1 espina y 2 lóbulos caudales: <i>E. rectangulatum f. caudatum</i> .
1 espina y 1 lóbulo caudal: <i>E. rectangulatum f. loboso-spinosum</i> .
Sin espinas y más o menos sin lóbulos, <i>E. rectangulatum f. dubardi</i> . | |
| 3. Evolución de los ciliados, en relación con la taxonomía. | |

En su estudio de los ofrioscolécidos LUBINSKY (op. cit.) admite dos grupos: los ofrioscolécidos inferiores, incluidos en el género *Entodinium* y los ofrioscolécidos superiores, que comprenden todos los demás géneros de esta familia. Considera que, seguramente, los ofrioscolécidos superiores proceden de antepasados similares de especies existentes en *Entodinium*. Compara la estructura del *Diplodinium* con el grupo "lateral-caudatum" de *Entodinium* y llega a la conclusión de que *Diplodinium* se originó de *Entodinium*, como resultado de un desplazamiento,

de tipo torsional, del aparato nuclear, la cisura lateral izquierda y la vacuola contráctil, desde el lado dorsal al ventral. El lado ventral de *Entodinium* fue transformado en el "dorsal" del *Diplodinium*.

Las siguientes etapas evolutivas pueden ser trazadas en el estudio de especies de ofrioscolécidos, existiendo especies similares a las formas anteriores.

- 1) Especies primitivas de *Entodinium* con un cuerpo alargado sin espina caudal ni cisura lateral. *E. elongatum*, *E. nanellum* y otros.
- 2) Formas originales con espina caudal del tipo, *E. caudatum*, poseyendo una cisura lateral izquierda ancha y comparativamente corta. *E. caudatum*.
- 3) Aumento de la longitud de la cisura lateral izquierda y desplazamiento ventral de la vacuola contráctil. *E. laterale* y *E. rectangulatum*.
- 4) La cisura lateral izquierda llega a transformarse en un surco estrecho, extendiéndose desde la margen anterior del labio dorsal externo y separando la vacuola contráctil del aparato nuclear. *E. simulans*.
- 5) Se produce un desplazamiento ventral más acusado, del aparato nuclear, del surco lateral y de la vacuola contráctil. La acción producida por el extremo anterior del surco lateral izquierdo, al moverse ventralmente, sobre el labio adoral externo, separa la fila de membranelas ventrales ("zona dorsal") de la zona adoral y se transforma en opérculo. El esófago sigue la dirección del macrónucleo. Aparece la segunda vacuola contráctil. Ahora bien, este "eslabón" de la cadena falta aún por descubrir.
- 6) Siguiendo el desplazamiento ventral, las vacuolas contráctiles se colocan en el lado ventral del cuerpo. Como la velocidad angular de rotación del macrónucleo es más baja cerca del extremo oral, el macrónucleo se inclina (forma de humerang). El surco lateral izquierdo aún persiste. *Diplodinium*.
- 7) Continúa el desplazamiento ventral del aparato nuclear. Aparece una placa esquelética siguiendo al macrónucleo. *Eudiplodinium* y *Eremoplastron*.
- 8) Desaparece el surco lateral izquierdo y el macrónucleo se coloca entre las vacuolas contráctiles. Aparece un desarrollo más amplio de las placas esqueléticas. *Metadinium* y otros géneros de los ofrioscolécidos superiores.

DOCIEL²⁶ analizando la especificidad de hospedador de los diferentes géneros y especies de *Ophryoscolecidae* llega a la conclusión de que los representantes de los géneros *Entodinium* y *Anoplodinium* se originaron probablemente en el Eoceno. Los de *Epidinium* y *Eudiplodinium* en el Oligoceno. Las *Ostracodinium* spp. en el Mioceno. Y las especies de *Caloscolex*, *Opisthotrichum*, *Ophryoscolex* y *Polyplastron* en el Plioceno.

Las relaciones entre los diferentes géneros de la familia *Ophryoscolecidae* y su posición en el esquema de la familia puede ser determinado por los siguientes caracteres⁵⁵:

- 1) El grado de desplazamiento torsional, apreciable por el desplazamiento ventral del aparato nuclear y de las vacuolas.
- 2) La distancia entre la zona de membranelas oral y ventral ("dorsal").
- 3) El desarrollo de las placas esqueléticas.
- 4) El grado de polimerización de los órganos.
- 5) El tamaño del cuerpo.

4. Terminología.

Dentro de la familia *Ophryoscolecidae* también ha sido causa de confusión el hecho de que diferentes autores no han utilizado el mismo nombre para los diversos lados del cuerpo.

Independientemente de la diversa terminología usada, cada uno de los cuatro lados ha sido denominado, izquierdo, derecho, dorsal y ventral.

LUBINSKY⁵⁶ introdujo un nuevo sistema, que tiene la ventaja de eliminar el concepto de dorsalidad y ventralidad, que actualmente ya no tiene aplicación en este grupo.

El nuevo sistema consiste en observar el protozoario orientado con su extremo anterior (oral) hacia arriba (las doce del reloj) y con el micronúcleo hacia la izquierda del macronúcleo (hacia las nueve). Los lados serán entonces designados, izquierdo (el observado a la izquierda, por ejemplo, el lado micronuclear), derecho, superior e inferior.

Si esta terminología es aceptada, el término zona dorsal de las membranelas, usado al describir los ophryoscolecos, no es el más apropiado. LUBINSKY utiliza en vez de éste, el de "zona metoral de membranelas".

B. RELACIONES CILIADO/HOSPEDADOR.

1. Propagación.

Primeramente¹¹, se aseguró que la transmisión de los ciliados se hacía por quistes.

BECKER y HSIUNG⁵, llegaron a la conclusión de que la fuente de infección estomacal de los rumiantes con infusorios, no radica en la paja, hierba, agua, granos, heces o contenido estomacal seco de animales infectados. Vieron que no existen ni quistes, ni formas de resistencia, o que son extremadamente raras, y que sólo se forman bajo condiciones excepcionales. Que la infección de unos animales a otros es por contaminación bucal, o con alimentos contaminados con saliva, antes de que ésta se seque.

2. Papel de los ciliados.

En cuanto al papel de los ciliados de la panza se han formulado muchas opiniones. ZÜRN (1887) (citado por CHAVARRIA,¹⁴) aseguró que los infusorios producen lesiones, que pueden llegar a crear estados patológicos.

FANTHAM,¹⁴ en 1921 emitió la opinión de que la consistencia de las heces fecales en el caballo está en relación con el número de protozoos. Cuando no existen, o son escasos, las heces según él, son duras y cuando alcanzan el máximo desarrollo se vuelven diarreicas. Sus observaciones no justificaban tampoco la atribución de los cólicos de los équidos a la presencia de los protozoarios, como él aseguraba.

Se creyó primero¹¹ que intervenían en la mezcla y maceración del contenido cecal (en el caballo) y en la transformación de las materias alimenticias en sustancias fácilmente digeribles. Luego se consideraron simples comensales.

En 1929,³⁰ se llegó a la conclusión de que debía aceptarse la utilidad de los protozoarios para sus hospedadores, creyéndose que los que viven en el rumen tienen una importancia fisiológica grande y son necesarios en la alimentación de sus hospedadores.

La actividad que ejercen frente a los diversos componentes de la dieta, ha sido investigada desde hace algunos años, con creciente interés.

En 1929,⁶ después de estudiar la digestión de los carbohidratos, se ha dado opinión favorable a la acción útil de los ciliados en este

proceso, aunque haciendo notar, que su conclusión era contraria a la de varios protozoólogos y fisiólogos. En el mismo año, se vio que los infusorios se presentan en animales aparentemente sanos y hasta parece que indican un buen estado de salud. Esto se debe, según algunos, a que los animales enfermos comen poco o nada, y bajo estas condiciones, el número de ciliados decrece rápidamente.

Estudiando suspensiones de *Isotricha prostoma*, *I. intestinalis*, y *Dasytricha ruminantium*,⁴¹ se comprobó que atacan a los carbohidratos solubles: glucosa, fructuosa, sacarosa, rafinosa, inulina, levanos del vallico (*Lolium spp.*) y en menor grado a la celobiosa, no atacando a ningún otro carbohidrato soluble.

En una tabla publicada por OXFORD⁶³ se señala que las *Isotricha* y *Dasytricha* spp. principalmente ingieren azúcares solubles, existiendo sobre todo en dietas a base de paja y raíces. Sólo los más pequeños ciliados (*Dasytricha*) atacan la celobiosa y los beta-glucósidos.

Experimentos manométricos con *Entodinium* spp. demuestran que la glucosa no es utilizada por los entodiniomorfos.¹ Este punto es una de las mayores diferencias en las propiedades bioquímicas entre los entodiniomorfos y los holóticos, es decir, la rápida utilización de los carbohidratos solubles por el último grupo, mientras que no lo es por el primero.

Con suspensiones de *Dasytricha ruminantium*, pero no con isóticos, se ha visto⁴⁵ que era posible fermentar galactosa, maltosa y celobiosa.

En medios de cultivo químicos⁷⁴, se ha comprobado que los ciliados ruminiales entodiniomorfos requieren carbohidratos insolubles para la multiplicación. Los holóticos requieren carbohidratos solubles, pero en bajas concentraciones.

Se ha observado⁶⁰ que muchas especies de ciliados entodiniomorfos, pueden ingerir gránulos de almidón vegetal de bastante gran tamaño, sobre todo, las especies de *Entodinium*. Estas tienen un verdadero saco gástrico, en el cual los gránulos de almidón ingeridos residen hasta su digestión.

Fueron SUGDEN y OXFORD,⁵⁴ quienes observaron que, cuando se añadían gránulos ricos en almidón, a una suspensión de varias especies de holóticos, sólo los isóticos ingerían los gránulos y podían supervivir mientras que *Dasytricha ruminantium* moría.

Ophryoscolex caudatus, generalmente no ingiere celulosa como hacen las *Diplodinium* spp., pero fagocita gránulos de almidón.⁴⁷

Algunas *Entodinium* spp. utilizan el almidón, encontrándose en mayor cantidad en raciones ricas en este carbohidrato (maíz en escamas y concentrados). *Isotricha* también puede digerir gránulos vegetales de almidón si éstos son suficientemente pequeños.⁶⁹

Se ha observado también⁴⁴ que los isóticos utilizan rápidamente los gránulos ricos en almidón, mientras que *Dasytricha ruminantium* sólo utiliza escasamente los gránulos amiláceos.

Se ha observado⁴⁵ que sólo los isóticos pudieron fermentar gránulos ricos en almidón. Dentro de los holóticos, ningún otro género utilizó los gránulos de almidón.

Mediante suspensiones de *Entodinium caudatum*, no conteniendo ningún otro protozoo y casi libres de bacterias, al realizar estudios de metabolismo de carbohidratos,² se comprobó que estos organismos satisfacen sus necesidades en carbohidratos, solo por ingestión y digestión de gránulos ricos en almidón y se observó también, que las partículas de caseína podían servir como alimento para este entodinio.

Se ha demostrado⁹² que *Ophryoscolex caudatus* fermenta el almidón con producción de ácido acético, butírico y láctico, CO₂ y H₂.

Se afirmó⁷⁷ que los ciliados son de importancia en la digestión de la celulosa, porque se observó a varios individuos de los géneros *Entodinium* y *Diplodinium* ingiriendo partículas vegetales tan grandes, que hasta deformaban sus cuerpos.

EBERLEIN²⁷ no sólo observó la ingestión de fibras vegetales, sino también su digestión y, desde luego, supuso que tenían una acción sobre la celulosa.

LIEBETANZ (1910), (cit. por CHAVARRIA,¹⁴) después de varios experimentos aseguró que tienen acción sobre la celulosa y, por tanto, son útiles al hospedador.

En 1924, CLEVELAND¹⁵ demostró evidentemente que existe relación entre la fauna de protozoarios intestinales de las termitas y la digestión de la celulosa. Poco después, refiriéndose a sus investigaciones, afirmaba que los protozoarios intestinales pueden ingerir celulosa y digerirla y, por tanto, es posible que infusorios tales como *Bütschlia*, *Isotricha*, *Dasytricha* y *Ophryoscolex* huéspedes de los rumiantes y en par-

ticular de los bovinos, ovinos y caprinos, puedan ayudar a sus hospedadores a digerir celulosa y hemicelulosa.

TRIER⁵⁵ opinaba que infusorios y bacterias pueden vivir en simbiosis e influir en la digestión de la celulosa.

Se observó⁴⁶ que *Entodinium caudatum* ingiere muy poca celulosa y no produce enzimas celulolíticas. Que varias especies de *Diplodinium*, (*D. magii*, *D. multivesiculatum*, *D. denticulatum*) ingieren grandes cantidades de celulosa, mientras que especies de los géneros, *Entodinium*, *Dasytricha*, *Isotricha* y *Bütschlia* no utilizan casi ninguna cantidad de celulosa.

Se vio⁵³ que existían otros ciliados que podían digerir la celulosa incluyendo varios géneros de entodiniomorfos, principalmente *Metadinium medium*, que tiene un gran núcleo y también placas esqueléticas, donde se deposita el material. Tienen el poder de ingerir trozos de celulosa pura con gran rapidez y después digerirla lentamente y acumular amilopectina (o quizás glucógeno) en las placas esqueléticas, o en su periferia.

WILLIAMS y col. (op, cit.), trabajando con *Ophryoscolex caudatus*, vieron que la celulosa no era significativamente metabolizada, aunque era rápidamente atacada la peptina.

LAULANIE⁵³ afirmaba que la tripsina segregada por los infusorios, peptoniza los albuminoides en el rumen.

Según SCHWARZ¹⁸ los protozoarios convierten amidas y otras sustancias nitrogenadas difíciles de digerir, en protoplasma animal fácilmente digerible. Encontró el 20 por 100 del nitrógeno del contenido del rumen en el cuerpo de los protozoos y el 11,7 por 100 en las bacterias, llegando a la conclusión de que los infusorios tienen mucha, o acaso preponderante acción, en la alimentación.

MANGOLD y SMITH KRAHMER⁶¹ basándose en los experimentos de SCHWARZ (op. cit.), esperaban encontrar diferentes cantidades de nitrógeno en el contenido ruminal de ovinos con fauna de infusorios y sin ella, pero no hallaron tales diferencias.

FERBER²⁹ creyó, por los resultados de sus experimentos, que los ciliados podían tener algún papel fisiológico en la transformación de proteína vegetal en su propio protoplasma, que sería muy fácilmente

asimilable, pero afirmó que no transforman las amidas, como había dicho SCHWARZ.

En 1930, BECKER y col.⁷ experimentaron con animales en las condiciones más semejantes posibles, afirmando que los infusorios de la panza de los rumiantes no tienen verdadero valor para convertir proteína vegetal en protoplasma animal más fácilmente digestible; que es dudoso que puedan transformar amidas o derivados proteicos en la proteína de sus propios cuerpos; que no tienen ningún valor apreciable para su hospedador en la digestión de carbohidratos; que no hay simbiosis demostrable entre infusorios y bacterias que ingieren celulosa del rumen. Puesto que no hay razones para considerar a estos infusorios como una endofauna útil, o como verdaderos parásitos, deberían considerarse como comensales.

SCHLOTTKE⁷⁶ sugirió que los entodiniomorfos poseían una proteinasa.

Metadinium, *Diplodinium* spp. ingieren principalmente celulosa y se encuentran en mayor proporción en dietas ricas en fibra y proteína soluble (hierba).⁶⁹

También se encontró⁸ que, cuando se añadían partículas de caseína al líquido ruminal de ovejas incubado "in vitro", los protozoos entodiniomorfos podían ingerir y digerir estas partículas, siendo uno de los más numerosos *Entodinium caudatum*.

En el *Ophryoscolex caudatus* se vió⁹² que los depósitos de proteína, semillas de algodón, aceites de harina de linaza y de soja y los aminoácidos DL-alanina, DL-valina y DL-leucina, eran también utilizados por este protozoo.

Los entodiniomorfos y los holóticos utilizan aminoácidos como principales fuentes de nitrógeno, cuando se adicionan en concentraciones micromolares.⁷⁻⁴

Se afirmó³⁹ que los protozoos del rumen pueden ser asignados a tres diferentes grupos: uno integrado por los protozoos más grandes del grupo *Diplodinium*, que ingieren cantidades elevadas de material vegetal fibroso; un segundo grupo de protozoos más pequeños, del género *Entodinium*, con activa digestión del almidón, pero que raramente contienen celulosa; y un tercer grupo, los holóticos, los cuales raramente contienen material vegetal.

3. Variaciones cuanti y cualitativas en las poblaciones de ciliados.

FERBER²⁹ encontró que el número "normal" de infusorios (1.000 por mm³), aumentaba al doble durante las últimas semanas de gestación y el período de lactación, correspondiendo este incremento al activo metabolismo de las albúminas. Análogo aumento encontró en individuos en crecimiento, interpretándolo de la misma forma.

Realizando experimentos con cabras,⁶⁶ se ha observado que la cantidad y clase de alimentos consumidos son de gran importancia en la regulación de los infusorios del rumen. Con una dieta única de paja, el número es comparativamente más bajo. La población aumenta por la adición de pequeñas cantidades de grano a la ración. Aumentando la cantidad de grano existe un correlativo aumento de ciliados. Contrariamente a otras experiencias,²⁹ se observó que el uso de almidón de maíz como alimento suplementario de la paja, determinaba un aumento de más del doble del número de infusorios, que con una dieta de paja sola. La adición de pequeñas cantidades de proteína animal, como suero sanguíneo seco y almidón a la paja de la dieta, estimula enormemente la reproducción de los protozoos.

USUELLI⁸⁷ afirmó que el número de infusorios del rumen, en condiciones normales de alimentación del hospedador, es relativamente constante. El ayuno hace disminuir rápidamente el número de los infusorios, desapareciendo primero los representantes de los géneros *Isotricha* y *Bütschlia*, después las especies de *Ophryoscolex* y por último las *Entodinium* y *Diplodinium* spp. La alimentación exclusiva con heno tiene de a disminuir el número de ciliados, mientras que la adición de una cantidad de cereales la hace aumentar, y que las condiciones óptimas para el desarrollo de los ciliados, es una alimentación mixta suficientemente rica en sustancias proteicas.

VAN DER WATH y MYBURGH⁸⁸ encontraron en concentraciones de protozoos, una variación estacional, que creyeron debida al nivel de proteína en el pasto.

MOIR⁶³ obtuvo fluctuaciones estacionales similares a las de VAN DER WATH y MYBURGH, pero notó que la concentración de protozoos no coincide con el nivel de proteína en el pasto. Seguidamente observó que entre los géneros *Isotricha* y *Dasytricha* existían diferencias bioquímicas.

SPISNI⁸⁰ estudiando una cabra en gestación y una oveja no gestante, alimentadas durante varias semanas con una dieta a base exclu-

sivamente de hoja de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) y dos ovejas no gestantes, alimentadas con hoja de coliflor y heno en cantidad y calidad constantes, observó que presentaban variaciones del número y de las dimensiones de los infusorios presentes en el contenido del rumen obtenido por la mañana y en ayunas. Los infusorios del género *Diplodinium* (ingestores de celulosa), no experimentaron una notable disminución respecto al período anterior de la prueba. Se vieron formas más gruesas y pequeñas de infusorios en los animales grávidos que en los no grávidos. Estos resultados le hicieron pensar que no sólo factores alimentarios, sino que otros factores (¿factores endógenos?) pueden influenciar de varios modos sobre los infusorios del rumen.

Se ha encontrado⁶⁴ que la concentración de protozoos del rumen es afectada significativamente por la alimentación del animal.

También se ha visto que el régimen alimenticio influencia el número de bacterias, protozoos y determina fluctuaciones diurnas del número de ellos.⁶⁵

BOYNE, EADIE y RAITT⁹ en una oveja con dieta constante, vieron que las diferencias de día a día en la población ciliada del rumen, eran más grandes que las diferencias encontradas de unos lugares del rumen a otros, o mayores que las diferencias debidas a la técnica.

OXFORD⁷⁰ encontró en dos vacas alimentadas exclusivamente con trébol, que en primavera y otoño, y menos durante el verano, existía en gran proporción el entodiniomorfo *Epidinium ecaudatum*.

Se encontró⁷² principalmente para *Entodinium*, un ciclo diurno en que la concentración de protozoos decrecía agudamente en la primera hora después de la alimentación y excepto una ligera recuperación a las dos horas continuaba bajando hasta 6-8 horas después de la comida. En algunos instantes la concentración bajaba hasta representar un tercio de la existente inmediatamente después de comer. Ocho horas después de la comida, la concentración comenzaba a incrementarse gradualmente, hasta el nivel prealimentario. La correlación de la media de la concentración de protozoos, con la media de los valores pH, 2 y 4 horas después de la alimentación era altamente significativa. Esto sugiere que a niveles más bajos de pH, existe una marcada inhibición de la población media protozoaria.

Se ha comprobado⁷³ la existencia de un ciclo diurno para los holóticos, diferente sustancialmente del exhibido por *Entodinium*.

Mientras que la concentración de holótricos disminuye gradualmente hasta veinte horas después de la alimentación original, el estudiado para *Entodinium* comienza ocho horas después de la alimentación. Parece ser que es debido a que el ciclo de *Entodinium* es controlado principalmente por los factores de dilución físicos, tales como los debidos a la alimentación y a la salivación, mientras que esto no ocurre en el caso de los holótricos.

El almidón aumenta la población sobre todo de *Diplodinium* y *Ophryoscolex*.³⁷

El incremento en el número de ciertas clases de protozoos del rumen, coincide con ciertas raciones, como ya se ha visto. Se observó que *Ophryoscolex purkinjei* es más común en animales cuyas raciones tienen grandes cantidades de almidón crudo.⁵⁹

WARNER⁶⁰ en una oveja que recibía alimento una sola vez al día, apreció que la concentración de microorganismos en el rumen cambiaba según el tiempo transcurrido después de la comida. Estos cambios de la concentración se reflejaban en cambios en la proporción de ciliados en división. Por ejemplo, en *Dasytricha ruminantium* esta proporción variaba desde un 0,2 por ciento como mínimo, hasta un 23 por ciento como máximo, unas pocas horas antes de la comida. Para *Entodinium* spp. las variaciones eran menores, calculándose el mínimo de división para cinco horas después de la comida. También comprobó que entre animales con una misma ración y un mismo régimen, existían marcadas diferencias en sus poblaciones de ciliados.

Tal como está el problema y siguiendo a LEVINE,⁵⁴ se pueden resumir así todas estas experiencias: los holótricos absorben carbohidratos solubles del medio y los convierten en amilopectina, siendo capaces de utilizar glucosa, fructosa, sacarosa, cellobiosa, inulina y levanos. *Isotricha intestinalis* e *Isotricha prostoma* ingieren rápidamente pequeños gránulos de almidón y los pueden metabolizar. *Dasytricha ruminantium* no ingiere almidón.

Muchas, pero no todas las especies de *Entodinium*, ingieren y digieren almidón. *Entodinium longinucleatum*, *E. acutonucleatum*, ingieren selectivamente granos de pólen. Ciertas especies de *Entodinium*, son predominantemente ingestoras de almidón, siendo los protozoos dominantes en los animales con alimentación completa. Entre los conocidos

como ingestores de almidón figuran *E. caudatum*, *E. longinucleatum*, *E. minimun* y *E. dubardi*.

Las *Epidinium* spp., como las *Entodinium* spp., ingieren almidón.

Las *Diplodinium* spp., y las pertenecientes a varios géneros de este grupo (*Eudiplodinium*, *Polyplastron*, *Eremoplastron*, *Metadinium*) ingieren y digieren celulosa y almidón.

El modo de nutrición de las *Ophryoscolex* spp., no está todavía determinado, aunque se sabe que ingieren gránulos de almidón y algunas veces, fibras de celulosa.

Como resumen, podemos decir:

- 1) No son nocivos.
- 2) No son simples comensales.
- 3) Utilizan una serie de alimentos que van desde la celulosa hasta las proteínas.
- 4) Se ha visto que existe una serie de variaciones cuantitativas atendiendo a la hora, a la época, a la alimentación, etc. Pero no han sido casi estudiadas las variaciones cualitativas, sobre todo a nivel de especies, aunque se hayan señalado tendencias a nivel genérico.

III. MATERIALES Y METODOS

A. Recogida del material.

El material fue tomado diferentemente, atendiendo a las dos partes del presente trabajo.

Por un lado, (prueba I), se recogió de animales sacrificados en el matadero de León, procedentes de diversos pueblos de la provincia: Villamañán, Hospital de Orbigo, Santibáñez, Benavente, Magdalena, Valencia de Don Juan, Toral de los Guzmanes, Castilfalé, Gradeles, Mansilla de las Mulas, Crémenes, Cistierna, Santa María del Páramo, Veguellina de Fondo, Veguellina de Orbigo y León.

La muestra del rumen se obtuvo practicando una incisión en la pared del órgano; antes de abrir la panza su contenido se uniformizaba lo más completamente posible. Se filtraba por un colador con malla inoxidable (1 × 1 mm.), pues los de cobre, hierro, pueden liberar productos tóxicos para los ciliados.

El líquido obtenido se introdujo en tubos conteniendo formalina al 15 por ciento, mezclando a partes iguales el líquido ruminal y la solución de formalina. A la vez, en otros frascos, se recogía líquido ruminal sin mezclarlo con formalina, para realizar la determinación del pH mediante pH-metro de Beckmann.

De esta forma los ciliados eran fijados y muertos por el formol, pudiendo así ser conservados para su posterior estudio. Se han mantenido muestras hasta cuatro meses, sin que los ciliados sufrieran ningún proceso de degeneración o se dificultase su diagnosis.

La otra parte de este trabajo, (prueba II), se realizó con ovejas procedentes de la Cátedra de Zootecnia 1.^o de la Facultad de Veterinaria de León, mantenidas con una ración especial, que se detallará más adelante. A estas ovejas se les extraía líquido ruminal, mediante una sonda de goma, de 9,5 mm. Ø y un grosor de pared de 4 mm., acoplada a una trompa de vacío. Las demás técnicas eran comunes para ambos estudios..

B. *Métodos de fijación y tinción.*

1. *Crítica de los diversos métodos recomendados:*

Los fijadores de Schaudinn y Bouin, ácido acético corrosivo y otros, dieron peores resultados que la formalina al 15 por ciento.

Antes de llegar a los métodos que nosotros utilizamos y que consideramos los mejores, realizamos el estudio de una serie de técnicas, que fuimos abandonando como consecuencia de los inconvenientes que presentan o porque existían otras mejores.

Entre las técnicas utilizadas figuran las siguientes:

Método de plata húmedo (modificado por Gelei y Horváth, 1931).⁵² Lo abandonamos como consecuencia de que el cálculo del tiempo de exposición al sol que era necesario para que el nitrato de plata actuara perfectamente era muy difícil, necesitando además una atención completa. Además quedaban las preparaciones muy oscuras, por no realizarse una perfecta tinción.

El método de CHATTON,¹³ tenía prácticamente los mismos inconvenientes que el anterior.

Siguiendo a BUSH y KOFOID,¹² se tiñó algún material con carmín de Best, para observar las placas, pero la tinción era muy débil y muy difícil de obtener perfectamente.

El método de FERNANDEZ-GALIANO,³² con solución argéntica amonícal de Bielschowsky piridinada, deformaba los ciliados, la tinción no era muy completa y daba resultados muy inconstantes..

La coloración de FAUST, (CRAIG y FAUST¹⁹), con alumbre férrico y hematoxilina, proporcionaba una preparación muy oscura, siendo los únicos protozoos que se podían observar relativamente bien los holótricos.

El método de Fontana,⁵² a base de nitrato de plata, tenía todos los inconvenientes ya explicados anteriormente.

La técnica de TURNER,³⁶ no nos interesó, pues no logramos obtener la coloración con las ventajas que indica este autor.

La tinción según MACARDLE,⁵⁸ en que se fijaba con tetraóxido de osmio al 2 por ciento y tinción con la reacción normal de Feulgen, nos dio bastantes buenos resultados, pero mucho más compleja que las utilizadas normalmente en este trabajo, aparte de que el ácido ósmico es un producto prohibitivo por su coste elevado en comparación con otros métodos.

Las técnicas de impregnación en plata,²¹ tienen todos los inconvenientes ya explicados.

La coloración con carmín de Grenacher y coloración de contraste con una mezcla de anilina-Orange G., es una técnica selectiva para la tinción de los núcleos, pues éstos quedaban bastante bien teñidos.²¹

La coloración rápida con el pancromo azul G-239 teñía bastante bien los holótricos, pero como contrapartida los pequeños ciliados lo hacían en demasía, no pudiéndose conjuntar la perfecta tinción de grandes y pequeños ciliados.⁷⁵

Entre los colorantes vitales utilizados, la solución yodurada de lugol y el carmín acético fueron los que mejores resultados dieron, mientras que el azul de metileno al 50 por ciento de etanol v/v, fue mucho peor.

2. *Métodos seguidos:*

El material recogido se estudió siguiendo dos técnicas: la de LUBINSKY⁵⁷ y la de DIPPELL,²² con pequeñas diferencias respecto a tiempos de tinción, diluciones, etc.

En la técnica de LUBINSKY primeramente se preparan *filmes gruesos* (método de WESTPHAL modificado)⁹¹:

1) Se uniformiza el contenido de los tubos donde se conservan muestras, invirtiéndolos varias veces y se coloca 1 cc. de la suspensión en un tubo de centrífuga, llenándolo con agua corriente y centrifugando la suspensión durante dos minutos a 1.000 r. p. m.

2) Se elimina el líquido sobrenadante y se vuelve a suspender el sedimento en una nueva porción de agua, centrifugando otra vez.

3) Se suspende el sedimento en suero equino, a partes iguales, por rotación para evitar la formación de burbujas.

4) Se coloca una gota de la suspensión en un porta, extendiéndola lo mejor posible, para no dejar una capa muy gruesa, ya que si no es muy fácil que se desprenda en los posteriores tiempos.

5) Se sitúa el porta durante 24-48 horas en posición horizontal en una placa de Petri cerrada, conteniendo algodón empapado en formalina sin diluir.

La tinción se realizó con hemalumbre de Mayer o con la solución yodada de Weigert.

Tinción con hemalumbre de Mayer:

1) Colocar el porta durante 15 minutos en alcohol de 75 por ciento, para fijar el coágulo.

2) Lavar la extensión en agua corriente durante 5 minutos.

3) Teñir unos 30 minutos, dependiendo del estado de maduración del colorante y del predominio de especies de la muestra, ya que los pequeños entodiniomorfos necesitan más tiempo de tinción que los grandes y éstos menos que los holótricos.

4) Azular en agua corriente durante 30 minutos.

5) Deshidratar en alcoholes de 50, 75, 85, 95 por ciento y absoluto, en este último dos pasos. Aclarar en xilol y montar en bálsamo de Canadá, Eukitt u otro producto similar.

Composición del hemalumbre ácido de Mayer, modificado por HOARE⁴²:

Se disuelve 1 g de hematoxilina en un litro de agua destilada. A esta solución se le añaden 0,2 g de yodato sódico (Na I O_3) y 50 g de alumbré potásico. Después de disueltos, la solución es filtrada y se añaden 20 ml de ácido acético glacial.

El hemalumbre de Mayer tiene la ventaja de teñir perfectamente los núcleos, pero las demás estructuras quedan débilmente teñidas.

Preparaciones semipermanentes para tinción de las placas, con yodo:

1) Colocar el porta durante quince minutos en alcohol de 75 por ciento, para fijar el coágulo.

2) Solución yodada de Weigert, 1-2 minutos.

3) Decoloración bajo observación al microscopio, en varios alcoholes, hasta llegar al punto óptimo.

4) Xilol (dos cambios), un minuto.

5) Montado en bálsamo de Canadá o Eukitt.

Solución yodada de Weigert:

Es una solución acuosa saturada de yoduro potásico, saturada con yodo.

Esta tinción es selectiva para las placas esqueléticas, pero las demás estructuras no se ven prácticamente nada.

Para detalles estructurales más delicados existe una serie de técnicas, principalmente a base de impregnación argéntica, pero que para nuestro trabajo carecían de interés.

La tinción según DIPPELL (op. cit.), por ser una coloración vital, fue la más empleada, debido a que tiñe bastante bien todas las estructuras necesarias para el diagnóstico de los ciliados y porque permite moverlos para estudiarlos en diversas posiciones.

1) Se suspende uniformemente el contenido de los tubos conteniendo las muestras, invirtiéndolos varias veces. Se echan en tubos de centrífuga, que se llenan con agua corriente, centrifugando la suspensión durante dos minutos a 1.000 r.p.m.

2) Eliminar el sobrenadante y suspender el sedimento en una nueva porción de agua, centrifugando otra vez.

3) Eliminar el sobrenadante y diluir el sedimento en agua para obtener una dilución adecuada de ciliados que se puedan observar en condiciones óptimas en el microscopio.

4) A una gota de la suspensión de protozoos se añade otra del colorante, mezclando y extendiendo con el cubre la suspensión, para evitar el amontonamiento de ciliados en ciertas zonas de la preparación, lo cual es un obstáculo para su observación.

5) Cementar toda al preparación con parafina, para evitar una rápida desecación, conservándose así las preparaciones durante varias semanas.

Colorante. (Composición):

Carmín acético	10,5 partes
Ac. acético al 45 %	4,5 "
Ac. clorhídrico N	2,0 "
Sol. verde malaquita al 1 %	1,0 "

C. PARTE EXPERIMENTAL.

1. Prueba I:

En el matadero de León, se recogieron muestras de 66 ovejas diferentes, desde el 15 de octubre de 1964, hasta el 15 de abril de 1965 (seis meses), realizándose en todas ellas el estudio del pH, diagnóstico de las diversas especies de ciliados y la fórmula porcentual.

2. Prueba II:

Con las ovejas existentes en la Facultad de Veterinaria, se hicieron 54 sondajes, realizando un estudio semejante, dividido en tres partes, según las tres diferentes raciones que utilizaron los animales y cuyos detalles se indican a continuación.

Ración A:

Durante los días 9, 10 y 11 de febrero de 1965, con las ovejas 3 y 4 se hacía un sondaje a las diez horas; con las 7 y 9 el sondaje a las once horas y con las ovejas 10 y 11, el sondaje se realizaba a las diecisiete horas.

La ración era una mezcla con la siguiente composición:

Maíz	40 %
Cebada	32 %
Harina de alfalfa deshidratada	10 %
Salvado de trigo	6 %
Harina de soja	10 %
Harina de huesos	2 %

La composición analítica correspondiente era:

Humedad	10,88
Sustancia seca	89,12
Proteína bruta	14,87
Grasa bruta	3,09
E. L. de nitrógeno	58,09
Fibra bruta	7,64
Cenizas	5,43

Se añadía paja de lentejas a discreción, cuya composición analítica era:

Humedad	6,1
Sustancia seca	93,9
Proteína bruta	6,1
Grasa bruta	2,4
Fibra bruta	32,7
E. L. de nitrógeno	43,0
Cenizas	9,7

Ración B:

Durante los días 9, 10 y 11 de febrero de 1965, con las ovejas 1 y 2 se realizaba el sondaje a las diez horas, con las ovejas 6 y 8 el sondaje era a las once horas y con las ovejas 12 y 14 el sondaje se hacía a las diecisiete horas.

La ración era granulada, a base de los siguientes productos:

Harina de maíz	25,00 %
Harina de alfalfa deshidratada	11,75 %
Gallinaza	55,00 %
Melaza de azúcar	6,25 %
Fosfato trisódico	0,80 %
Cl Na	1,00 %
Corrector vitamínico mineral	0,20 %

Su composición analítica:

Humedad	11,4
Sustancia seca	88,6
Proteína bruta	17,7
Grasa bruta	3,5
Fibra bruta	13,4
E. L. de Nitrógeno	39,9
Cenizas	14,1

El Corrector vitamínico-mineral para 100 kilos de mezcla, era:

Vitamina A	1.202.500 U.I.
Vitamina D ₃	407.000 U.I.
Sulfato magnésico	37,000 g.
Yoduro potásico	120,000 "
Carbonato de cobalto	0,260 "
Sulfato de cobre	0,300 "
Sulfato de manganeso	8,000 "
Excipiente	2,000 "
TOTAL	32.440 "
	200,000 "

Y paja de lentejas a discreción.

Ración AB:

Las ovejas de ese experimento recibían por la mañana la ración A y por la tarde la ración B, añadiendo siempre paja de lentejas a discreción.

Se realizó la recogida de muestras los días 27, 28 y 29 de enero de 1965, con las ovejas 5 y 8 cuyas horas de sondaje era las diez, con las número 11 y 10 cuyo sondaje era a las once horas y con las ovejas 12 y 9, cuya hora de sondaje era las 17.

D. VALORACION DE LOS RESULTADOS.

Se realizó el estudio diagnóstico de todas las especies, según iban apareciendo en el campo microscópico, determinando también sus dimensiones básicas (anchura y longitud), con micrómetro ocular (Kremp,

Wetzlar) y anotando al propio tiempo el porcentaje en que se encontraban en el líquido ruminal.

Para este tipo de trabajo, como la comparación entre especies muchas veces era imposible por el pequeño porcentaje de individuos hallados, se reunió la fauna ruminal en tres grupos relativamente afines: holóticos, *Entodinium* spp. y un tercer apartado para los demás géneros entodiniomorfos, pertenecientes todos a los ofrioscolécidos y que, en lo sucesivo, denominaremos Entodiniomorfos.

Los resultados obtenidos se valoraron estadísticamente, mediante el cálculo de la "t" de Student.

Las microfotografías adjuntas se hicieron en un microscopio Leitz, Ortholux, con una cámara fotomicrográfica superponible, Orthomat, empleando película Adox KB-14.

E. CLASIFICACION SEGUIDA.

Para la clasificación de las especies hemos seguido la descripción de diversos autores, que iremos viendo posteriormente.

Respecto a los holóticos, no existe prácticamente ninguna dificultad en cuanto a la admisión de las especies: *Isotricha prostoma*, *Isotricha intestinalis* y *Dasytricha ruminantium*, son perfectamente conocidas y no existe ninguna discusión sobre su validez.

Dentro del grupo de los holóticos se sitúan también, *Bütschlia parva* y *Bütschlia neglecta* Schuberg 1888, admitidos por USUELLI⁸⁷ y por NEVEU-LEMAIRE⁶⁷ en la oveja, aunque son raras, mientras que LEVINE⁵⁴ admite sólo *Bütschlia parva*, pues considera sinónima *Bütschlia neglecta* y, además, solamente la señala en el ganado vacuno.

Charon ventriculi es admitida por NEVEU-LEMAIRE⁶⁷ en la oveja, pero no es citada por otros autores en esta especie animal.

Con los Entodiniomorfos, ofrioscolécidos, existe ya una gran dificultad en la discusión de determinado número de especies, pues muchas semejantes han sido descritas por diversos autores con nombres diferentes, aparte de que aún no se ha llegado a un criterio exacto, sobre cuáles deben ser los caracteres esenciales para realizar la diferenciación al nivel específico. La discusión de este punto se realiza en la revisión bibliográfica, por lo que no vamos a insistir aquí sobre ello.

Por cuanto hemos visto en nuestros estudios, muchas especies admitidas son muy discutibles, ya que su diferenciación con otras se-

mejantes se basa sólo en escasos datos morfológicos, o de tamaño, que más bien se deben considerar como variaciones morfológicas de una misma especie, que no como base para separar especies diferentes.

Los criterios que se han seguido para la admisión y reconocimiento de las diversas especies, están basados sobre todo en los trabajos de DOCIEL²⁴, NEVEU-LEMAIRE⁶⁷, KOFOID y MACLENNAN^{49 50}, BUSH y KOFOID¹² y LEVINE⁵⁴, así como diversos trabajos particulares sobre especies determinadas.

En la familia *Ophryoscolecidae* y en la oveja, DOCIEL²⁴ admite 32 especies; NEVEU-LEMAIRE⁶⁷ 29 especies; BUSH y KOFOID¹² encontraron 59 especies, aunque muchas de ellas, en realidad, quizás se podrían considerar más como variantes morfológicas que como verdaderas especies.

IV. RESULTADOS

A. PRUEBA I.

1. *Especies diagnosticadas.*

Las especies identificadas en las ovejas estudiadas, son las que seguidamente mencionamos. Los datos morfológicos concuerdan, como se verá, con las descripciones de los diversos autores que antes mencionamos.

Para dar una idea de la presencia de su hallazgo, indicaremos este extremo, expresando el número de ejemplares observados en el total de las ovejas y el porcentaje de éstas que albergaban el ciliado en cuestión, mencionando el sexo y la edad de los animales donde se han hallado.

Isotricha prostoma Stein, 1859. (Fig. 1).

Ovoide, aplanado, rodeado de cilios, finos, largos y abundantes. Citostoma en el vértice del extremo anterior (extremidad más ancha). Citopigio terminal. Macronúcleo largo, en forma de salchicha, oblicuo longitudinalmente, más grueso en la extremidad anterior. Posee carióforos. Varias vacuolas contráctiles. En la locomoción el extremo posterior va dirigido hacia delante.

Sobre 300 ciliados medidos se han obtenido los siguientes datos:

Dimensión media: $128,75 \times 83,71$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 65,1 % de los animales.

66,6 % de las hembras.

En el 58,3 % de los machos.

58,8 % de los menores de tres años.

60,0 % de los tres a cinco años (inclusive).

73,5 % de los mayores de seis años.

Isotricha intestinalis Stein, 1859. (Fig. 2).

Rodeado de cilios, finos, largos. Citostoma en la mitad anterior del cuerpo, aproximadamente en la unión del tercio medio con el tercio anterior. Citopigio terminal. Macronúcleo alargado, en forma de salchicha, pero es muy frecuente encontrarlo corto y globuloso, irregularmente, aproximándose a la forma esférica y más posteriormente que en *I. prostoma*. Existen carióforos. Varias vacuolas contráctiles. En la locomoción, el extremo posterior va dirigido hacia adelante.

No abunda en las ovejas leonesas y su número es escaso.

Sobre 180 ciliados medidos se obtuvieron las cifras:

Dimensión media: $125,62 \times 84,41$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento.

En el 30,3 % de los animales.

8,3 % de los machos.

35,1 % de las hembras.

52,9 % de los menores de tres años.

30,0 % de los de tres a cinco años.

17,2 % de los mayores de seis años.

Dasytricha ruminantium Schuberg, 1888. (Fig. 3).

Oval aplanado, con su mayor anchura en la región media. En el citoplasma de la mitad posterior existen varias fibrillas flexuosas que, al parecer, se juntan en un punto de la superficie. Cubierto de cilios dispuestos en espirales longitudinales que pasan de una cara a otra.

Citostoma en la porción más saliente de la extremidad anterior, un poco desviado de la línea media, está abierto, al menos en todos los ejemplares del material fijado. Citopigio terminal. Macronúcleo elíptico, oval, reniforme o esférico, en la región media o en la extremidad anterior de preferencia. Sin carióforos. Una sola vacuola contráctil.

Es el holótrico más frecuente en León.

Sobre 400 ciliados medidos se obtuvieron los datos siguientes:

Dimensión media: $60,96 \times 33,57$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 72,7 % de los animales.

En el 75 % de los machos.

74 % de las hembras.

58,8 % de los menores de tres años.

75 % de los de tres a cinco años (inclusive).

79,3 % de los mayores de seis años.

Entodinium longinucleatum Dogiel, 1925. (Fig. 4).

Oval, cuerpo corto, de extremidades redondeadas, la extremidad posterior es redondeada, en algunos ejemplares junto al tubo anal y del lado ventral es un poco engrosada, de modo que parece tener una pequeña eminencia, pero que no llega a desprenderse en forma de lóbulo. La anchura máxima del cuerpo es en la región media, sobre todo en los ejemplares que tienden a la forma esférica de modo que sus caras siempre son convexas, un poco más la dorsal que la ventral. Sólo zona adoral de membranelas. Una sola vacuola contráctil, junto a la extremidad anterior del macrónucleo y a su lado izquierdo. Sin placas esqueléticas. Macrónucleo grueso, muy alargado situado inmediatamente bajo la cutícula dorsal, a la que se adapta tomando la forma, se extiende desde casi el citostoma hasta la extremidad posterior junto al tubo anal, es grueso en sus extremidades y más en la anterior. Micrónucleo oval o elíptico junto al macrónucleo y en su parte anterior.

Sobre 500 individuos se obtuvieron estas cifras:

Dimensión media: $51,09 \times 38,71$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 68,1 % de los animales.

83,3 % de los machos.

62,9 % de las hembras.

94,1 % de los menores de tres años.

60 % de los de tres a cinco años (inclusive).

58,6 % de los mayores de seis años.

Entodinium vorax Dogiel, 1925. (Fig. 5).

Cuerpo oval, grueso, macizo. Sólo zona adoral de membranelas, Extremo anterior truncado, a menudo más pequeño que el posterior. Extremo posterior redondeado desprovisto de espinas. Macrónucleo forma de salchicha, tamaño alrededor de la mitad de la longitud del cuerpo, reposando en la parte anterior del cuerpo. Micrónucleo adyacente en el lado izquierdo superior del macrónucleo. Vacuola contráctil a la derecha del extremo anterior del macrónucleo.

Especie poco frecuente en León. Sobre 100 ciliados medidos, se consiguieron los datos:

Dimensión media: $81,07 \times 59,07$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 37,8 % de los animales.

25 % de los machos.

40,7 % de las hembras.

47 % de los menores de tres años.

20 % de los de tres a cinco años (inclusive).

44,8 % de los mayores de seis años.

Entodinium nanellum Dogiel, 1921. (Fig. 6).

Ovoide, alargado, deprimido de un lado a otro, su mayor anchura es en la mitad anterior del cuerpo; la extremidad posterior adelgazada; los costados son más convexos en la parte anterior que en la posterior. La línea dorsal más convexa que la ventral. Sólo zona adoral de membranelas. Sin placas esqueléticas. Una vacuola existe delante, junto a la extremidad del macrónucleo. Macrónucleo alargado, longitudinal, de extremidades redondeadas, más grueso en su mitad anterior

y situado en la región anterior del cuerpo, midiendo más de la mitad de la longitud total. Micronúcleo elíptico, localizado junto al borde ventral izquierdo del macrónucleo, en su región media o en el tercio anterior.

Abunda en los ovinos leoneses y se encuentra en un número elevado.

Sobre 500 ciliados medidos se lograron estos datos:

Dimensión media: $27,19 \times 16,93$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 98,4 % de los animales.

100 % de los machos.

98,1 % de las hembras.

100 % de los menores de tres años.

100 % de los de tres a cinco años (inclusive).

96,5 % de los mayores de seis años.

Entodinium dubardi Buisson, 1923. (Fig. 7).

(sin. *E. simplex*. La verdadera especie *E. simplex*, vive en el reno).

Cuerpo oval u oval alargado, liso. Sólo zona adoral de membranelas. Extremidad anterior truncada. Extremidad posterior redondeada, irregularmente esférica. Macrónucleo alargado, más o menos en forma de banda, con una parte más ancha anteriormente, ocupa los dos tercios anteriores de la región dorsal. Micronúcleo elíptico adyacente al lado izquierdo superior del macrónucleo. Vacuola contráctil a la derecha del extremo anterior del macrónucleo. No hay placas esqueléticas.

Es la especie más frecuente dentro de los ovinos leoneses, ya que se encontró en todos aquellos que se estudiaron. A la vez se encuentra en gran proporción dentro de la población de ciliados.

Sobre 500 ciliados estudiados, se anotaron estos resultados:

Dimensión media: $37,29 \times 23,18$ micras.

En los diversos grupos en que normalmente hacemos el estudio, se vieron siempre, es decir, en el 100 por 100 de los casos.

Entodinium loboso-spinosum Dogiel, 1927. (Fig. 8).

Cuerpo rectangular. Vacuola contráctil en la línea media del lado izquierdo del cuerpo, a nivel del micronúcleo, ventralmente a la ancha cisura lateral izquierda. Sólo zona adoral de membranelas. Sin placas esqueléticas. Extremo anterior truncado. Extremo posterior con un lóbulo caudal y una espina puntiaguda. La espina dorsal es larga, gruesa en su base, adelgazándose gradualmente hacia su extremidad libre, que termina en punta. Su dirección es casi recta, con la punta dirigida oblicuamente hacia atrás y hacia abajo, un poco a la derecha. En algunos ejemplares se presenta con frecuencia encorvada, en forma de coma. El lóbulo ventral es grueso y corto, con base ancha. Macrónucleo alargado, grueso, en forma de banda, ocupa sólo la mitad anterior del cuerpo. Lleva un micronúcleo elíptico en la región media o un poco hacia adelante.

Se midieron 300 ciliados y se obtuvieron estos resultados:

Dimensión media: $33,83 \times 24,36$ micras.

Por grupos se observó los siguientes tantos por cientos:

En el 63,6 % de los animales.

58,3 % de los machos.

64,8 % de las hembras.

88,2 % de los menores de tres años.

20 % de los de tres a cinco años (inclusive).

79,3 % de los mayores de seis años.

Entodinium furca var. *diloba* Cunha, 1914. (Fig. 9).

Cuerpo aplano ventralmente y convexo dorsalmente. Sólo zona adoral de membranelas. Extremo anterior truncado. Extremo posterior bilobulado. Macrónucleo alargado y situado del lado dorsal. Micronúcleo adyacente, o en el lado izquierdo superior del macrónucleo. Vacuola contráctil anterior. No hay placas esqueléticas.

Es un ciliado poco frecuente en la región leonesa.

Sobre 100 ciliados medidos se obtuvieron los datos siguientes:

Dimensión media: $40,56 \times 23,69$ micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 28,7 % de los animales.

50 % de los machos.

24 % de las hembras.

64,7 % de los menores de tres años.

15 % de los de tres a cinco años (inclusive).

17,2 % de los mayores de seis años.

Entodinium caudatum Stein, 1858. (Fig. 10).

Cuerpo ovoide, liso. El lado superior está excavado, formando una cisura, que se ensancha posteriormente. Extremo anterior truncado. Sólo una zona adoral de membranelas. Extremo posterior con tres prolongaciones caudales: una dorsal larga y estrecha (espina) y dos lóbulos cortos, anchos, triangulares. Macrónucleo aproximadamente en la mitad de la longitud del cuerpo y ligeramente arqueado, más ancho anterior que posteriormente. Micrónucleo adyacente, en el lado izquierdo superior del macrónucleo. Vacuola contráctil cerca del extremo anterior del macrónucleo. No hay placas esqueléticas.

Es uno de los ciliados más frecuentes en los ovinos leoneses.

Se midieron 400 ciliados y se obtuvieron los datos:

Dimensión media: 41,50 × 28,27 micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por cientos:

En el 83,3 % de los animales.

91,6 % de los machos.

81,4 % de las hembras.

88,2 % de los menores de tres años.

100 % de los de tres a cinco años (inclusive).

68,9 % de los mayores de seis años.

Entodinium dentatum Stein, 1859.

Cuerpo más o menos rectangular. Sólo zona adoral de membranelas. Extremo anterior truncado. Extremo posterior con seis espinas dentiformes, curvadas y dispuestas: una ventral, una dorsal y cuatro laterales. Macrónucleo alargado. Micrónucleo adyacente en el lado iz-

quierdo superior del macrónucleo. Vacuola contráctil anterior. No hay placas esqueléticas.

Sólo hallamos cinco ciliados, encontrados todos en hembras y en animales menores de tres años.

La dimensión media: 88,58 × 51,75 micras.

Diplodinium anacanthum Dogiel, 1927. (Fig. 11).

(sin. *Anoplodinium denticulatum* f. *anacanthum*).

Cuerpo en forma más o menos ovoide, ancho, con un lado izquierdo convexo y el derecho cóncavo. Zona adoral y dorsal de membranelas al mismo nivel. No tiene placas esqueléticas. Dos vacuolas contractiles. Macrónucleo en el tercio anterior, formando un ángulo de 45 grados. Micrónucleo adyacente al macrónucleo. Extremo posterior redondeado. Sin espinas caudales.

Es especie rara entre nuestros ovinos. Sobre 23 ciliados medidos, obtuvimos los datos:

Dimensión media: 80,95 × 51,48 micras.

Por grupos se observó en los siguientes tantos por cientos:

En el 7,5 % de los animales.

8,3 % de los machos.

7,4 % de las hembras.

En los menores de tres años no se vio ninguno.

De los tres a los cinco años (inclusive) tampoco se observó en ninguno.

17,2 % de los mayores de seis años.

Diplodinium quinquecaudatum Schuberg, 1888. (Fig. 12).

(sin. *Anoplodinium denticulatum* f. *quinqespinosum*).

Más o menos ovoide, ancho, con el lado izquierdo convexo y el derecho cóncavo. Zona adoral y dorsal de membranelas al mismo nivel. Macrónucleo más o menos alargado junto al borde del lado derecho, con su tercio anterior inclinado ventralmente en un ángulo de 30-90 grados. Micrónucleo adyacente al macrónucleo. Dos vacuolas contractiles. Sin

placas esqueléticas. Extremo posterior truncado con cinco espinas caudales: una ventral, una dorsal, dos en el lado derecho y una en el izquierdo.

Se midieron 50 ciliados con los datos siguientes:

Dimensión media: $79,24 \times 55,06$ micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 15,1 % de los animales.

41,6 % de los machos.

11,1 % de las hembras.

29,4 % de los menores de tres años.

10 % de los de tres a cinco años (inclusive).

13,7 % de los mayores de seis años.

Diplodinium anisacanthum (Cunha, 1914) Dogiel, 1927. (Fig. 13).

(sin. *Anoploldinium denticulatum* f. *anisacanthum*; *Metadinium anisacanthum*).

Más o menos ovoide, ancho, con el lado izquierdo convexo y el derecho cóncavo. Zona adoral y dorsal de membranelas al mismo nivel. Sin placas esqueléticas. Dos vacuolas contráctiles. Macronúcleo en el tercio anterior formando un ángulo de 45 grados. Extremo posterior cónico, con seis espinas, una dorsal, una ventral y dos en cada lado.

Sólo se observaron en una oveja.

Dimensión media: $92,81 \times 66,18$ micras.

Eudiplodinium magii (Dogiel, 1927) MacLennan, 1932. (Fig. 14 y 15).

(sin. *Diplodinium magii*; *D. bursa*).

Cuerpo irregularmente triangular. Zona dorsal y adoral de membranelas. Cutícula del ectoplasma gruesa, espesa. Extremo posterior ligeramente redondo. Citopigio abierto en el lado derecho de la extremidad posterior.

Macronúcleo de forma bacilar, con su extremo anterior alargado, formando un gancho que se abre a la izquierda, dorsalmente. Dos vacuolas contráctiles con membranas densas y poros prominentes. Una simple placa esquelética, estrecha, debajo de la cara superior.

Se midieron 150 ciliados y se obtuvieron las cifras:

Dimensión media: $119,98 \times 88,08$ micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 22,7 % de los animales.

41,6 % de los machos.

18,5 % de las hembras.

41,1 % de los menores de tres años.

10 % de los de tres a cinco años (inclusive).

20,6 % de los mayores de seis años.

Eremoplastron bovis Dogiel, 1927. (Fig. 16 y 17).

(sin. *Eudiplodinium neglectum bovis*; *Anoplodinium neglectum f. bovis*; *Diplodinium clevelandi*).

Cuerpo elipsoidal comprimido lateralmente, con un lado derecho liso y un lado izquierdo más凸. Un pequeño lóbulo caudal. Zona adoral y dorsal de membranelas, al mismo nivel. Macronúcleo más o menos bacilar a menudo con su extremo anterior inclinado hacia el lado derecho. Micronúcleo situado en el medio del borde dorsal del macronúcleo. Dos vacuolas contráctiles, debajo de la línea media dorsal. Una sola lámina esquelética estrecha, debajo de la cara superior.

Dimensión media: $78,79 \times 43,46$ micras.

Estas dimensiones fueron tomadas sobre seis ciliados medidos.

Sólo lo vimos en tres animales.

Eremoplastron dilobum Dogiel 1927. (Fig. 18).

(sin. *Eudiplodinium neglectum f. dilobum*).

Cuerpo elipsoidal y comprimido lateralmente con dos lóbulos caudales a la izquierda y derecha. Zona adoral y dorsal de membranelas al mismo nivel. Macronúcleo en forma de bastoncito con el extremo anterior frecuentemente doblado hacia el lado derecho. Micronúcleo situado en el medio del borde dorsal del macronúcleo. Dos vacuolas contráctiles, debajo de la línea media dorsal. Una sola lámina esquelética estrecha debajo de la cara superior.

Dimensión media: $72,08 \times 45,15$ micras.

Estos datos fueron realizados a partir de cinco ciliados medidos.

Por grupos hemos observado los siguientes tantos por ciento:

En el 3 % de los animales.

8,3 % de los machos.

1,8 % de las hembras.

5,8 % de los menores de tres años.

5 % de los de tres a cinco años (inclusive).

Entre los mayores de seis años no se encontró en ninguno.

Diploplastron affine Dogiel y Fedorowa, 1925 (Fig. 19 y 20).

(sin. *Diplodinium affine*; *Eudiplodinium affine*).

Cuerpo oval y pequeño, más o menos elipsoidal. Zona dorsal y adoral de membranelas. Citopigio circular. Macronúcleo estrecho, bacilar. Dos vacuolas contráctiles al lado de la cara izquierda, dorsal, separados del macronúcleo. Dos placas esqueléticas debajo de la cara superior.

Sobre 200 ciliados medidos se obtuvieron los datos:

Dimensión media: $83,11 \times 63,58$ micras.

Por los grupos se observó en los siguientes tantos por ciento:

En el 37,8 por ciento de los animales.

41,6 por ciento de los machos.

37 por ciento de las hembras.

41,1 por ciento de los menores de tres años.

45 por ciento de los tres a cinco años (inclusive).

31 por ciento de los mayores de seis años.

Metadinium tauricum Dogiel y Fedorowa, 1925 (Fig. 21).

(sin. *Diplodinium medium* f. *tauricum*; *Eudiplodinium medium* f. *tauricum*).

Cuerpo robusto con cutícula y ectoplasma muy finos. Zona adoral y dorsal de membranelas. Citopigio y recto grandes. Macronúcleo

en forma de F invertida, con un lóbulo anterior y medio grande y uno posterior pequeño. Dos vacuolas contráctiles. Dos placas esqueléticas debajo de la cara superior unidas posteriormente. Fibrillas esofágicas debajo de las caras superior e izquierda.

Dimensiones: $141,60 \times 60,00$ micras.

Sólo se encontró en un animal de todos los observados, una oveja de dos años de edad.

Polyplastron multivesiculatum Dogiel, 1927. (Figs. 22 y 23).

(sin. *Diplodinium multivesiculatum*).

Oval. Zona adoral y dorsal de membranelas. Extremo posterior ligeramente redondeado. Una línea de cuatro vacuolas contráctiles cerca del macronúcleo, más dos debajo de la cara izquierda (dorsal), una debajo de la derecha (ventral) y dos debajo de la cara superior. Dos placas esqueléticas debajo de la cara superior, separadas y tres placas longitudinales y cortas con el extremo anterior unidas por barras cruzadas, debajo de la cara inferior.

Sobre 130 ciliados medidos, los tamaños fueron:

Dimensión media: $142,95 \times 104,88$ micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 28,7 % de los animales.

50 % de los machos..

24 % de las hembras.

23,5 % de los menores de 3 años.

55 % de los de 3 a 5 años (inclusive).

13,7 % de los mayores de 6 años.

Ophryoscolex buissoni Dogiel, 1925. (Fig. 24).

(sin. *O. buissoni unicinctus*; *O. buissoni unicinctus aberratio simplicispinosus*).

Ovoide. Zona adoral y dorsal de membranelas. Espina caudal larga y delgada. Un solo círculo de cinco espinas caudales secundarias (dobles generalmente). Macronúcleo alargado al lado del cuerpo. Mi-

cronúcleo en el centro del macronúcleo. Zona anterior de diez vacuolas contráctiles y una posterior de cinco. Tres placas esqueléticas a lo largo del cuerpo en el lado derecho.

Dimensión media: $113,70 \times 71,91$ micras.

Sólo se encontró en dos ovejas, (una de un año de edad y la otra de cinco años).

Ophryoscolex caudatus bicoronatus Eberlein, 1895. (Fig. 25).

Cuerpo ovoide. Zona adoral y dorsal de membranelas. Espina caudal larga y delgada. Dos círculos de espinas caudales: el círculo anterior de seis espinas y el posterior de dos o más. Espina preanal en forma acicular, muy larga sobre pasando en 5-10 micras a la espina situada en su base. La parte post-coronal del cuerpo, relativamente corta y ancha. Macrónucleo alargado, situado lateralmente. Micrónucleo en el centro del macrónucleo. Nueve vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas a lo largo del cuerpo o lado derecho.

Sobre 26 ciliados medidos obtuvimos:

Dimensión media: $132,83 \times 81,45$ micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 15,1 % de los animales.

No se vio en ningún macho.

16,6 % de las hembras.

17,6 % de los menores de 3 años.

5 % de los de 3 a 5 años (inclusive).

10,3 % de los mayores de 6 años.

Ophryoscolex caudatus tricoronatus Eberlein, 1895. (Fig. 26 y 27).

Zona adoral y dorsal de membranelas. Espina terminal larga (7-10 micras) no bifida. Tres círculos de espinas secundarias: el anterior formado por seis espinas, en la mayoría de los casos compuestos de espinas triples. Espina preanal en forma acicular, muy larga, 5-10 micras más larga que la espina que está situada en su base. La parte corporal postcoronaria está adelgazada, en forma cónica. Macrónucleo alargado a un lado del cuerpo. Micrónucleo en el centro del macrónucleo. Nueve vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas a lo largo del cuerpo o sobre el lado derecho.

Dimensión media: $132,42 \times 84,84$ micras.

Sobre 66 ciliados medidos.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 13,6 % de los animales.

16,6 % de los machos.

12,9 % de las hembras.

En el 17,7 % de los menores de 3 años.

30 % de los de 3 a 5 años (inclusive).

3,4 % de los mayores de 6 años.

Ophryoscolex caudatus quadricoronatus Eberlein, 1895. (Fig. 28).

Cuerpo ovoide, con zona adoral y dorsal de membranelas. Espina caudal larga y delgada; cuatro círculos de espinas secundarias; el círculo anterior de seis espinas, en la mayoría de los casos compuestas de triples espinas. La espina preanal de forma acicular, muy prolongada siendo 5-10 micras más larga que la espina situada en su base. La parte corporal postcoronaria se adelgaza, tomando una forma cónica. Macrónucleo alargado al lado del cuerpo. Micrónucleo en el centro del macrónucleo. Nueve vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas a lo largo del cuerpo o lado derecho.

Sólo se vieron en dos ovejas de un año de edad, sus dimensiones medias eran $130,80 \times 59,70$ micras.

Epidinium ecaudatum f. ecaudatum Fiorentini, 1889. (Fig. 29).

(sin. *Ophryoscolex caudatus f. ecaudatus*; *Diplodinium ecaudatum*).

Cuerpo alargado con el lado izquierdo convexo y el lado derecho recto o ligeramente cóncavo. Torcido sobre su eje principal. Zona adoral de membranelas y la zona dorsal en otro lugar. Macrónucleo simple y en forma de maza. Dos vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas con placas secundarias. Extremidad posterior sin espinas.

Sobre 100 ciliados medidos, se obtuvieron los datos:

Dimensión media: $108,42 \times 60,55$ micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:
En el 21,2 % de los animales.
8,3 % de los machos.
24 % de las hembras.
35,2 % de los menores de 3 años.
5 % de los de 3 a 5 años (inclusive).
24,1 % de los mayores de 6 años.

Epidinium ecaudatum f. *hamatum* Fiorentini, 1895. (Fig. 30).

(sin. *Diplodinium hamatum*; *Ophryoscolex caudatus* f. *hamatum*).

Cuerpo alargado con el lado izquierdo convexo y el derecho recto, o ligeramente cóncavo. Torcido sobre su eje principal. Zona adoral de membranelas en el extremo anterior, existiendo también una zona dorsal. Macronúcleo simple, en forma de maza. Dos vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas, con placas secundarias. Extremidad posterior con una espina caudal fina.

Se midieron 500 ciliados y los datos obtenidos fueron:

Dimensión media: 110,78 × 59,55 micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 21,2 % de los animales.
33,3 % de los machos.
18,5 % de las hembras.
11,7 % de los menores de 3 años.
25 % de los de 3 a 5 años (inclusive).
24,1 % de los mayores de 6 años.

Epidinium ecaudatum f. *cattaneoi* Fiorentini, 1889. (Fig. 35).

(sin. *Diplodinium cattaneoi*; *Ophryoscolex caudatus* f. *cattaneoi*; *Diplodinium ecaudatum* f. *cattaneoi*).

Cuerpo alargado con el lado izquierdo convexo y el lado derecho recto, aunque a veces ligeramente cóncavo. Está torcido sobre su axis principal. Macronúcleo en forma de maza. Hay una zona dorsal de membranelas y otra adoral. Dos vacuolas contráctiles. Tres placas esqueléticas, con placas secundarias. Extremidad posterior con cinco espinas caudales cortas y afiladas.

Sobre 22 ciliados medidos, se obtuvieron las cifras siguientes:
Dimensión media: 100,45 × 50,62 micras.

Por grupos se observaron los siguientes tantos por ciento:

En el 7,5 % de los animales.
No se observó en ningún macho.
9,2 % de las hembras.
17,6 % de los menores de 3 años.
5 % de los de 3 a 5 años (inclusive).
3,4 % de los mayores de 6 años.

Enoploplastron triloricatum Dogiel, 1925. (Figs. 37 y 38).

(sin *Ostracodinium triloricatum* *triloricatum*).

Cuerpo elipsoidal. Dos vacuolas contráctiles. Zona adoral y dorsal de membranelas. Tres placas esqueléticas, separadas, en la zona superior derecha. Una ligera extremidad posterior redondeada. El macrónucleo tiene una ligera depresión en la mitad anterior de su lado izquierdo, dorsal.

Dimensión media: 87,52 × 58,82 micras.

Se encontró en dos ovejas, una de 5 años y otra de 8 años, así como en un macho de cinco años y medio.

2. Especies señaladas por primera vez en la oveja:

Epidinium ecaudatum f. *bicaudatum* (Fiorentini, 1889), Sharp, 1914, se observó el día 10 de febrero de 1965, en una oveja de 3 años de edad y 44 kilogramos de peso.

Epidinium ecaudatum f. *tricaudatum* (Fiorentini, 1899), Sharp, 1914, se observó el día 11 de febrero de 1965, en una oveja de 3 años de edad y 41,800 kilogramos de peso.

Ninguna de estas dos especies había sido descrita en la oveja.

Los caracteres morfológicos generales son los de la especie tipo *Epi. ecaud. f. caudatum*:

Cuerpo de forma ovoide muy alargado. Cara dorsal convexa, la ventral cóncava. Cutícula sutil, ligeramente estriada.

El aparato ciliar consta de dos zonas de membranelas, una dorsal y otra adoral, las dos en la extremidad anterior del cuerpo. La dorsal se encuentra detrás de la adoral, a un quinto (de la longitud del cuerpo) del polo anterior y ocupa casi la mitad de la circunferencia.

La abertura bucal (citostoma) está situada en la parte anterior del cuerpo, un poco desviada ventralmente del eje central longitudinal y circundada por la zona adoral ciliar, formada de ordinario por cilios (50-60 por fila). Sigue al citostoma una citofaringe de sección elíptica, estrecha al principio y que se ensancha más adelante. El aparato excretor posee un corto canal (recto), que desemboca en una abertura (citoprocto o ano) situado sobre la cara ventral de la parte posterior del cuerpo.

Macronúcleo de forma cónica sencilla, situado a la derecha de la región dorsal del ectoplasma y muy alargado, con la extremidad anterior más gruesa. Micronúcleo muy refringente, de forma ovoidal y colocado en una depresión de la cara dorsal del macronúcleo.

Dos vacuolas contráctiles, una anterior y otra posterior situadas en la parte dorsal ectoplasmática sobre el plano sagital mediano, desembocando al exterior por un poro excretor situado sobre la cara dorsal del infusorio.

El esqueleto, bien desarrollado, consta siempre de tres láminas longitudinales, una derecha, una izquierda y otra ventral. La derecha y la ventral empiezan en el espacio comprendido entre las dos zonas ciliares y detrás del citostoma, respectivamente. Se dirigen hacia atrás y se separan dejando una abertura larga y elíptica, al nivel de la extremidad anterior del macronúcleo y sus bordes vuelven a unirse terminando al nivel del saco endoplasmico. El borde dorsal de la placa derecha está unido al ventral del macronúcleo. El borde inferior de la placa ventral se une, en parte, a la del lado izquierdo. La izquierda, es tan angosta como la derecha. Empieza entre la extremidad izquierda de la membrana dorsal y la zona adoral, para después prolongarse hacia atrás y a la derecha alcanzando la superficie ventral, aproximadamente hasta la parte media del cuerpo, donde termina en contacto con la lámina ventral.

Caracteres particulares:

Epidinium ecaudatum f. *bicaudatum* (Fiorentini, 1889), Sharp, 1914, (Figs. 31 y 32).

La extremidad posterior posee dos espinas, una que nace de la parte ventral del polo posterior del cuerpo y otra que arranca dorsalmente al ano, a la izquierda del plano sagital, y se dirige en sentido opuesto a la primera.

La espina que corresponde a la única que posee la especie *Epidinium ecaudatum* f. *caudatum*, es la preanal. La otra espina, la opuesta a esta primera, está un poco hacia la izquierda de la línea dorso-media- na y su extremo libre está lobulado ventralmente. En la que hemos visto nosotros, no llegaba a estar cruzada con el extremo de la otra espina.

La espina dorsal corresponde a la espina número IV, del esquema general de DOGIEL²⁴. Por lo tanto, la combinación observada por nosotros es la llamada ortodoxa (I más IV) por DOGIEL.

DOGIEL indica que sólo la encontró con formas multiespinosas de *Epidinium ecaudatum*, en la oveja en que nosotros observamos había un 10 % de *Epidinium ecaudatum* f. *hamatum*, por lo que se confirma la afirmación de DOGIEL.

Epidinium ecaudatum f. *tricaudatum* (Fiorentini, 1889), Sharp, 1914, (Figuras 33 y 34).

La extremidad posterior posee tres espinas, existiendo esta tercera que nace generalmente junto a la segunda y a la derecha del plano medio.

La espina más grande corresponde a la espina número I y en relación con ella las otras espinas, en la forma que nosotros vimos, y según el esquema de DOGIEL, forman la combinación I más II más IV.

DOGIEL, en observaciones especiales, dice que siempre la encontró en presencia de formas con 4 y 5 espinas de esta especie, nosotros la observamos en una oveja que poseía un 3 % de *Epidinium ecaudatum* f. *ecaudatum*, un 42 % de *Epidinium ecaudatum* f. *hamatum* y un 2 % de *Epidinium ecaudatum* f. *cattaneoi* por lo que se confirma, en parte, lo dicho por DOGIEL.

Independientemente del estudio de las especies de ciliados existentes en la oveja de la provincia de León, uno de los aspectos que nos

interesaba investigar, según hemos indicado anteriormente, era la determinación de la frecuencia con que tales protozoos se hallan en nuestros ovinos, así como conocer la proporción en que los distintos géneros y especies aparecen en los animales estudiados. Esto, aparte de las variaciones que pudieran producirse estacionalmente o de las apreciables en los animales de distinto sexo y edad.

Los resultados de este trabajo, expresados en valores medios, aparecen resumidos en los cuadros siguientes:

El cuadro I, confeccionado, en lo que respecta a los ofrioscoléidos, según el esquema filogenético de LUBINSKY,⁵³ muestra la frecuencia con que se han hallado representantes de los géneros indicados en las ovejas examinadas. En la parte inferior, se resumen, igualmente, los tantos por ciento de ovinos que albergaban ciliados de los tres grupos en que consideramos reunibles dichos protozoos de la panza.

Con el mismo formato, el cuadro II, ofrece los porcentajes de ovinos en cuyos rúmenes se hallaron las especies correspondientes.

Sin embargo, los datos así ofrecidos solamente hacen referencia a la existencia de determinados géneros y especies, sin indicar la proporción en que éstos pueden contribuir a lo que hemos dado en llamar "fórmula cualitativa" de los ciliados de la panza.

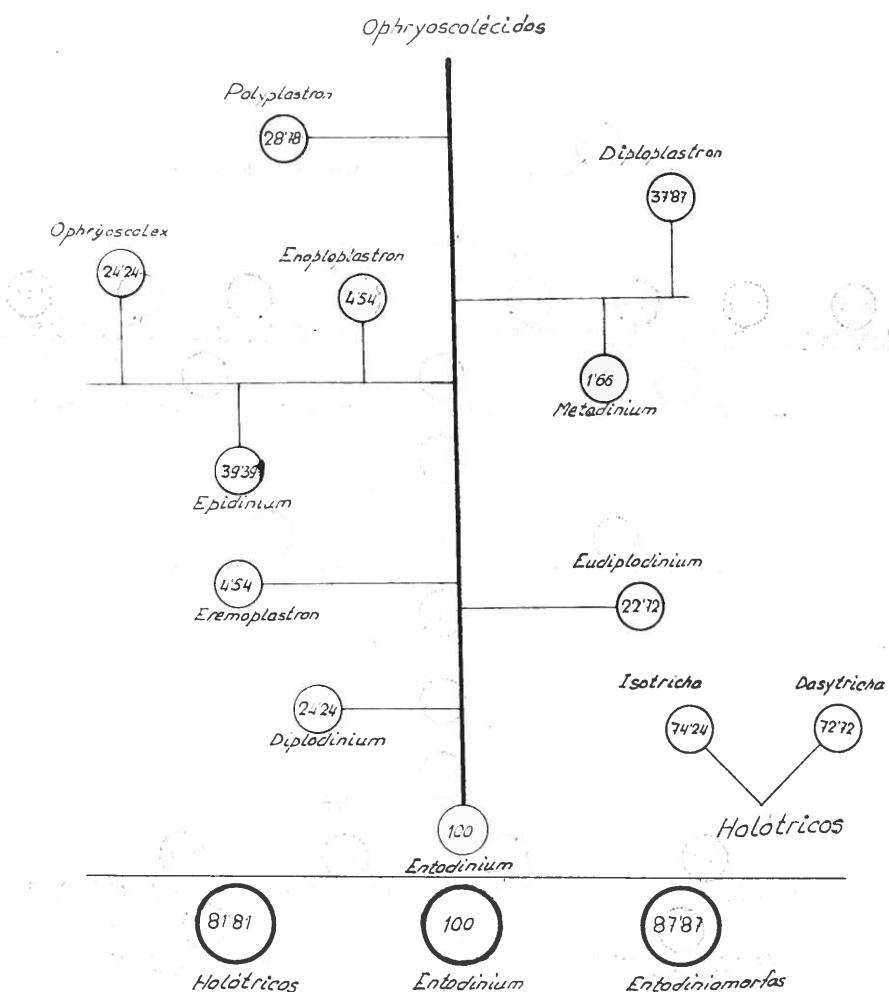
Como es natural, algunos ciliados pueden encontrarse con una gran constancia en las ovejas, aun cuando su número sea escaso. Para poder juzgar de la abundancia de los mismos, hemos analizado los datos, que ofrecemos en el cuadro III, en el que se indica la proporción por ciento de los diversos géneros. Igualmente en el cuadro IV, se recogen estos mismos datos, al nivel específico. En consecuencia, estos valores constituyen, por así decirlo, la fórmula "normal" porcentual que cabe encontrar en las ovejas de la provincia de León.

Las variaciones observadas en la composición porcentual de la población de ciliados, a lo largo del período que abarca nuestro estudio, se ofrecen en el cuadro V.

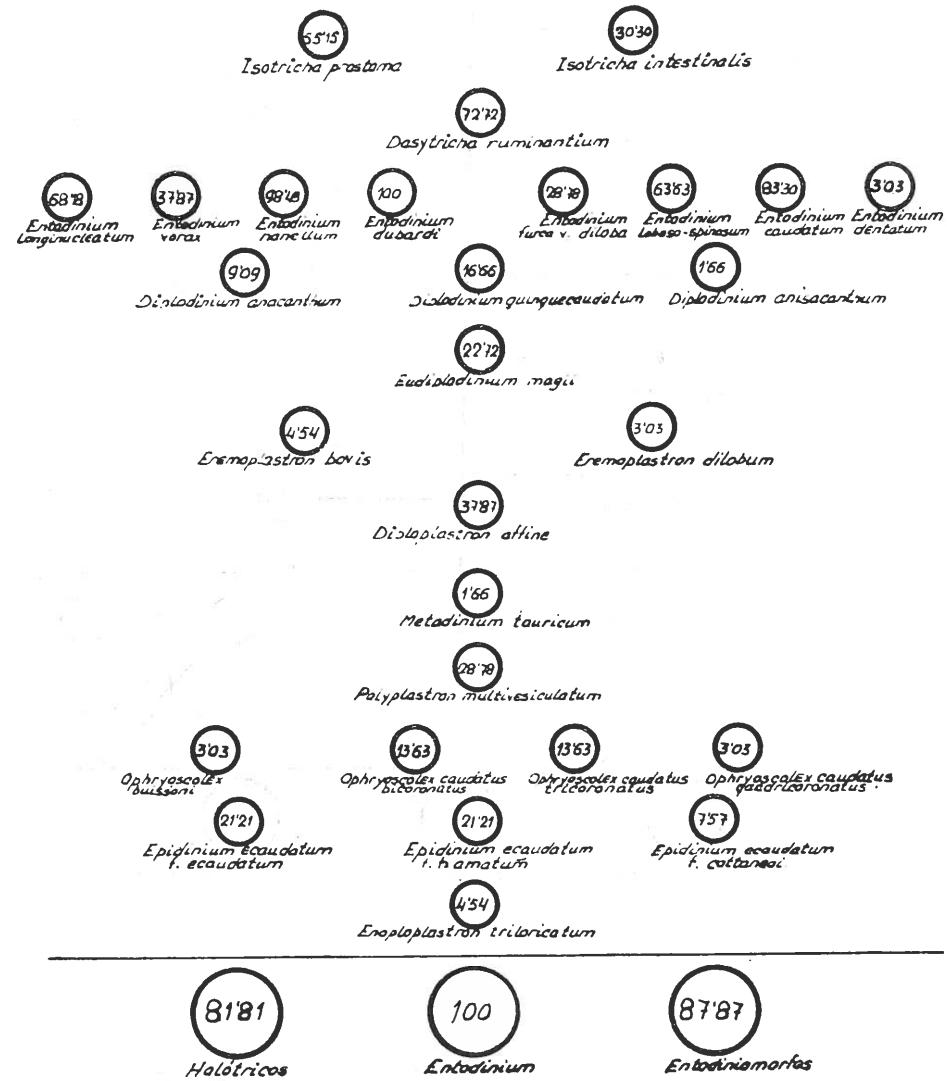
En cuanto a las variaciones existentes en los animales de uno y otro sexo, aparecen resumidas en el cuadro VI. Las relativas a la edad de los animales, se hallan en el cuadro VII.

CUADRO I

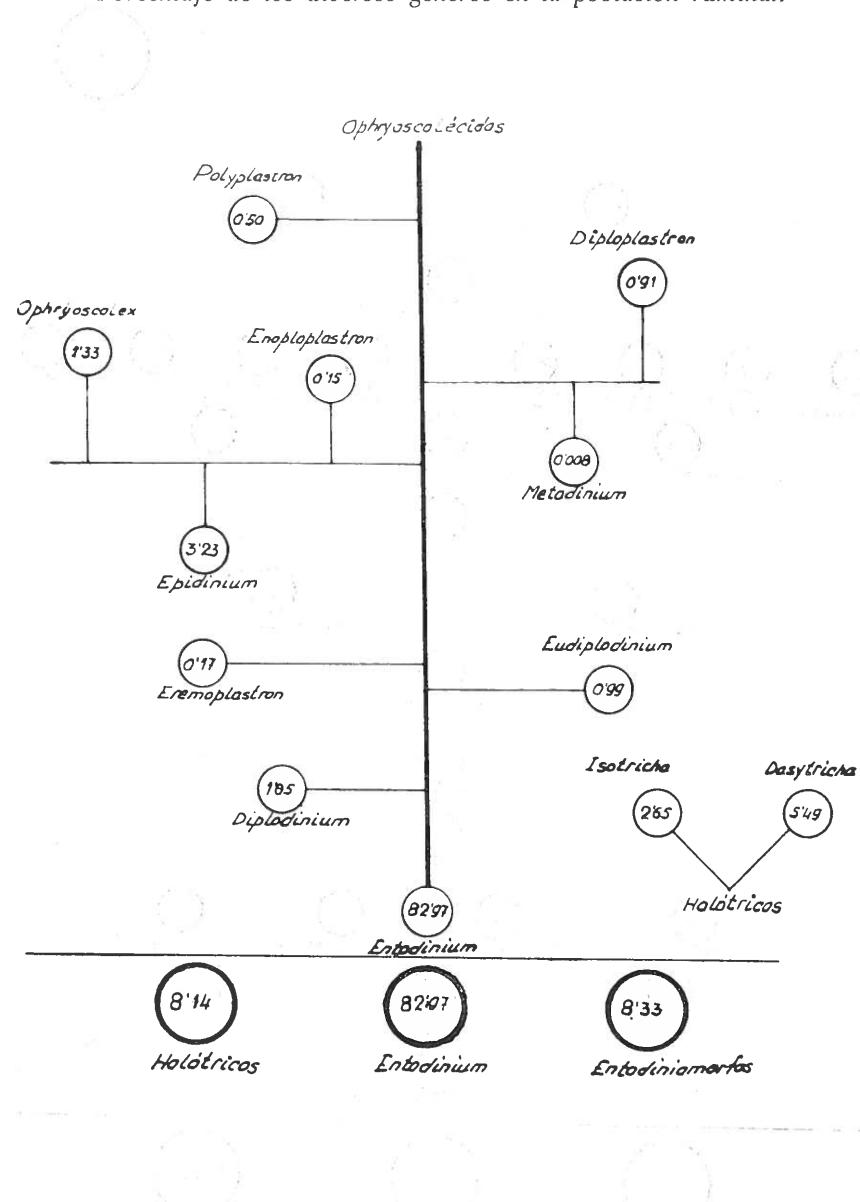
Frecuencia de los diversos géneros de ciliados en la oveja.



Cuadro II
Frecuencia de las diversas especies de ciliados en la oveja



CUADRO III
Porcentaje de los diversos géneros en la población ruminal.



CUADRO V

VARIACIONES MENSUALES

Procedencia	pH	<i>Isotricha prostoma</i>	<i>Isotricha intestinalis</i>	<i>Dasytricha rumenantium</i>	<i>Entodinium longinucleatum</i>	<i>Entodinium vorax</i>	<i>Entodinium nanellum</i>	<i>Entodinium dubardi</i>	<i>Entodinium furea</i> v. <i>diloba</i>	<i>Entodinium loboso-spinosum</i>	<i>Entodinium caudatum</i>	<i>Entodinium dentatum</i>	<i>Diploplodinium anacanthum</i>	<i>Diploplodinium quinquecaudatum</i>	<i>Eudiplodinium magii</i>	<i>Tremoplastron bovis</i>	<i>Fremoplastron dilobum</i>	<i>Diploplastron affine</i>	<i>Metadinium tauricum</i>	<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	<i>Ophryoscolex buissoni</i>	<i>Cibyrioscolex cundatus bicoronatus</i>	<i>Ophryoscolex cundatus tricornatus</i>	<i>Ophryoscolex cundatus quadricornatus</i>	<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>ecaudatum</i>	<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>humatum</i>	<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>cattaneoi</i>	<i>Enoploplastron trioricatum</i>	
Oubre.-Nvbre. .	—	1,19	1,93	7,91	4,09	0,93	25,36	29,19	3,7	6,56	13,52	0,26	—	0,05	0,09	1,37	0,66	0,37	0,51	—	0,12	0,08	0,37	0,23	0,09	0,27	—	0,13	—
Nvbre.-Debre. .	7,98	1,20	0,68	4,25	5,28	0,90	26,12	40,72	1,02	5,72	8,47	—	0,83	0,74	—	1,43	—	—	0,63	0,05	0,37	—	0,16	—	—	0,57	0,16	0,61	—
Debre.-Enero .	7,76	1,75	—	3,62	1,87	2,00	20,87	52,37	6,12	5,25	5,5	—	—	1,00	—	1,00	—	—	0,75	—	—	—	0,25	—	—	1,5	1,75	—	0,37
Enero-Febrero. .	7,81	2,91	0,58	7,16	0,83	0,5	36,00	34,66	—	0,75	6,00	—	0,16	—	—	0,56	—	—	1,83	—	1,75	—	—	1,66	—	2,00	2,08	—	0,41
Febrero-Marzo .	7,56	1,37	0,12	3,25	4,00	0,87	29,25	35,75	0,87	1,37	9,00	—	—	3,5	—	1,25	—	—	0,50	—	0,37	—	1,75	2,37	—	—	4,62	0,12	0,12
Marzo-Abril ..	7,61	3,5	0,75	6,75	1,5	0,5	29,25	38,37	—	0,2	9,12	—	—	—	—	0,25	—	—	1,25	—	1,87	0,12	0,37	0,62	—	—	5,62	—	—

	Holótricos	<i>Entodinium</i>	<i>Entodiniomorfos</i>
Octubre-Noviembre	11,03	83,61	4,37
Noviembre-Diciembre ...	6,13	88,21	5,55
Diciembre-Enero	5,37	87,98	6,62
Enero-Febrero	10,65	78,74	10,55
Febrero-Marzo	4,47	80,61	14,60
Marzo-Abril	11,0	78,86	10,10

CUADRO IV

Fórmula de ciliados en la población ruminal.

۷۴

11

Isotricha intestinalis 057
Isotricha ostoma 198

545
Dasycicha ruminantium

۷۲

<i>Dioscorea coccinea</i>	O 16
<i>Dioscorea esculenta</i>	O 88
<i>Dioscorea opposita</i>	O 01

950

296

Eremopascus berbis Eremopascus dilobum
011 006

091

880

650

<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>
<i>Ophioglossaceae</i>	<i>Ophioglossaceae</i>	<i>Ophioglossaceae</i>	<i>Ophioglossaceae</i>
<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>
<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>
<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>

Enodoblaston trilocatum

<i>Halotrichos</i>	8'14
<i>Entodinium</i>	82'97
<i>Entodiniomorpha</i>	8'33

8'33

१८

Formulas de ciliados en machos y hembras

1

Cuadro VI

Formulas de ciliados en machos y hembras

CUADRO VII

Fórmula de ciliados en las diversas edades.

B. Prueba II.

Los resultados de los trabajos correspondientes a la prueba II, se ofrecen en la serie de cuadros siguientes:

En el VIII se indican las fórmulas porcentuales correspondientes a las tres raciones ensayadas, siguiendo la norma de señalar las especies y los grupos de ciliados.

En el cuadro IX se ofrecen los mismos datos, referidos a las tres ovejas cuyo control individual se llevó a cabo, con raciones diferentes. Igualmente ocurre en el cuadro X. En ambos casos, la finalidad es exponer los cambios que la substitución de una ración por otra, pudiera haber provocado.

La evolución de la composición de la microfauna de la panza, en diversas horas, aparece en el cuadro XI.

C. RELACIONES ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS DE CILIADOS.

Finalmente, las relaciones existentes entre los diversos grupos de ciliados, se resumen en los cuadros XII, XIII y XIV.

CUADRO VIII

Raciones

Ración	AB	A	B
Ovejas	5-8-11-10-12-9	3-4-7-9-10-11	1-2-6-8-12-14
Días	27-28-29	9-10-11	9-10-11
Horas	10-11-17	10-11-17	10-11-17
pH	7,18	7,07	7,38
<i>Isotricha prostoma</i>	3,72	11,16	4,49
<i>Isotricha intestinalis</i>	0,27	3,94	2,16
<i>Dasytricha ruminantium</i>	0,83	3,21	0,77
<i>Entodinium longinucleatum</i>	9,49	8,21	11,72
<i>Entodinium vorax</i>	—	0,94	1,83
<i>Entodinium nanellum</i>	13,77	10,83	11,10
<i>Entodinium dubardi</i>	26,88	37,38	26,61
<i>Entodinium furca v. dloba</i>	0,05	0,05	0,16
<i>Entodinium loboso-spinosum</i>	0,71	0,66	0,05
<i>Entodinium caudatum</i>	15,77	11,38	16,49
<i>Diplodinium anisacanthum</i>	—	0,11	—
<i>Eudiplodinium magii</i>	2,72	0,72	2,66
<i>Diploplastron affine</i>	2,16	0,77	7,33
<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	—	1,11	3,38
<i>Ophryoscolex caudatus tricornutus</i> .	—	—	0,94
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>ecaudatum</i> .	2,21	0,33	0,33
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>hamatum</i> ..	21,27	9	10,11
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>cattaneoi</i> ..	—	0,11	0,33
Holóticos	4,82	18,31	7,42
<i>Entodinium</i>	66,67	69,45	67,46
Entodiniomorfos	28,36	12,15	25,03

CUADRO IX

Variaciones individuales.

Ración	Oveja 9			Oveja 10			Oveja 11			Media
	AB	A	AB	A	AB	A	AB	A	AB	
<i>Isotricha prostoma</i>	8,33	4,00	3,00	41,33	3,33	2,33	4,88	15,88		
<i>Isotricha intestinalis</i>	0,33	2,33	—	2,00	—	3,00	0,11	2,44		
<i>Dasytricha ruminantium</i>	0,33	10,66	1,00	2,66	1,00	4,66	0,77	5,99		
<i>Entodinium longinucleatum</i>	2,00	17,66	18,33	8,66	16,33	3,66	12,22	9,99		
<i>Entodinium vorax</i>	—	3,00	—	—	—	2,00	—	1,66		
<i>Entodinium nanellum</i>	11,33	11,33	16,00	5,66	23,33	19,33	16,88	12,10		
<i>Entodinium dubardii</i>	35,33	28,00	14,66	16,33	33,00	44,66	27,66	29,66		
<i>Entodinium furca v. diloba</i>	—	—	0,33	—	—	—	0,11	—		
<i>Entodinium loboso-spinosum</i>	—	—	0,66	—	1,33	0,66	0,66	0,22		
<i>Entodinium caudatum</i>	5,00	3,33	11,00	12,33	13,00	18,66	9,66	11,44		
<i>Diplodinium anisacanthum</i>	—	0,66	—	—	—	—	—	0,22		
<i>Eudiplodinium magii</i>	3,00	3,00	2,00	1,33	—	—	1,66	1,44		
<i>Diploplastron affine</i>	—	1,00	—	—	8,66	—	2,88	0,33		
<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	—	3,00	—	—	—	1,00	—	1,33		
<i>Ophryoscolex caudatus tricornutus</i> .	—	—	—	—	—	—	—	—		
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>ecaudatum</i> .	1,33	—	5,33	0,66	—	—	—	—		
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>hamatum</i> .	33,00	12,00	27,66	9,00	—	—	2,22	0,22		
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>cattaneoi</i> .	—	—	—	—	—	—	20,22	7,00		
Holóticos	8,99	16,99	4,00	45,99	4,33	9,99	5,76	24,31		
Entodinium	53,66	63,32	60,98	42,98	86,99	88,97	67,19	65,07		
Entodiniomorfos	37,33	19,66	34,99	10,99	8,66	1,00	26,98	10,54		

CUADRO X

Variaciones individuales

Ración	Oveja 8		Oveja 12		Media	
	AB	B	AB	B	AB	B
<i>Isotricha prostoma</i>	1,66	0,66	3,00	5,00	2,33	2,83
<i>Isotricha intestinalis</i>	0,66	3,00	—	2,66	0,33	2,83
<i>Dasytricha ruminantium</i>	1,00	—	—	0,66	0,50	0,33
<i>Entodinium longinucleatum</i>	8,66	10,33	3,66	3,33	6,16	6,83
<i>Entodinium vorax</i>	—	1,00	—	0,33	—	0,66
<i>Entodinium nanellum</i>	13,33	1,66	9,00	14,00	10,66	7,83
<i>Entodinium dubardi</i>	28,66	19,00	17,33	18,33	22,99	18,66
<i>Entodinium furca v. diloba</i>	—	0,33	—	0,66	—	0,49
<i>Entodinium loboso-spinosum</i>	—	—	0,66	—	0,33	—
<i>Entodinium caudatum</i>	9,66	3,66	35,66	37,33	22,66	20,49
<i>Diplodinium anisacanthum</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Eudiplodinium maggi</i>	7,00	12,00	2,66	3,66	4,83	7,83
<i>Diploplastron affine</i>	0,33	—	3,00	0,33	1,66	0,16
<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Ophryoscolex caudatus tricornutus</i> .	—	—	—	—	—	—
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>ecaudatum</i> .	3,66	1,33	3,62	0,66	3,16	0,19
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>hamatum</i> ...	25,00	47,00	24,33	13,00	24,66	30,00
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>cattaneoi</i> ...	—	—	—	—	—	—
Holóticos	3,32	3,66	3,00	8,32	3,16	5,99
Entodinium	60,31	35,98	66,31	73,98	62,80	54,96
Entodiniomorfos	35,99	60,33	30,65	17,65	34,04	38,98

CUADRO XI

Evolución horaria.

CUADRO XII

Relaciones entre los diversos grupos de ciliados

PRUEBA I

Eudiplodinium	+	Polyplastron	=	26	
Epidinium					
Eudiplodinium	-	Polyplastron	+	13	
Epidinium					
Eudiplodinium	+	Polyplastron	+	6	86,6 %
Epidinium					Competidores
Eudiplodinium	-	Polyplastron	-	21	
Epidinium					

PRUEBA II

Eudiplodinium	+	Polyplastron	=	6
Epidinium	}	Polyplastron	+	= 5
Eudiplodinium	+	Polyplastron	+	1
Epidinium				91,6 %
				Competidores
Eudiplodinium	-	Polyplastron	=	1
Epidinium				

CUADRO XIII

Relaciones entre los diversos grupos de ciliados

PRUEBA I

Diploplastron + Polyplastron — = 12	
Diploplastron — Polyplastron + = 6	
Diploplastron + Polyplastron + = 13	Asociación 41,93 %
Diploplastron — Polyplastron — = 35	

PRUEBA II

Diploplastron + Polyplastron — = 2	
Diploplastron — Polyplastron + = 4	
Diploplastron + Polyplastron + = 4	Asociación 40 %
Diploplastron — Polyplastron — = 3	

CUADRO XIV

Relaciones entre los diversos grupos de ciliados

PRUEBA I

Eudiplodinium + Epidinium — = 4	
Eudiplodinium — Epidinium + = 14	Asociación 37,9 %
Eudiplodinium + Epidinium + = 11	
Eudiplodinium — Epidinium — = 37	

PRUEBA II

Eudiplodinium + Epidinium — = 0	
Eudiplodinium — Epidinium + = 2	Asociación 71,4 %
Eudiplodinium + Epidinium + = 5	
Eudiplodinium — Epidinium — = 6	

V. DISCUSION

A) Prueba I.

1. Especies diagnosticadas:

En las páginas precedentes hemos comprobado que en los ovinos leoneses existen treinta especies de ciliados, agrupados en dos géneros de holótricos y diez de ofrioscolécidos.

Veintiocho especies habían sido señaladas anteriormente en la oveja, aunque en nuestro país no se hubiera determinado su presencia. En cambio, hemos comprobado la presencia de *Epidinium ecaudatum* f. *bicaudatum* y *Epidinium ecaudatum* f. *tricaudatum* que, hasta ahora, se admitían como presentes en la panza del ganado vacuno, cebú, dromedario, búfalo africano, reno y *Tragulus meminna*, considerándose como muy poco frecuentes.

En el cuadro XV aparecen comparados los datos de diversos autores con los observados por nosotros en *Epidinium ecaudatum* f. *bicaudatum*. En él puede comprobarse, una vez más, la gran variación de las apreciaciones métricas y el carácter sumamente inestable de las mismas, razón por la que no es aconsejable basarse en ellas para el establecimiento de nuevas especies, ni siquiera variedades.

En cuanto a *Epidinium ecaudatum* f. *tricaudatum*, en el cuadro XVI, pueden compararse también estos mismos aspectos, obteniéndose análogas conclusiones.

CUADRO XV

Epidinium ecaudatum f. *bicaudatum*

	1933 Chavarriá	1943 Neveu-Lemaire	1927 Dogiel	1965 Obsv. personal
Longitud	117(134-94) μ	144 μ	125(100-145) μ	125,49 μ
Anchura	54,9(44-61) μ	82 μ	—	80,10 μ
Relación Longitud	2,13	1,75	—	1,56
Anchura				
Longitud 1. ^a espina	—	—	47(17-70) μ	21,9 μ
Longitud 2. ^a espina	—	—	23(4-40) μ	12,42 μ
Rel. Long. espina I con Long corpor.	—	—	0,38	0,17

CUADRO XVI

Epidinium ecaudatum f. *tricaudatum*

	1933 Chavarriá	1943 Neveu-Lemaire	1927 Dogiel	1965 Obsv. personal
Longitud	114,6(90-134) μ	131 μ	118(98-140) μ	104,75 μ
Anchura	52,05(40-58) μ	85 μ	—	42,48 μ
Relación Longitud anchura	2,2	1,5	—	2,4
Longitud 1. ^a espina	—	—	39(20-77) μ	25,39 μ
Longitud 2. ^a espina	—	—	—	10,69 μ
Longitud 3. ^a espina	—	—	—	7,08 μ
Relación Long. espina I con Long. corporal	—	—	0,34	0,24

2. La población "normal" de ciliados en la oveja leonesa.

En cuanto a lo que podíamos considerar población "normal" ciliada en la oveja leonesa (Cuadro I), el género más frecuente es el *Entodinium*, que hemos hallado en el 100 % de los animales estudiados. A continuación, como más representativos, figuran los géneros de la subclase *Holotrichia*, *Isotricha* y *Dasytricha* presentes en el 74,24 por 100 y 72,72 por 100 de las ovejas, respectivamente. Los porcentajes de presencia de los demás géneros, son mucho menores, como se puede ver perfectamente en el susodicho cuadro, en el que varían desde un 37,87 por 100 para *Epidinium*, a un 1,66 por 100 para el género *Metadinium*. De mayor a menor, la frecuencia de la presencia de los diversos géneros en la oveja de León, sería: *Entodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Epidinium*, *Diploplastron*, *Polyplastron*, *Ophryoscolex*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Eremoplastron*, *Enoploplastron* y *Metadinium*.

Realizado un estudio similar, pero referido a las especies (Cuadro II) se comprueba que la más frecuente es *Entodinium dubardi*, hallada en el 100 % de las ovejas estudiadas y las menos frecuentes son *Diplodinium anisacanthum* y *Metadinium tauricum*, sólo presentes en el 1,66 por 100 de los animales estudiados. La variación dentro de las especies desde su mayor presencia a la menor sería: *Entodinium dubardi*, *Entodinium nanellum*, *Entodinium caudatum*, *Dasytricha ruminantium*, *Entodinium longinucleatum*, *Isotricha prostoma*, *Entodinium loboso-spinosum*, *Diploplastron affine*, *Entodinium vorax*, *Isotricha intestinalis*, *Entodinium furca v. diloba*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium magii*, *Epidinium ecaudatum f. ecaudatum*, *Epidinium ecaudatum f. hamatum*, *Diplodinium quinquecaudatum*, *Ophryoscolex caudatus bicoronatus*, *Ophryoscolex caudatus tricoronatus*, *Diplodinium anacanthum*, *Epidinium ecaudatum f. cattaneoi*, *Eremoplastron bovis*, *Enoploplastron triloricatum*, *Entodinium dentatum*, *Eremoplastron dilobum*, *Ophryoscolex buissoni*, *Ophryoscolex caudatus quadricoronatus*, *Diplodinium anisacanthum* y *Metadinium tauricum*.

Respecto a los porcentajes con que los diversos géneros de ciliados contribuyen a la formación de las poblaciones ruminales (Cuadro III) se apreció que la proporción máxima correspondía al *Entodinium* con un 82,97 por 100, mientras que el *Metadinium* sólo se encontraba en un tanto por ciento del 0,008. En orden decreciente, la frecuencia de los géneros hallados ha sido: *Entodinium*, *Dasytricha*, *Epi-*

dinium, *Isotricha*, *Ophryoscolex*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Diploplastron*, *Eremoplastron*, *Enoploplastron* y *Metadinium*.

En cuanto a la proporción de las especies dentro de los animales, (cuadro IV), de mayor a menor, tenemos la siguiente escala: *Entodinium dubardi*, *Entodinium nanellum*, *Entodinium caudatum*, *Dasytricha ruminantium*, *Entodinium loboso-spinosum*, *Entodinium longinucleatum*, *Epidinium ecaudatum f. hamatum*, *Isotricha prostoma*, *Eudiplodinium magii*, *Entodinium vorax*, *Diploplastron affine*, *Diplodinium quinquecaudatum*, *Entodinium furca v. diloba*, *Ophryoscolex caudatus tricoronatus*, *Epidinium ecaudatum f. ecaudatum*, *Isotricha intestinalis*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Ophryoscolex caudatus bicoronatus*, *Diplodinium anacanthum*, *Enoploplastron triloricatum*, *Epidinium ecaudatum f. cattaneoi*, *Eremoplastron bovis*, *Eremoplastron dilobum*, *Entodinium dentatum*, *Ophryoscolex buissoni*, *Diplodinium anisacanthum*, *Ophryoscolex caudatus quadricoronatus* y *Metadinium tauricum*. Los extremos de esta escala están formados por *Entodinium dubardi* y *Metadinium tauricum*, que representan, respectivamente, el 27,80 y 0,008 por 100 de las especies halladas.

3. Variaciones mensuales.

Por lo que concierne a las variaciones estacionales, estudiando el Cuadro V se observan unas oscilaciones que no son significativas, bajo ningún punto de vista, en los grupos de holótricos y *Entodinium*, mientras que en el de los Entodiniomorfos se advierte un aumento continuo, a lo largo de los diversos meses. Como dentro de este grupo se incluye una serie de especies que son predominantemente ingestoras de celulosa y como, durante esos meses invernales, las raciones más frecuentes en esta zona de León, son ricas en fibra bruta (pajitas de cereales, rastrojos, etc.), ésta puede ser la causa de que vaya aumentando la proporción de este grupo, mientras que, cuando llega una época de alimentación más abundante y rica en proteína y extractivos, como es al comenzar la primavera, (meses de marzo-abril), la proporción de este grupo disminuye.

Calculando la "t" de Student entre las medias más diferentes, (período de octubre-noviembre), con una media de 4.37 ± 1.0 , y (febrero-marzo) = 14.60 ± 4.1 , resultaron ser altamente significativos ($p < 0.01$), los valores hallados.

4. Variaciones en los sexos:

Las influencias hormonales fueron apuntadas por BARBARO⁴ y SPISNI,^{5,6} quienes vieron que existían modificaciones morfológicas y cuantitativas de los ciliados durante el período de gravidez en la cabra, atribuibles quizás, a la presencia y eventual aumento de la foliculina en el contenido del rumen. Nosotros separamos los animales estudiados por sexos (cuadro VI), comprobando que existían diferencias que no se pueden atribuir a la alimentación, ya que ésta era semejante para ambos sexos. Por lo tanto, las diferencias existentes han de deberse a otras causas, una de las cuales pudiera ser de tipo hormonal, por tratarse de individuos de diferente sexo.

Realizada una prueba de significación, por medio de la "t" de Student, las diferencias existentes entre las medias de los grupos de holótricos y entodinium, no fueron significativas, pero sí fueron altamente significativas ($p < 0,01$) para el grupo de Entodiniomorfos: Machos $14,16 \pm 3,4$; hembras. $6,60 \pm 0,9$.

5. Variaciones según la edad:

Reuniendo los animales estudiados en tres grupos de edades, (cuadro VII), (hasta los dos años, de tres a cinco años y mayores de seis años), para ver si existía alguna diferencia entre sus poblaciones de ciliados, por variaciones fisiológicas dependientes del grado de madurez y no determinadas por la alimentación, pues ésta es semejante en todas las edades, hemos observado que las diferencias encontradas no son características, pues calculada la "t" de Student, resultó significativamente negativa en todos los casos. Debemos tener en cuenta, no obstante, que existen variaciones determinadas por la edad en los animales lactantes que pasan a iniciar el pastoreo, pues en ese momento es cuando se instaura la microfauna en plenitud, siguiendo un orden especial (CORDERO¹⁷). Por este motivo no consideramos recomendable establecer conclusiones de nuestros resultados.

B. PRUEBA II.

1. Fórmulas de ciliados para las tres raciones ensayadas:

Al comparar los tipos de ciliados que han aparecido con las diversas raciones (cuadro VIII), observamos que los holótricos predomi-

nan en la ración A, lo cual sería explicable en función de que es ésta la ración más rica en extractivos libres de nitrógeno y ser los ciliados de este grupo los que mejor aprovechan los azúcares y almidón. Haciendo la "t" de Student, entre la ración A ($18,31 \pm 5,3$) y la AB ($4,82 \pm 0,6$) la encontramos significativa ($p < 0,02$). Entre las raciones B ($7,42 \pm 0,9$) y AB ($4,82 \pm 0,6$) también es significativa ($p < 0,05$) no siendo significativa para la A con la B.

Dentro de los Entodinium las variaciones no fueron significativas.

Respecto a los Entodiniomorfos, en las raciones AB y B predominan más que en la A, lo cual se puede explicar teniendo en cuenta que estas raciones son más ricas en fibra. Con la "t" de Student, para la AB ($28,36 \pm 2,6$) y la A ($12,15 \pm 3,2$), se ve que es altamente significativa ($p < 0,01$). Con la ración B ($25,03 \pm 4,7$) y la ración A ($12,15 \pm 3,2$), resulta también significativa ($p < 0,05$). No es significativa entre las raciones AB y B.

2. Variaciones individuales:

Valorando lo ocurrido con la oveja 9 (cuadro IX), que recibió dos raciones diferentes, se ve que existe una mayor proporción de holótricos en la ración A que en la AB, lo cual se puede explicar por ser más rica en extractivos libres de nitrógeno, aunque la "t" de Student no resultó significativa.

También existe mayor proporción de Entodiniomorfos en la ración AB con relación a la A, pudiendo interpretarse esto, como consecuencia de ser más rica en fibra, pese a que haciendo la "t" de Student, estadísticamente no dio resultados significativos. Esto pudiera señalar la existencia de variaciones muy acusadas, incluso en un mismo individuo.

Realizando el mismo estudio que antes, con la oveja 10 (cuadro IX), también se observa que hay más holótricos en la ración A debido a una mayor cantidad de extractivos libres de nitrógeno, pero tampoco es significativa estadísticamente la "t" de Student.

El grupo entodinium abunda más en la ración AB, lo cual se podría achacar a la mayor proporción de proteína de la misma, por ser los miembros de este grupo los que mejor aprovechan esta materia. No

obstante, como este grupo es el que menos varía, pues es el más constante, no nos atrevemos a dar ningún valor positivo a esta variación.

Hay mayor proporción de entodiniomorfos en la ración AB que en la A, debido seguramente a una mayor riqueza en celulosa de la primera ración mencionada siendo en este caso significativo ($p < 0,05$). Ración AB ($34,99 \pm 4,1$). Ración A ($10,99 \pm 5,6$).

Repetimos los estudios anteriores con la oveja 11 (cuadro IX) y también hay mayor proporción de holóticos en la ración más rica en extractivos libres de nitrógeno (ración A), siendo altamente significativa estadísticamente, ración A ($9,99 \pm 0,5$), ración AB ($4,33 \pm 0,66$) ($p < 0,01$).

Respecto a entodinium, podemos repetir lo dicho anteriormente.

Y en cuanto al grupo de los entodiniomorfos también predomina en la ración más rica en fibra (AB), aunque en este caso la "t" de Student no es significativa.

La media de las tres ovejas vistas anteriormente (cuadro IX), nos indica que los holóticos predominan en la ración más rica en extractivos libres de nitrógeno (A) pero no tiene significación estadística en este caso.

Los entodinium son más frecuentes en la ración más rica en proteína (AB), con la salvedad dicha anteriormente, pero tampoco es estadísticamente significativa la diferencia.

Los entodiniomorfos existen en mayor proporción en la dieta más rica en celulosa (AB), siendo en este caso significativa la "t" de Student, (ración AB, $26,98 \pm 5,3$) (ración A, $10,54 \pm 3,3$) ($p < 0,02$).

Siguiendo los razonamientos anteriores, la oveja 8, que recibió dos raciones diferentes (cuadro X), nos muestra que el grupo de los entodiniomorfos existe en mayor proporción en la ración B, más rica en fibra que la AB, calculando la "t" de Student, para la ración B ($60,33 \pm 5,4$), con respecto a la AB ($35,99 \pm 3,5$), resulta ser significativa ($p < 0,02$).

En esta oveja, 8, predominan los entodinium dentro de la ración más pobre en proteínas (AB), lo cual no es "normal" teóricamente, aunque sea estadísticamente positiva su significación (ración AB, $60,31 \pm 3,5$ ración B, $35,98 \pm 5,1$) ($p < 0,02$). Esto quizás nos demuestre claramente que muchas veces predominan los caracteres individuales del

animal y son éstos los verdaderos determinantes de las diferentes variaciones que se puedan encontrar.

Con la oveja 12, (cuadro X), eliminando los entodiniomorfos (causas ya indicadas), ningún otro grupo corresponde con lo que podíamos decir la marcha normal teórica, correspondiente a la alimentación, ya que predominan, contrariamente a como cabría esperar, aunque estadísticamente no tiene ninguna significación la diferencia.

Hallando la media de las dos ovejas citadas anteriormente (cuadro X), se observa que con la ración B, la más rica en fibra, los ciliados del grupo entodiniomorfo, abundan más que con la AB, pero la "t" de Student no es significativa.

En resumen, por lo que respecta a la influencia de la composición de la ración en las variaciones de los distintos grupos de ciliados, parecen probados los siguientes puntos:

1.º Los entodiniomorfos aumentan cuando la cantidad de fibra de la ración se eleva. Efectivamente, las variaciones observadas a lo largo del período correspondiente a la prueba I, tiene alta significación estadística.

En cuanto a las raciones controladas, (prueba II), igualmente se comprueba esta misma tendencia, con significación estadística positiva, (cuadro VIII y medias del cuadro IX).

De todos modos, existen variaciones individuales, pues en tanto que ciertos animales muestran de modo claramente positivo esta tendencia (oveja 10, del cuadro IX y oveja 8 del cuadro X), en otros casos, aunque se advierte un aumento, no siempre tiene significación estadística positiva (ovejas 9 y 11 del cuadro IX).

2.º El segundo grupo, en cuanto a labilidad frente a los cambios de la ración, lo constituyen los holóticos, pero sus tendencias no son tan evidentes como las apreciadas en el grupo de los entodiniomorfos. Así ocurre que, a lo largo del período correspondiente a la prueba I, las variaciones no fueron estadísticamente significativas. En cambio, en la prueba II, la tendencia de los mismos fue aumentar, cuando se elevaba la cantidad en extractivos libres de nitrógeno, siendo significativa muchas veces la variación (cuadro VIII).

De todos modos, su respuesta no es tan evidente, como demuestra el hecho de que, si bien existen cambios con significación estadística (oveja 11 del cuadro IX), en otras ocasiones no es tan clara la si-

tución, pues los incrementos no han sido estadísticamente significativos (ovejas 9 y 10, cuadro IX y media del cuadro IX, tampoco significativa).

3.^o Las *Entodinium* spp. varían con significación escasa, pues son los ciliados menos exigentes y más acomodados a cualquier tipo de ración. Los resultados del estudio estacional (prueba I) señalan la falta de significación de las variaciones, y otro tanto ocurre, en general, en las experiencias de la prueba II.

3. Variaciones horarias:

Los trabajos de PURSER y MOIR,⁷² PURSER⁷³ y WARNER⁹⁰ señalaron que existía un ciclo diurno para diversos microorganismos (*Entodinium* spp. y holótricos) en el sentido de que después de la ingestión del pienso, se producía una disminución en la cantidad de estos ciliados, seguida de un nuevo aumento hasta llegar al máximo unas horas antes de la comida siguiente.

Nosotros estudiamos este aspecto con nuestras raciones, comprobando en la AB (cuadro XI), que existía mayor proporción de holótricos antes de comer (horas de sondaje, 10 y 17), y en menor proporción una hora después de la comida de la mañana (hora de sondaje, 11); la comprobación estadística no fue significativa.

El grupo *Entodinium* existía en mayor proporción después de las comidas, y el de los entodiniomorfos, antes de ellas.

Con la ración A (cuadro XI) eran los entodinium los que estaban de acuerdo con las experiencias de los autores antes citados, pues en las horas anteriores a la comida (10 y 17) estaban en mayor proporción que después de comer (hora, 11). La "t" de Student era significativa entre las horas 10 ($89,80 \pm 3,2$) y la hora 11 ($52,63 \pm 5,9$) ($p < 0,01$).

En este caso, contrariamente a lo visto antes, el grupo de los entodiniomorfos está en mayor proporción después de comer (hora 11). Es altamente significativo entre la hora 11 ($27,32 \pm 2,9$) y la hora 10 ($3,16 \pm 1,3$) para ($p < 0,01$). Y altamente significativa también, entre la hora 11 y la hora 17 ($5,99 \pm 3,3$) ($p < 0,01$).

Al realizar el mismo estudio con la ración B (cuadro XI), se ve que los holótricos predominan en las horas 10 y 17, que son las que

preceden a las comidas. Estadísticamente, estos valores son significativos, según demuestra el cálculo de la "t" de Student entre las horas 17 ($8,65 \pm 1,2$) y la hora 11 ($4,65 \pm 1,2$) ($p < 0,05$).

Con respecto al grupo entodinium, también vemos que predominan en las horas antes de comer (10 y 17) más que después de la comida (11). Pero estadísticamente no son significativas las diferencias en ninguno de los casos.

Con los entodiniomorfos se observa que éstos predominan en la hora posterior a la comida. Tampoco son estadísticamente significativos.

Con la media de estas tres raciones (AB, A y B), (cuadro XI), solo cuadra perfectamente, según lo dicho anteriormente, el grupo entodinium, que predomina en las horas anteriores a la comida (10 y 17) sobre las posteriores a ella (11). Pero no es significativo estadísticamente, este hecho.

El grupo entodiniomorfo predomina después de comer, aunque tampoco es significativo estadísticamente este valor.

4. Relaciones entre los distintos grupos de ciliados:

EADIE,²⁸ observó que los ciliados *Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium magii* y *Epidinium* spp. no formaban una biocenosis estable, pues existía una competencia entre *Polyplastron* y los otros dos.

Analizando estos aspectos para comprobar si existe, tal situación respecto a la prueba I (cuadro XII), observamos que en un 86,6 % de los casos parecía existir un antagonismo, en armonía con lo observado por EADIE.

Este mismo estudio, en la prueba II, (cuadro XII), nos da aún una significación más alta (91,6 %).

Este mismo autor y en el mismo trabajo observó que *Diploplastron affine* tiende a asociarse con *Polyplastron multivesiculatum*, pero en nuestros estudios no hemos visto muy evidentemente que las cosas ocurran de este modo, ya que en la prueba I (cuadro XII) sólo observamos la asociación en el 41,93 %. Y en la prueba II, cuadro XIII, la asociación solamente existía en el 40 % de los casos.

WARNER⁹⁰ encontró, en gran número de animales, la asociación alternativa entre *Epidinium* spp., *Diplodinium* spp. y *Eudiplodinium* spp. Nosotros comparamos *Eudiplodinium* con *Epidinium*, (cuadro XIV), ya que las especies del otro género las encontramos en muy pequeña

cantidad y no teníamos datos suficientes para comparar. En el cuadro XIV se aprecia que, en la prueba I, sólo estaban asociados en el 37,9 % de los casos, mientras que en la prueba II, la asociación subía hasta un 71,4 %. Aunque siempre hay que pensar en esas variaciones individuales que pueden motivar una serie de errores muy grandes.

5. Valores de pH:

Las variaciones del pH a lo largo de los dos experimentos no han sido pronunciadas, debido, sin duda, a la uniformidad de las raciones a que estaban sometidas las ovejas. Por ello, no es posible obtener conclusiones basadas en este factor.

VI. CONCLUSIONES

1.^a En ovejas de la provincia de León, se han determinado las siguientes especies de ciliados: *Isotricha prostoma*, *Isotricha intestinalis*, *Dasytricha ruminantium*, *Entodinium longinucleatum*, *Entodinium vorax*, *Entodinium nanellum*, *Entodinium dubardi*, *Entodinium furca v. diloba*, *Entodinium loboso-spinosum*, *Entodinium caudatum*, *Entodinium dentatum*, *Diplodinium anacanthum*, *Diplodinium quinquecaudatum*, *Diplodinium anisacanthum*, *Eudiplodinium magii*, *Eremoplastron bovis*, *Eremoplastron dilobum*, *Diploplastron affine*, *Metadinium tauricum*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Ophryoscolex buissoni*, *Ophryoscolex caudatus bicoronatus*, *Ophryoscolex caudatus tricoronatus*, *Ophryoscolex caudatus quadricoronatus*, *Epidinium ecaudatum f. ecaudatum*, *Epidinium ecaudatum f. hamatum*, *Epidinium ecaudatum f. cattaneoi*, y *Enoploplastron triloricatum*.

2.^a Se señala por primera vez en la oveja la presencia de *Epidinium ecaudatum f. bicaudatum* y *Epidinium ecaudatum f. tricaudatum*.

3.^a En las condiciones del trabajo, las *Entodinium* spp. han sido las halladas con más constancia, habiéndose comprobado en la totalidad de los animales *Entodinium dubardi*. *Diplodinium anisacanthum* y *Metadinium tauricum* han sido las más raras.

4.^a La composición cualitativa de la microfauna ruminal está en estrecha dependencia con la calidad de la ración: a las dietas ricas en fibra corresponde un aumento estadísticamente significativo de ciliados entodiniomorfos. Las raciones ricas en extractivos libres de nitrógeno estimulan el aumento de los holótricos, aunque no siempre fueron estadísticamente significativos los valores hallados. Las *Entodinium* spp permanecen más constantes.

5.^a En armonía con la anterior conclusión, se han observado variaciones estacionales en la composición cualitativa de los ciliados de la panza.

6.^a Entre las poblaciones de ciliados, de machos y hembras, existen diferencias apreciables, siendo superior, y estadísticamente significativa, la proporción de entodiniomorfos en los moruecos.

7.^a En las horas que preceden a la ingestión de alimentos, predominan las *Entodinium* spp. y los holótricos, mientras que los entodiniomorfos abundan más después de ellas.

8.^a Entre *Polyplastron multivesiculatum* y el grupo formado por *Eudiplodinium magii* y *Epidinium* spp. existe un antagonismo evidente en la mayoría de las ocasiones. En lo que respecta a la asociación entre *Polyplastron multivesiculatum* y *Diploplastron affine* y entre *Eudiplodinium* spp. y *Epidinium* spp., en las condiciones del presente trabajo, no han sido tan frecuentes como señalan algunos autores.

VII. RESUMEN

Empleando las técnicas de LUBINSKY y DIPPELL para tinción de ciliados, con resultados satisfactorios para diagnóstico de especies y para la realización de microfotografías, se ha realizado un trabajo encaminado a determinar las especies presentes en el rumen de las ovejas de la zona de León, la composición cualitativa de esta microfauna y la influencia de la calidad de la ración, el sexo y la edad de los animales en la misma. Otros aspectos estudiados han sido la adaptación de la población ruminal de ciliados a los cambios de dieta, las variaciones cualitativas diurnas y las relaciones existentes entre los diversos grupos de ciliados.

La primera parte del trabajo se ha realizado a partir de material recogido en el matadero municipal de la ciudad, mientras que los otros aspectos se han estudiado con un lote de ovejas sometido a control más riguroso.

Se han identificado treinta especies, pertenecientes a doce géneros distintos, comprobándose por primera vez, la presencia de *Epidinium ecaudatum* forma *bicaudatum* y *Epidinium ecaudatum* forma *tricaudatum* en la oveja.

Las especies del género *Entodinium* y particularmente *Entodinium dubardi* han sido halladas en la totalidad de los animales examinados, mientras que han sido las menos frecuentes *Metadinium tauricum* y *Diplodinium anisacanthum*.

Se ha comprobado que las oscilaciones en la composición cualitativa de la microfauna de la panza de la oveja guardan una estrecha relación con la calidad de la ingesta, correspondiendo un aumento estadísticamente significativo del grupo de los entodiniomorfos a las raciones ricas en fibra bruta, en tanto que, cuando abundan los extractivos libres de nitrógeno, tienden a aumentar los holotícos, si bien no siempre fue significativa estadísticamente esta modificación. Las *Entodinium* spp. han sido las más constantes en cualquier tipo de ración. Consecuentemente, las variaciones estacionales observadas se han interpretado como cambios debidos a las modificaciones en la calidad de las raciones.

Las variaciones existentes en las fórmulas porcentuales de ciliados, en machos y hembras, con significación estadística, apuntan hacia una influencia posiblemente hormonal.

En relación con el momento de la ingestión de alimentos, las *Entodinium* spp. y los holotícos predominan en las horas precedentes, mientras que en las que siguen a aquélla abundan más los entodiniomorfos.

Se ha comprobado la existencia de un cierto antagonismo entre *Polyplastron multivesiculatum* y el grupo formado por *Eudiplodinium magii* y *Epidinium* spp., observándose que la asociación entre *Polyplastron multivesiculatum* y *Diploplastron affine*, así como entre *Eudiplodinium* spp. y *Epidinium* spp. no son todo lo constantes que han señalado otros autores.

VII. RESUME

En employant les techniques de LUBINSKY et DIPPELL pour la coloration de ciliés, avec des résultats satisfactories pour d'agnostiques les espèces et pour faire des microphotographies, on a effectué un travail dirigé à la détermination des espèces présentes dans le rumen des brebis de la région de León, de la composition qualitative de cette microfaune et de l'influence de la qualité de la ration, du sexe et l'âge des animaux dans cette microfaune. On a étudié quelques autres aspects, tels que l'adaptation de la population du rumen de ciliés aux changements de la diète, les variations qualitatives diurnes et les relations existantes entre les divers groupes de ciliés.

La première partie du travail a été effectuée avec du matériel pris dans l' abattoir municipal de la ville de León, alors que les autres aspects ont été étudiés avec un lot de brebis qui a été soumis à un contrôle plus rigoureux.

On a identifié 30 espèces, appartenant à 12 genres différents, et l'on a constaté, pour la première fois dans les brebis, la présence d'*Epidinium ecaudatum* f. *bicaudatum* et *Epidinium ecaudatum* f. *tricaudatum*.

Les espèces du genre *Entodinium* et particulièrement celles du *Entodinium dubardi* ont été trouvées dans tous les animaux examinés, alors que les moins fréquentes ont été *Metadinium tauricum* et *Diplodinium anisacanthum*.

Il a été prouvé que les oscillations dans la composition qualitative de la microfaune du rumen de la brebis a une intime relation avec la qualité des matières ingérées; une augmentation statistiquement significative du groupe des entodiniomorphes correspond aux rations riches en fibre brute, alors que quand les matières libres de nitrage y abondent les holotriques ont une tendance à augmenter quoique cette modification ne fut pas toujours statistiquement significative.

Les *Entodinium* spp. ont été les plus constantes avec n'importe quel type de ration. Conséquemment, les variations observées pendant plusieurs périodes de temps ont été interprétées comme des changements liés aux modifications de la qualité des rations.

Les variations existantes dans les formules des pourcentages de ciliés, chez les animaux mâles et femelles, avec signification statistique, indiquent une influence possiblement hormonale.

En ce qui concerne le moment de l'ingestion des aliments, les *Entodinium* spp. et les holotriches prédominent dans les heures qui précèdent l'ingestion alors que dans les heures qui suivent l'ingestion ce sont les *Entodiniomorphes* qui sont les plus abondantes.

On a démontré l'existence d'un certain antagonisme entre les *Polyplastron multivesiculatum* et le groupe formé par *Eudiplodinium magii* et *Epidinium* spp., et on a observé que l'association entre *Polyplastron multivesiculatum* et *Diploplastron affine*, de même qu'entre *Eudiplodinium* spp. et *Epidinium* spp. n'est pas aussi constante comme il a été affirmé par d'autres auteurs.

VII. SUMMARY

By using Lubinsky and Dippell's techniques to stain ciliated with satisfactory results to diagnose their species and to take photomicroographies, we have carried out a work in order to determine the species which are present in the rumen of sheep in the province of León, the qualitative composition of this microfauna and the influence of the quality of the ration, the sex and the age of animals on said microfauna. We have also studied the adaptation of the population in the rumen of ciliated to the various changes of the diet, the diurnal qualitative variations and the relations between the various groups of ciliated.

The first part of our work has been carried out with material proceeding from the municipal abattoir of León, whereas other aspects have been studied with a lot of sheep which were kept under a severer and more exact conditions.

We have identified 30 species which belong to 12 different genera. The presence of *Epidinium ecaudatum* f. *bicaudatum* and *Epidinium ecaudatum* f. *tricaudatum* in sheep has been shown for the first time.

The species of *Entodinium* and particularly *Entodinium dubardi* have been found in all animals which were examined; the least frequent were of *Meladinium lauricum* and *Diplodinium anisacanthum*.

It has also been shown that the oscillations in the qualitative composition of the microfauna of the rumen of sheep have an intimate relation with the quality of feed ingested: there is a statistically significant increase in the entodiniomorphic group due to rations rich in raw fiber, whereas if there is plenty of nitrogen-free matters the holotrichous group increases, though this modification is not always statistically significative.

The *Entodinium* spp. have been the most constant in whatever type of ration. Consequently, the variations or changes observed during different periods of time have been interpreted as changes due to the modifications in the quality of the rations.

The variations existing in the formulae of percentage of ciliated in males and females, with a statistical meaning, show a possible hormonal influence.

Regarding the moment of the ingestion of feed, the *Entodinium* spp. and the holotrichous group predominate in the preceding hours to the ingestion whereas the entodiniomorphic group is more numerous in the hours following the ingestion.

We have shown that there exists a certain antagonism between *Polyplastron multivesiculatum* and the group formed by *Eudiplodinium magii* and *Epidinium* spp. and we have observed that the association between *Polyplastron multivesiculatum* and *Diploplastron affine* as well as between *Eudiplodinium* spp. and *Epidinium* spp. is not so constant as other authors have stated.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1) ABOU AKKADA, A. R., HOBSON, P. N. y HOWARD, B. H. (1959).—Carbohydrate fermentation by rumen oligotrich protozoa of the genus *Entodinium*. *Biochem. J.* **73**, 44-45.
- 2) ABOU AKKADA, A. R. y HOWARD, B. H. (1960).—*Biochem. J.* **76**, 445-551. (citado por HUNGATE y col., 1964).
- 3) AWERINZEW, S. y MUTAFOWA, R. (1914).—Material zur Kenntnis der Infusorien aus dem Magen der Widerkäuer. *Arch. Protistenk.* **33**, 109-118.

- 4) BARBARO, D. A. (1953).—Modificazioni della fauna protozoa del rumine di capra gravida. *Boll. della Societa Ital. di Biol. Sperimentale*. **29**, 956-959.
- 5) BECKER, E. R. y HSIUNG, T. S. (1929).—The method by which ruminants acquire their fauna of infusoria, and remarks concerning experiments on the host-specificity of these protozoa. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **15**, 684-690.
- 6) BECKER, E. R., SCHULZ, J. A. y EMMERSON, M. A. (1929).—A comparative study of the digestion of proteins and carbohydrates in goats during infusoria-free and infected periods. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **16**, 691-693.
- 7) BECKER, E. R., SCHULZ, J. A. y EMMERSON, M. A. (1930).—Experiments on the physiological relationships between the stomach infusoria of ruminants and their host, with a bibliography. *Iowa. St. Coll. J. Sci.* **4**, 215-251.
- 8) BLACKBURN, T. H. y HOBSON, P. N. (1960).—Proteolysis in the sheep rumen by whole and fractionated rumen contents. *J. Gen. Microbiol.* **22**, 272-281.
- 9) BOYNE, A. W., EADIE, J. M. y RAITT, K. (1957).—The development and testing of a method of counting rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.* **17**, 414-423.
- 10) BUISSON, J. (1923).—Sur quelques infusoires nouveaux ou peu connus parasites des mammifères. *Ann. Parasit. hum. comp.* **1**, 209-246.
- 11) BUNDLE, A. (1895).—Ciliaten Infusorien in Caecum des Pferdes. *Zeitschr. für Wiss. Zool.* **60**, 284-350.
- 12) BUSCH, M. y KOFOID, C. A. (1948).—Ciliates from the Sierra Nevada bighorn, *Ovis canadensis*. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **53**, 237-261.
- 13) CHATTON, E. (1940).—Sur une méthode rapide d'impregnation à l'argent réduit par hydroquinone. *C. R. Soc. Biol.* **134**, 229-233.
- 14) CHAVARRIA, M. (1933).—Fauna del tubo digestivo del toro (*Bos taurus* Linn.) de México. *Anales Inst. Biol.* **4**, 109-142.
- 15) CLEVELAND, L. R. (1924).—The physiological and symbiotic relationship between the intestinal protozoa of termites and their host. *Biol. Bull.* **46**, 177-225.
- 16) COLIN, G. (1854).—*Traité de physiologie comparée des animaux*. (citado por DOGIEL, 1927).
- 17) CORDERO, M. (1965).—Avances recientes en el conocimiento de los ciliados ruminantes de la oveja. *Av. Alim. y Mejora Anim.* **6**, 5-13.
- 18) CORLISS, J. O. (1961).—*The ciliated protozoa*. Pergamon Press, London.
- 19) CRAIG, CH. y FAUST, E. (1951).—*Parasitología clínica*. Edit. Hispano Americana. México.
- 20) CRAWLEY, H. (1923).—Evolution in the ciliate family Ophryoscolecidae. *Proc Acad. Nat. Sci.* **15**, 393-412.
- 21) DIAZ UNGRIA, C. (1960).—*Parasitología venezolana*. Edit. Sucre. Caracas.
- 22) DIPPELL, R. V. (1955).—A temporary stain for *Paramecium* and other ciliate protozoa. *Stain. Technol.* **30**, 69-71.
- 23) DOGIEL, V. A. (1926).—Sur quelques infusoires nouveaux habitant l'estomac de dromadaire (*Camelus dromedarius*). *Ann. Parasit. hum. comp.* **4**, 241-271.
- 24) DOGIEL, V. A. (1927).—Monographie der Familie *Ophryoscolecidae*. *Arch. Prostistenk.* **59**, 1-288.
- 25) DOGIEL, V. A. (1928).—La faune d'infusoire habitant l'estomac du buffle et du dromadaire. *Ann. hum. comp.* **6**, 323-338.
- 26) DOGIEL, V. A. (1947).—The phylogeny of the stomach-infusorians of ruminants in the light of paleontological and parasitological data. *Quart. J. Microscop. Sci. Sec.* **3**, 337-343.
- 27) EBERLEIN, R. (1895).—Über die in Wiederäuermagen vorkommenden ciliaten Infusorien. *Z. wiss. Zool.* **59**, 233-304.
- 28) EADIE, J. M. (1962).—Inter-relationships between certain rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.* **29**, 579-588.
- 29) FERBER, K. E. (1928).—Die Zahl und Masse der Infusorien in Pansen und ihre Bedeutung für den Eiweissaufbau beim Wiederkäuer. *Z. Tierzucht. u. Züchtungsbiologic.* **12**, 31-63.
- 30) FERBER, K. E. y WINOGRADOWA, F. (1929).—Zählung und Teilungsquote der Infusorien im Pansen der Wiederkäuer. *Biol. Zbl.* **49**, 321-328.
- 31) FERNANDEZ-GALIANO, D. (1949).—Sobre el aparato neuromotor y otras estructuras protoplasmáticas de *Ophryoscolex purkinjei*, Ste n. *Trab Inst. Cienc. Nat. "José de Acosta"*. *C. S. I. C.* **2**, 257-302.

- 32). FERNANDEZ-GALIANO, D. (1951).—Los sistemas fibrilares de las especies del género *Balantidium*. I. *Balantidium elongatum*. *Trab. del Inst. Cienc. Nat. José Acosta*. Serie Biológica. C. S. I. C. Madrid.
- 33) FERNANDEZ-GALIANO, D. (1955).—El aparato neuromotor del *Eudiplodinium magii*, Fior. *Bol. Real. Soc. Esp. Hist.* **53**, 53-70.
- 34) FERNANDEZ-GALIANO, D. (1958).—La infraciliación en *Polyplastron multivesiculatum* y su génesis durante la división del ciliado. *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat.* **56**, 89-102.
- 35) FERNANDEZ-GALIANO, D. (1959).—La infraciliación en *Cycloposthium edentatum*, Strelkow. *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat.* **57**, 139-150.
- 36) FIORENTINI, A. (1889).—In torno ai protisti dello stomaco dei bovini. *Pavia. Frat. Fusi.* **27**, 6-34.
- 37) GAUMONT, R. y RAYNAUD, P. (1962).—La culture in vitro des Ciliés commensaux du rumen du mouton. *C. R. Acad. Sci.* **254**, 3.131-3.133.
- 38) GRUBY, D. y DELAFOND, O. (1843).—Recherches sur des animalcules se développant dans l'estomac et dans les intestins pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. *C. R. Acad. Sci.* **17**, 1.304-1.308.
- 39) GUTIERREZ, J. (1955).—Experiments on the culture and physiology of holotrichs from bovine rumen. *Biochem. J.* **60**, 516-522.
- 40) HASSELMAN, G. (1918).—Sobre os ciliados intestinaes dos mamíferos. *Brazil. med.* **32**, 27-34.
- 41) HEALD, P. J. y OXFORD, D. A. (1953).—Fermentation of soluble sugars by anaerobic holotrich ciliate protozoa of the genera *Isotricha* and *Dasytricha*. *Biochem. J.* **53**, 506-512.
- 42) HOARE, C. A. (1949).—*Handbook of medical protozoology*. Baillière, Tindall and Cox Ltd. London.
- 43) HONIBERG, B. M. y col. (1964).—A revised classification of the Phylum Protozoa. *J. Protozool.* **11**, 7-20.
- 44) HOWARD, B. M. (1957).—Biochemical studies of individual Genera of rumen holotrich protozoa. *Biochem. J.* **67**, 18. P. of Proceeding.
- 45) HOWARD, B. H. (1959).—The biochemistry of rumen protozoa. I. Carbohydrate fermentation by *Dasytricha* and *Isotricha*. II Some carbohydrases in cell-free extracts of *Dasytricha* and *Isotricha*. *Biochem. J.* **71**, 671-680.
- 46) HUNGATE, R. E. (1943).—Further experiments on cellulose digestion by the protozoa in the rumen of cattle. *Biol. Bull.* **84**, 157-163.
- 47) HUNGATE, R. E. (1955).—Mutualistic intestinal protozoa. En HUNTER, S. H. y LWOFF, A. (ed.) *Biochemistry and Physiology of protozoa*. Academic Press.. Inc. Nueva York.
- 48) KOFOID, C. A. (1935).—On two remarkable ciliate protozoa from the caecum of the Indian elephant. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **21**, 501-506.
- 49) KOFOID, C. A. y MACLENNAN, R. F. (1930).—Ciliates from *Bos indicus* Linn. I. The genus *Entodinium*, Stein. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **33**, 471-544.
- 50) KOFOID, C. A. y MACLENNAN, R. F. (1932).—Ciliates from *Bos indicus* Linn. II. A. Revision of *Diplodinium* Schuberg. *Univ. Cal. Publ. Zool.* **37**, 53-152.
- 51) KOFOID, C. A. y MACLENNAN, R. F. (1933).—Ciliates from *Bos indicus* Linn. III. *Epidinium* Crawley, *Epiplastron* gen. nov. and *Ophryoscolex* Stein. *Univ. Cal. Publ. Zool.* **39**, 1-34.
- 52) KUDO, R. (1954).—*Protozoology*. 4.^a ed. Charles C. Thomas Publisher. Springfield. Illinois. U. S. A.
- 53) LAULANIE, B. P. T. (1905).—*Elements de physiologie*. (citado por CHAVARRIA, 1933).
- 54) LEVINE, N. D. (1961).—*Protozoan parasites of domestic animals and of man*. Burgess Publishing Company. Minnesota. U. S. A.
- 55) LUBINSKY, G. (1957).—Studies on the evolution of the *Ophryoscolecidae* (Ciliata: Oligotricha). I. A new species of *Entodinium* with “caudatum”, “loboso-spinosum”, and “dubardi” forms, and some evolutionary trends in the genus *Entodinium*. II. On the origin of the higher *Ophryoscolecidae*. III. Phylogeny of the *Ophryoscolecidae* based on their comparative morphology. *Canad. J. Zool.* **35**, 111-113, 135-140, 141-159.
- 56) LUBINSKY, G. (1958).—*Ophryoscolecidae* (Ciliata: Entodiniomorphida) of reindeer (*Rangifer tarandus* L.). from the Canadian Arctic. I. *Entodiniinae*. II. *Diplodiniinae*. *Can. J. Zool.* **36**, 819-835, 937-959.
- 57) LUBINSKY, G. (1963).—Microtechnical methods for taxonomic studies on the *Ophryoscolecidae*. *Canad. J. Zool.* **41**, 905-907.
- 58) MACARDLE, E. W. (1959).—The preparation of ciliates for nuclear staining by embedding in albumin. (Abstr.). *J. Protozool.* **6** (Suppl.), 12-13.

- 59) MAH, R. A. (1962).—Experiments on the culture and physiology of *Opryoscolex purkinjei*. Doctoral Thesis, Univ. Calif. Davis. Calif.
- 60) MANGOLD, E. (1929).—Handbuch der Ernährung und des Stoffwchsels der Landwirtschaftlichen Nutztiere. Band II. 156-182. Julius Springer, Berlin.
- 61) MANGOLD, E. y SCHMITT-KRAHMER, C. (1927).—Die Stickstoffverteilung in Pansen der Wiederkäuer bei Fütterung und Hunger und ihre Beziehung zu den Pansen Infusorien. *Biochem. Zeitschr.* **191**, 411-422.
- 62) MARCOS BARRADO, A. (1964).—Estudios in vitro sobre el efecto ejercido por el clorhidrato de 2-cloro-10-(3-dimetilaminopropil)-fenotiazina en algunas actividades metabólicas de los microorganismos del rumen. Tesis Doctoral. Fac. Vet. Zaragoza. España.
- 63) MOIR, R. J. (1951).—The seasonal variation in the ruminal microorganisms of grazing sheep. *Austr. J. Agric. Res.* **2**, 322-330.
- 64) MOIR, R. J. y SOMERS, M. (1956).—A factor influencing the protozoal population in sheep. *Nature. (Lond.)* **178**, 1472.
- 65) MOIR, R. J. y SOMERS, M. (1957).—Ruminal flora studies. VIII. The influence of rate and method of feeding a ration upon its digestibility, upon ruminal function and upon the ruminal population. *Austr. J. agric. Res.* **8**, 253-265.
- 66) MOWRY, H. A. y BECKER, E. R. (1930).—Experiments on the biology of infusoria inhabiting the rumen of goats. *Iowa State College J. Sc.* **5**, 35-60.
- 67) NEVEU-LEMAIRE, M. (1943).—*Traité de Protozoologie médicale et vétérinaire*. Vigot Frères, Editeurs. París.
- 68) OCARIZ, J. (1963).—Una técnica que permite microfotografías correctas de los protozoarios de la panza. *Rev. Patronato Biol. An.* **7**, 5-15.
- 69) OXFORD, A. E. (1955).—The rumen ciliate protozoa: their chemical composition, metabolism requirements for maintenance and culture, and physiological significance for the host. *Exp. Parasitol.* **4**, 569-605.
- 70) OXFORD, A. E. (1958).—Some observations on the culture of the cattle rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* Crawley, occurring in quantity in cows fed on red clover. (*Trifolium pratense* L.). *New Zealand J. Agr. Res.* **1**, 809-824.
- 71) POLJANSKY, C. y STRELKOW, A. (1938).—Stude experimentale sur la variabilité de quelques Ophryoscolecidés. *Arch. Zool. Exp. et Gen.* **80**, 1-123.
- 72) PURSER, D. B. y MOIR, R. J. (1959).—The effect of pH on the ciliate population of the rumen in vivo. *Austral J. Agr. Res.* **10**, 555-564.
- 73) PURSER, D. B. (1961).—A diurnal cycle for Holotrich protozoa of the rumen. *Nature (Lond.)* **190**, 831-832.
- 74) QUIN, L. Y., BURROUGHS, W. y CHRISTIANSEN, W. C. (1962). Culture medium studies. *Appl. Microbiol.* **10**, 580-592.
- 75) REY CALERO, J. y GUTIERREZ, M. (1961).—Coloración rápida de protozoos con el pancromo azul G-239. *Rev. Iber. Paras.* **21**, 193-196.
- 76) SCHLOTTKE, E. (1936).—Untersuchungen über die Verdauungsfermente von Infusorien aus dem freien Wasser un aus den Rinderpansen. *Sitzber. Naturf. Ges. Rostoch.* **6**, 59-66.
- 77) SCHUBERG, A. (1883).—Die Protozoen des Wiederkäurmagens *Bütschlia*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*. *Zool. Jahrb.* **3**, 365-418.
- 78) SCHWARZ, (1925).—Die Ernährungs physiologische Bedeutung des Mikroorganismen in den Vormägen der Wiederkäuer. *Biochem. Zeitschr.* **156**, 130-137.
- 79) SHARP, R. G. (1914).—*Diplodinium ecaudatum* with an account of its neuromotor apparatus. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **13**, 43-122.
- 80) SPISNI, D. (1954).—Gli infusori ciliati del rumine di pecora e di capra alimentati con foglie di cavolfiore (*Brassica oleracea*, var. *Batrylis*). *Ann. Fac. Med. Vet. Pisa.* **7**, 259-268.
- 81) STEIN, F. (1858).—Ueber mehrere neue im Pansen der Wiederkäuer lebende Infusionstiere. *Abh. Böhm. Ges. Wiss.* **10**, 69-70.
- 82) STEIN, F. (1859).—Characteristik neuer Infusoriengattungen. *Lotos.* **1**, 57-60.
- 83) SUGDEN, B. y OXFORD, E. (1952).—Some cultural studies with holotrich ciliate protozoa of the sheep's rumen. *J. Gen. Microbiol.* **7**, 145-153.
- 85) TRIER, H. J. (1928).—Der Kohlehydratstoffwechsel der Panseninfusorien und die Bedeutung der grünen Pflanzenteile für diese Organismen. *Z. Verg. Physiol.* **4**, 305-330.

- 86) TURNER, H. J. (1954).—An improved method of staining the external organelles of hypotrich. *J. Protozool.* **1**, 18-19.
- 87) USUELLI, F. (1930).—Gli infusori ciliati che vivono nell'apparato digerente degli Erbivori. *La Clínica Veterinaria*. **53**, 543-569, 625-645, 787-805.
- 88) VAN DER WATH, J. G. y MYBURGH, S. J. (1941).—Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. VI. The role of infusoria in ruminant bacteria. *Onderstepoort J. Vet. Sci.* **17**, 61-88.
- 89) WARNER, A. C. I. (1962a).—Enumeration of rumen microorganism. *J. Gen. Microbiol.* **28**, 119-128.
- 90) WARNER, A. C. I. (1962b).—Some factores influencing the rumen microbial population. *J. Gen. Microbiol.* **28**, 129-146.
- 91) WESTPHAL, A. (1934).—Studien ueber *Ophryoscolecidae* in der Kultur. *Z. Parasitenk.* **7**, 71-117.
- 92) WILLIAMS, P. P., DAVIS, R. E., DOETSCH, R. N. y GUTIERREZ, J. (1961).—Physiological studies of the rumen protozoan *Ophryoscolex caudatus* Eberlein. *Appl. Microbiol.* **9**, 405-409.

IX. ILUSTRACIONES.

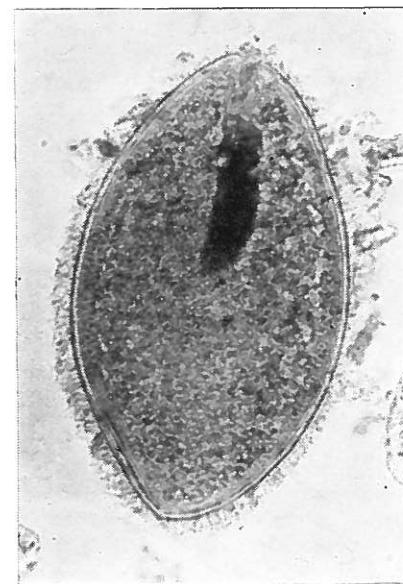


Fig. 1
Isotricha prostoma
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 2
Isotricha intestinalis
Hem. de Mayer 465 ×

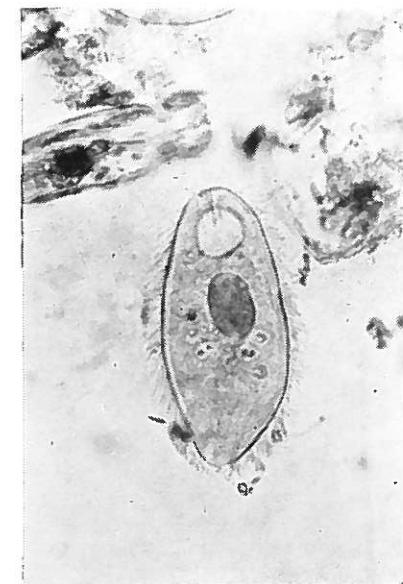


Fig. 3
Dasystricha ruminantium
Tec. de Dippell 465 ×

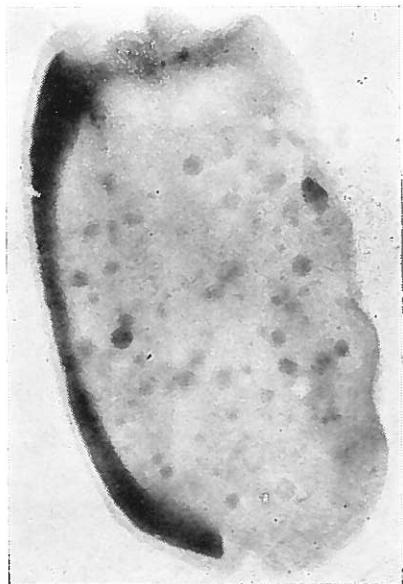


Fig. 4
Entodinium longinucleatum
Hem. de Mayer 1025 ×



Fig. 5
Entodinium vorax
Hem. de Mayer 465 ×



Fig. 6
Entodinium nanellum
Hem. de Mayer 465 ×



Fig. 9
Entodinium furca v. *diloba*
Hem. de Mayer 1025 ×



Fig. 10
Entodinium caudatum
Tec. de Dippell 1025 ×



Fig. 7
Entodinium dubardi
Hem. de Mayer 1025 ×



Fig. 8
Entodinium loboso-spinosum
Hem. de Mayer 1025 ×

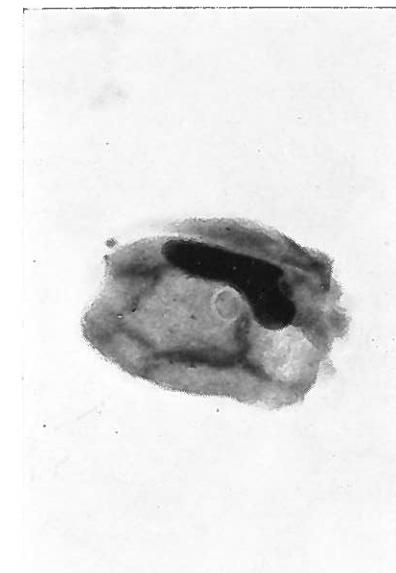


Fig. 11
Diplodinium anacanthum
Hem. de Mayer 465 ×

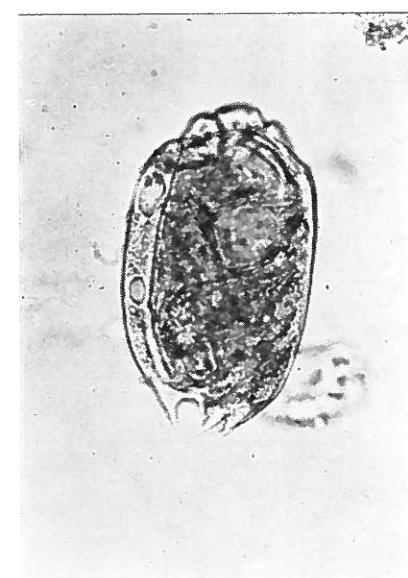


Fig. 12
Diplodinium quinquecaudatum
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 13
Diplodinium anisacanthum
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 14
Eudiplodinium magii
Hem. de Mayer 465 ×

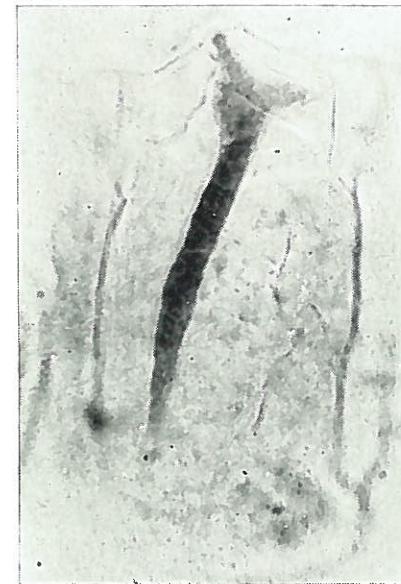


Fig. 17
Eremoplastron bovis
Sol. Yodada de Weigert
Placa esquelética 1025 ×



Fig. 18
Eremoplastron dilobum
Tec. de Dippell 465 ×

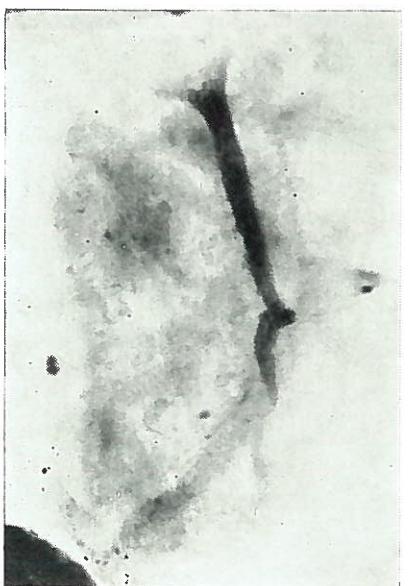


Fig. 15
Eudiplodinium magii
Sol. yodada de Weigert
Placa esquelética 465 ×

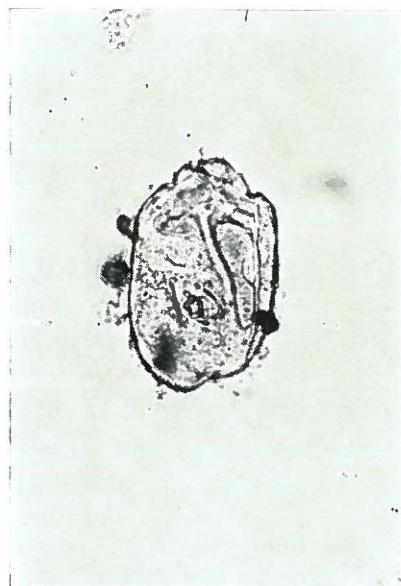


Fig. 16
Eremoplastron bovis
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 19
Diploplastron affine
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 20
Diploplastron affine
Sol. yodada de Weigert
Placas esqueléticas 465 ×



Fig. 21
Metadinium tauricum
Hem. de Mayer 1025 ×



Fig. 22
Polyplastron multivesiculatum
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 23
Polyplastron multivesiculatum
Sol. yodada de Weigert
Placas esqueléticas (5) 465 ×

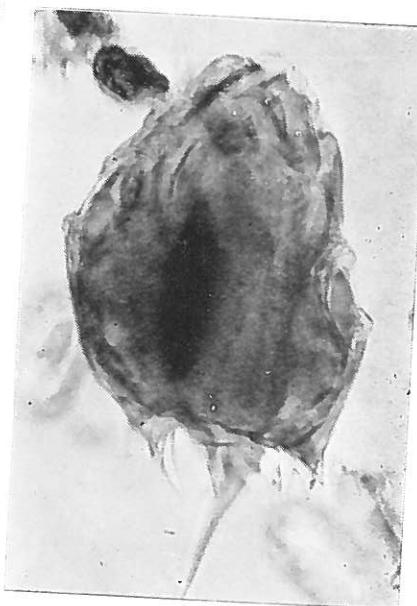


Fig. 24
Ophryoscolex buissoni
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 25
Ophryoscolex caudatus bicoronatus
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 26
Ophryoscolex caudatus tricoronatus
Hem. de Mayer 465 ×



Fig. 27
Ophryoscolex caudatus tricoronatus
Sol. yodada de Weigert
Placas esqueléticas 465 ×



Fig. 28
Ophryoscolex caudatus quadricoronatus
Hem. de Mayer 465 ×

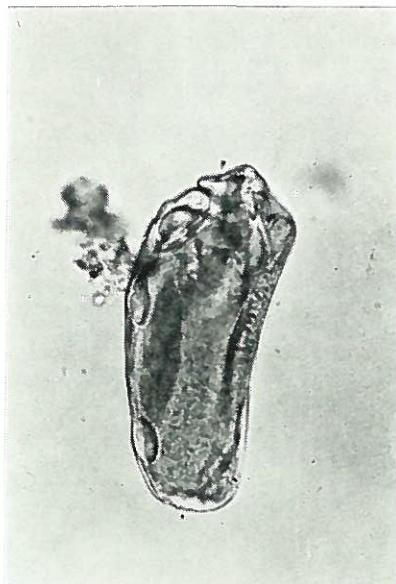


Fig. 29
Epidinium ecaudatum f. *ecaudatum*
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 30
Epidinium ecaudatum f. *hamatum*
Tec. de Dippell 465 ×

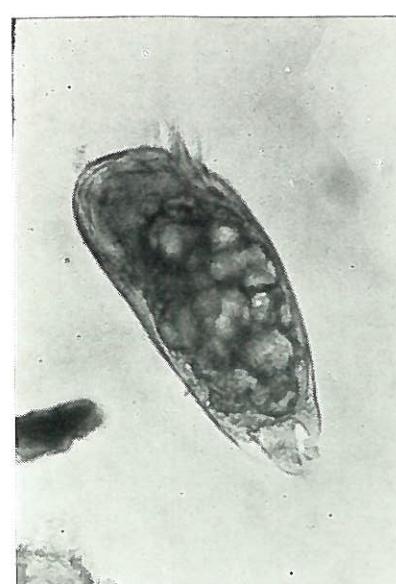


Fig. 33
Epidinium ecaudatum f. *tricaudatum*
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 34
Epidinium ecaudatum f. *tricaudatum*
Tec. de Dippell 1025 ×

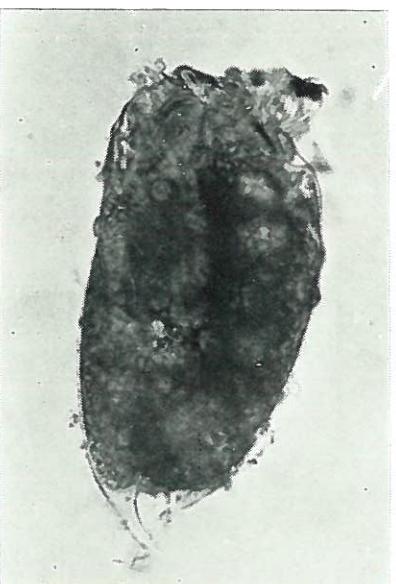


Fig. 31
Epidinium ecaudatum f. *bicaudatum*
Tec. de Dippell 465 ×



Fig. 32
Epidinium ecaudatum f. *bicaudatum*
Tec. de Dippell 1025 ×



Fig. 35
Epidinium ecaudatum f. *cattaneoi*
Tec. de Dippell 465 ×

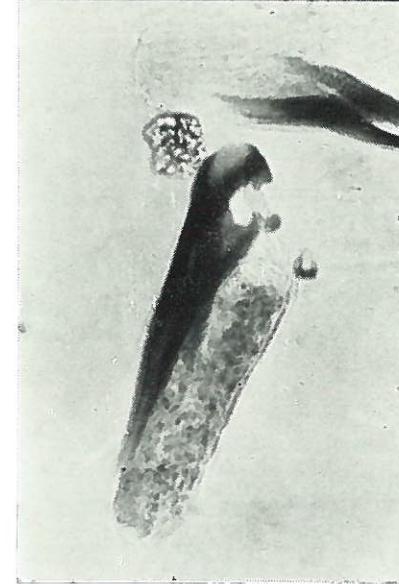


Fig. 36
Epidinium spp.
Sol. yodada de Weigert
Placas esqueléticas 465 ×

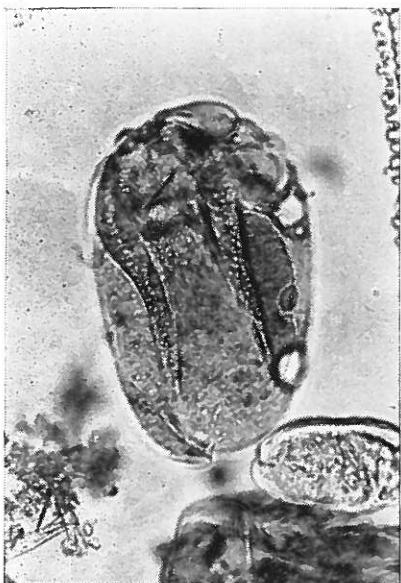


Fig. 37
Enoploplastron triloricatum
Tec. de Dippell 465 ×

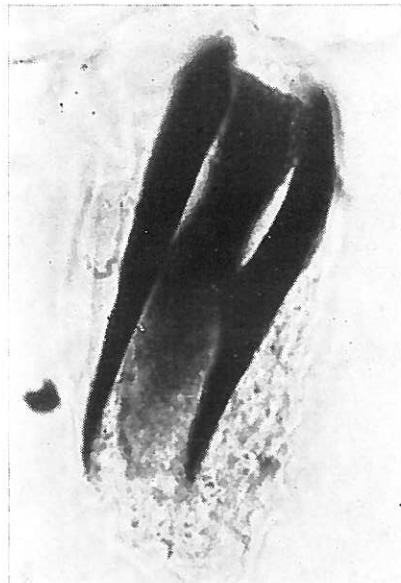


Fig. 38
Enoploplastron triloricatum
Sol. yodada de Weigert
Placas esqueléticas 1025 ×