



REVISIÓN [REVIEW]

QUIMIOTAXIS BACTERIANA Y FLAVONOIDES: PERSPECTIVAS PARA EL USO DE PROBIOTICOS.

[BACTERIAL CHEMOTAXIS AND FLAVONOIDS: PROSPECTS FOR THE USE OF PROBIOTICS]

Mónica Marcela Galicia-Jiménez*¹, Carlos Sandoval-Castro²,
Rafael Rojas-Herrera³, Héctor Magaña-Sevilla⁴

¹*Instituto de Genética. Universidad del Mar. Campus Puerto Escondido. Ciudad Universitaria, Carretera Vía Sola de Vega, Puerto Escondido, San Pedro Mixtepec, Juquila, Oax., México C.P. 71980. E-mail: monicagalicia@zicatela.umar.mx*

²*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Carretera a Xmatkuil Km. 15.5 Apartado Postal núm. 116 CP 97315*

³*Facultad de Ingeniería Química, Campus de Ingenierías y Ciencias Exactas, Universidad Autónoma de Yucatán Periférico Norte Kilometro 33.5, Tablaje Catastral 13615, Col. Chuburna de Hidalgo Inn, C.P. 97203.*

⁴*Instituto Tecnológico de Conkal. Km. 16.3 Antigua Carretera Mérida-Motul. C.P. 97345*

* Corresponding author

RESUMEN

La aplicación de diversas dietas se han enfocado en buscar mayor producción en los rumiantes variando el alimento del animal, afectando así la población microbiana ruminal, sin embargo, la eficacia en la producción del rumiante ha sido reportada de manera inconsistente. Por otro lado, se han realizado estudios de metabolitos secundarios secretados por plantas y se ha visto que tienen una función de atrayente o repelente en la interacción planta-microorganismo. Por lo que nuestro objetivo es integrar el conocimiento de interacción bacterias ruminales-partículas del forraje usado como alimento y los flavonoides como estimulantes en el movimiento flagelar. De este modo, comprender las vías de señalización utilizadas por las bacterias del rumen para la colonización de las partículas de alimentos y la degradación del mismo. E implementar programas de investigación usando herramientas genómicas que nos ayuden a descubrir genes quimiotácticos en bacterias ruminales que contribuyan en dilucidar principios que rigen la comunicación de las poblaciones microbianas, sus principales interacciones y productos del metabolismo microbiano, y así se podrían plantear la manipulación de la fermentación ruminal, creando los cultivos probióticos para el ganado vacuno.

Palabras clave: Quimiotaxis; Flavonoides; Rumen; Bacterias; Probióticos.

SUMMARY

The application of different diets have focused on seeking greater production in the ruminant animal feed varies, thus affecting rumen microbial population, however, the production efficiency of ruminants has been reported inconsistently. Furthermore, studies have been conducted secondary metabolites secreted by plants and has been having a function of attractant or repellent in plant-microbe interactions. So our goal is to integrate knowledge of rumen bacteria-particle interactions of forage used for food and flavonoids as stimulants in the flagellar movement. Thus, understanding the signaling pathways used by rumen bacteria to colonize food particles and degradation. Research and implement programs using genomic tools to help us discover chemotactic genes in rumen bacteria that contribute to elucidate principles governing the communication of microbial populations, their interactions and main products of microbial metabolism, and thus could raise the handling of ruminal fermentation, creating the probiotic cultures for cattle.

Keywords: Chemotaxis; Flavonoids; Rumen; Bacteria; Probiotics.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son capaces de comunicarse entre ellas y con otros organismos por estímulos, los cuales, son liberados al ambiente y las células bacterianas cercanas a la inducción lo traducen e informan a otras células bacterianas como respuesta a él. Por medio de estas moléculas señal las bacterias son capaces de regular su propia densidad poblacional y coordinar la expresión de genes en la comunidad bacteriana. Sin embargo, las prácticas modernas en la alimentación del animal no consideran este diálogo molecular que se lleva a cabo entre las bacterias y el ambiente ruminal y se han enfocado en buscar mayor producción en los rumiantes variando la dieta del animal, afectando la población microbiana ruminal (Brulc *et al.*, 2009).

Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal

El contenido bioquímico en plantas son parte de la dieta del rumiante y estos componentes bioactivos (polifenoles, fitoestrogenos, glicoalcaloides) son interesantes en la nutrición ruminal (Varel *et al.*, 1991; Hammes y Hertel 2002). Numerosos estudios hacen pensar la posibilidad de utilizarlos como aditivos de alimento naturales para proveer la eficiencia en la fermentación ruminal, aumentando la producción de proteínas y disminuyendo la producción de metano (Wang *et al.*, 2000; Muetzel *et al.*, 2003, Patra *et al.*, 2006). Zhou *et al.*, (2010) realizó un estudio donde observó una diferencia en la comunidad metanogénica ruminal cuando la dieta se cambió de una dieta baja en energía a una dieta de alta energía. Otros estudios mostraron que extractos de plantas o metabolitos secundarios (saponinas, taninos y aceites esenciales) modifican la población ruminal. (Goel *et al.*, 2008) mostró un incremento de la población de *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes* al utilizar un suplemento con extractos de *Carduus pycnocephalus*, *Sesbania sesban*, *Knautia arvensis* and semillas de fenogreco (*Trigonella foenum-graecum* L.). Así mismo, Muetzel *et al.*, (2003) al utilizar hojas de *S. pachycarpa in vitro* observaron un incremento en *R. flavefaciens*. Wang *et al.*, (2000) también observó un incremento de la densidad poblacional de *F. succinogenes* al utilizar suplementos con saponinas de yucca mostraron que el ácido fenilpropanoico estimula el crecimiento de *Ruminococcus albus* 8. Duval *et al.*, (2007) observó que la colonización se vio afectada significativamente por el sustrato sustratos ricos en almidón.

Estudios recientes han utilizado herramientas moleculares para investigar los perfiles de las bacterias como es el caso de Klieve *et al.*, (2007) al identificar bacterias dominantes en cebada siendo *Ruminococcus bromii* la predominante. O Tajima *et al.*, (2001) utilizó

PCR tiempo real para observar la dinámica de *F. succinogenes* y *R. flavefaciens* al variar la dieta de los rumiantes, observando que la cantidad de ADN de *F. succinogenes*, se redujo 20 veces en el tercer día del cambio a una dieta de granos y se redujo aún más el día 28, en relación con la concentración de ADN de *R. flavefaciens* en el día 3 se redujo a aproximadamente el 10% de su valor inicial en los animales en la dieta de heno y se mantuvo en este nivel hasta el día 28.

Krause *et al.*, (2004) utilizó microarreglos de los genomas de la comunidades bacterianas para evaluar los efectos de *Acacia angustissima* el rumen. Las dietas que utilizaron fueron: (1) dieta basal 50% pasto Rhodes, más el 50% de alfalfa por un período de 30 días, (2) paso a paso la adaptación (13 días) para *A. angustissima* mediante la sustitución de 50 g por día de la alfalfa por *Acacia* hasta el 37% (RLA), (3) RLA más de 60 g por día de polietilenglicol (PEG; mol masa 4000) (RLAP) durante 10 días, y (4) de vuelta a la dieta basal de 50% de pasto Rhodes, más el 50% de alfalfa durante 10 días. En el caso de Northern blot se observó un aumento en la abundancia de *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*, cuando *Acacia* fue añadida a la dieta (4.3 a 9.5% para ambos *Ruminococcus* y 1.7 a 5.6% para *Fibrobacter*) y hubo pocos cambios en estas dos poblaciones cuando PEG fue agregado a la dieta. A diferencia de los microarreglos mostraron una disminución significativa ($P < 0.05$) de *Ruminococcus*, pero no en *Fibrobacter*, cuando PEG fue agregado a la dieta.

Fernando *et al.*, (2010) evaluó la dinámica de la población bacteriana durante la adaptación a una dieta alta en grano, conteniendo granos y heno en proporciones de 20:80, 40:60, 60:40 y 80:20. Los animales alimentados con heno contenían un número mayor de bacterias que pertenecen al phylum de Fibrobacteres, mientras los animales alimentados con granos contenían un número mayor de bacterias que pertenecen al phylum Bacteroidetes. Ya en el análisis de PCR tiempo real detectaron aumentos significativos en *Megasphaera elsdenii*, *Streptococcus bovis*, *Selenomonas ruminantium* y *Prevotella bryantii* durante la adaptación de la dieta de alto concentrado de grano, mientras que el *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Fibrobacter succinogenes* disminuyó gradualmente.

Hernandez-Sanabria *et al.*, (2010) al investigar la interacción entre la microflora ruminal y el huésped mediante la correlación de diversidad bacteriana con las mediciones de fermentación y los rasgos de la eficiencia alimenticia, incluyendo el consumo de materia seca, alimento tasa de conversión, ganancia diaria de peso, y el consumo de alimento residual. Los resultados sugieren que las bacterias y su metabolismo en el rumen pueden contribuir a las diferencias en la eficiencia de acogida de piensos bajo una dieta baja en

energía. Por otro lado, Yang *et al.*, (1999) sugiere que los compuestos isoflavonoides pueden afectar la actividad microbiana y su metabolismo al aumentar los niveles de testosterona en la sangre y en el rumen. Yao *et al.*, (2004) detectaron cambios en la composición de la microbiota ruminal al suplementar este flavonoide en cabras, Zhu *et al.*, (2002) también notó el efecto directo de la daidzeína en la actividad microbiana ruminal mediante técnicas *in vitro*.

China es el país que se ha enfocado a este tipo de estudios y han mostrado efectos positivos de este isoflavonoide en el crecimiento animal, como es el caso de Guo *et al.*, (2002) donde realizó estudios en cerdos machos castrados, proporcionándoles una dieta complementada con daidzeína mostró un aumento de peso del 59% y los niveles de IGF-1 y testosterona se elevaron en un 51% y 18%, respectivamente.

Microorganismos intestinales desempeñan un papel importante en el metabolismo del isoflavona en el intestino de los animales (Schoefer *et al.*, 2002; Blaut *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010) y, en consecuencia influye en el destino metabólico de las isoflavonas. A su vez, los isoflavonoides o sus metabolitos afectan la actividad microbiana del intestino (Rafii *et al.*, 2003).

Nosotros buscamos y cuantificamos daidzeína en 9 plantas con potencial forrajero, encontrando este flavonoide en 4 plantas (datos no publicados). Así mismo, se realizó ensayos de quimiotaxis hacia la daidzeína encontrando 3 especies de bacterias

ruminales que fueron atraídas por este isoflavonoide (datos no publicados).

Claramente, las investigaciones sugieren que los isoflavonoides tienen un gran potencial para su uso en suplementos prebióticos en la alimentación animal en el futuro. Sin embargo, la aclaración del mecanismo de acción de la daidzeína en microorganismos requiere más estudios.

Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas, están compuestos por una red de 15 carbonos, los cuales consisten de dos anillos fenil (anillo A, derivado de la cadena policetídica, anillo B, derivado del ácido shikímico) conectado por un tercer anillo (C) correspondiente a la parte alquímica del fenilpropano (Winkel-Shirley, 2002). También pueden encontrarse unidos a azúcares, preferentemente a la posición C3 y con menor frecuencia al C7 del anillo A, de forma que estos compuestos se encuentran comúnmente como O-glicósidos, siendo la D-glucosa el residuo azúcar más frecuente. Otros residuos de azúcares son la D-galactosa, la L-ramnosa, la L-arabinosa, la D-xilosa, así como el ácido D-glucurónico (Selma *et al.*, 2009). Los flavonoides se dividen en varias clases (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de flavonoides (Escamilla *et al.*, 2009, Hodgson *et al.*, 2008)

Clases	Subclases	Ejemplos
Flavonoides (2-fenilbenzopiranos)		
	Flavan	catequina
	Flavonol	(+)-catequina, (+)-gallocatequina, (-)-epicatequina, (-)-epiquetina-3-gallete, (-)-epigallocatequina-3-gallete
	Antocianinas	Pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, peturidina
	Flavanonas	Eriodictiol, hesperetina, naringenina, diosmetina
	Flavonas	Apigenina, luteolina, acetina, epigenina
	Flavonoles	Isoramnetina, Kampferol, Quercetina, Mircetina
	Flavan-3-ol	Taninos condensados
	Flavan-3,4-diol	
Isoflavonoides (3-benzopiranos)		
	Isoflavana	Daidzeína, genisteína, gliciteína, Biocanina A, formononetina
	Isoflavanona	Lespedol
	Isoflavonol	Anbanol
Flavonoides menores		
	Aurona	Sulfuretina, letosidina

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en plantas vasculares y briofitas, y han sido reportados 5,000 tipos de flavonoides como constituyentes naturales, por lo que podemos encontrarlos en los forrajes (Tabla 2) que sirven de alimento a los rumiantes. Estos metabolitos secundarios se encuentran abundantemente en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como son: hojas, frutos y flores, ya que la luz solar favorece su síntesis, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre (Formica y Regelson, 1995).

Los flavonoides y la quimiotaxis

Además están implicados en interacciones directas con el transporte y la vía de traducción de señales, en la regulación transcripcional, en la expresión de genes endógenos. Otra función importante de los flavonoides se ha observado en la interacción planta-microorganismo, donde ellos tienen el papel principal como molécula señal repelente o atrayente de bacterias patógenas o benéficas, respectivamente (Tabla 3).

Tabla 2. Componentes de los flavonoides en leguminosas y gramíneas.

Nombre científico	Clase o componente de flavonoides	Referencia
<i>Lonchocarpus subglauscens</i>	Flavonas, flavonoles, isoflavonas, rotenoides, chalconas y flavanoles	Ngadjui y Abegaz, 2003
<i>Milletia thonningii</i>	Flavona	Perrett <i>et al.</i> , 1995
<i>Lotus japonicus</i>	Isoflavonas	Akashi <i>et al.</i> , 2006
<i>Medicago sativa</i>	Biotina, tiamina y riboflavina	Streit <i>et al.</i> , 1996
<i>Lolium multiflorum lam.</i>	Flavonoides	Ponce <i>et al.</i> , 2009
<i>Deschampsia antarctica D borealis</i>	Flavonoides	Vandestaaij <i>et al.</i> , 2002
<i>Calamagrostis epigeios</i>		
<i>Sorghum vulgare Pers. grains</i>	Antocianinas	Stafford, 1970
<i>Saccharum officinarum L.</i>	Agliconas y glicosidos	Colombo <i>et al.</i> , 2006
<i>Acacia farnesiana</i>	glicosido; naringerina, quercetina	Barakat <i>et al.</i> , 1999
<i>Erythrina variegata</i>	Isoflavonoide	Sato <i>et al.</i> , 2003
<i>Moringa oleifera</i>	Kaempferol, quercetina	Verma <i>et al.</i> , 2009

Tabla 3. Flavonoides y quimiotaxis

Flavonoide	Microorganismo	Mecanismo de acción	Referencia
Biotina, tiamina y riboflavina	<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar phaseoli	Simbiosis: Fijación de nitrógeno	Streit <i>et al.</i> , 1996
Naringenina, leutolina, eriodictiol y daidzeina	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Simbiosis: Fijación de nitrógeno	Peck <i>et al.</i> , 2006
Naringenina, daidzeina, genisteina y epigenina	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Colonización intracelular de raíz de trigo	Jain y Gupta, 2003
Naringenina y liquiritigenina	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Coloniza el xilema de <i>Arabidopsis thaliana</i>	Gough <i>et al.</i> , 1997
Daidzeína y naringenina	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	promueven la colonización de a la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	

Cabe recalcar que todas las interacciones planta-microorganismo o huésped-parásito implica un reconocimiento mutuo entre sustancias secretadas por la planta o el huésped y por el microorganismo, es decir, un diálogo molecular donde se intercambian señales. En todas las interacciones ya sean benéficas o patógenas están involucrados 2 mecanismos (adherencia y quimiotaxis).

Adherencia en las bacterias ruminales

En 1993, Pell y Schofield (Citado en Miron *et al.*, 2001) describieron en 4 fases el proceso de adhesión que ocurre en el rumen. Fase I el transporte de bacterias al sustrato fibroso, la adhesión depende de las bacterias de vida libre que se encuentran suspendidas en el fluido ruminal, del tamaño de las partículas del alimento, de condiciones ambientales. Fase II adhesión inicial no específica, esta fase es iniciada cuando la bacteria se encuentra cerca al sustrato (2 a 5 nm) esta atracción se realiza por fuerza de Van der Waals, fuerzas hidrofóbicas, iónicas e interacción hidrostática entre la bacteria y el sustrato sólido, es una combinación de procesos reversibles e irreversibles sin que se involucren alguna adhesina o ligando con el receptor de sustrato (Miron *et al.*, 2001). Estudios como el de Morris, 1988, muestran que los primeros minutos después de la digesta existe el contacto entre bacterias y sustrato sólido, en especies de *Ruminococci* la adhesión ocurre dentro de 1 a 5 min después de la digesta, *F. succinogenes* ocurre dentro de 15 a 30 min. (Gong y Forsberg, 1989).

Fase III adhesión específica, en esta fase el proceso se lleva a cabo por el cual ligandos o adhesinas superficiales de células bacterianas reconocen al receptor del tejido del sustrato. Miron *et al.*, (2001) muestran células de *F. succinogenes*, *R. albus*, y *R. flavefaciens* adheridas a pared celular de plantas formando agregados bacterianos, formándose varias horas después de ser incubados. Estos autores sugieren que durante el inicio de la digestión del polisacárido de la pared celular existen señales que estimulan la adherencia bacteriana (Miron *et al.*, 2001).

Fase IV proliferación y colonización a los tejidos de los sustratos forrajeros, en esta fase, como dice el nombre las bacterias adheridas al sustrato proliferan y crean colonias en sitios potencialmente digerible (Miron *et al.*, 2001). Así mismo, Shinkai y Kobayashi (2007) utilizando la técnica de Hibridación Fluorescente *in situ* (FISH) encontró que *R. flavefaciens* coloniza los bordes de los hoyos formados durante la digestión de la vaina de la hoja, mientras que *F. succinogenes* únicamente se encontró presente en el tallo menos degradado. Estos hallazgos indican claramente las funciones fibrolíticas muy potente de estas dos especies, a pesar de que cada especie tiene su propia preferencia por los tejidos vegetales en particular como un sustrato de crecimiento.

Si constan evidencias de la existencia de uno de los mecanismos de interacción (la adherencia) entre la partícula del alimento y las bacterias ruminales celulolíticas, es muy probable que se encuentre el segundo mecanismo (la quimiotaxis) en esta comunicación molecular.

Quimiotaxis bacteriana

La quimiotaxis es un mecanismo por el cual la bacteria responde eficientemente y rápidamente a cambios en la composición química en su ambiente. La quimiotaxis al igual que otras taxis (Tabla 4) permite a la bacteria acercarse y permanecer en ambientes favorables y escapar de los hostiles. Este mecanismo es un movimiento activo y dirigido de la bacteria a través de un gradiente químico (Mowery *et al.*, 2008).

Tabla 4. Estímulos conocidos y respuestas funcionales en las bacterias (Stock *et al.*, 2002; Wolanin *et al.*, 2002)

Estimulo	Tipo de taxis
Oxígeno	Aerotaxi
Luz	Fototaxi
Altas concentraciones de sal o azúcar	Osmotaxi
Químico	Quimiotaxi
Temperatura	Termotaxi

Bases moleculares de la quimiotaxis

La quimiotaxis es uno de los sistemas de traducción de señales que controlan el movimiento más estudiado. Y las proteínas relacionadas en la quimiotaxis son ordenadas en cuatro grupos 1) reconocimiento y traducción de señal, 2) excitación, 3) adaptación, 4) supresión de señal (Tabla 5). Este sistema de traducción de señales se encarga de convertir un estímulo extracelular, ya sea ambiental o de una célula cercana, en una señal intracelular dirigida a producir una respuesta, esta respuesta puede ser acercarse o alejarse del gradiente químico.

Los estímulos son detectados por receptores (proteína quimiotáctica aceptora de grupos metilos; MCPs), cuando el estímulo (ligando) se une al receptor realiza un cambio conformacional en la proteína MCP, está a su vez traduce la información hacia el dominio de señalización intracelular y autofosforila la proteína histidinkinasa CheA, una vez fosforilada (CheA-P) es sustrato del regulador de respuesta Che Y, el resultante (Che Y-P) interacciona con el mecanismo del motor flagelar (FliM) que induce un cambio en la dirección de rotación del flagelo (favor de las manecillas del reloj; paro en el nado), conforme el aumento en la concentración del atrayente disminuye los niveles de Che Y-P, esto se ve reflejado en el nado de la bacteria hacia la condición favorable (Stock *et al.*, 2002; Szurmant y Ordal, 2004).

La quimiotaxis también se ha mostrado en los rumiantes como son el caso de como en hongos y protozoarios ruminales (Tabla 6), lo que es de esperar que exista en bacterias ruminales.

Tabla 5. Proteínas involucradas en la quimiotaxis (Szurmant y Ordal, 2004)

Proteína por categoría	Función	Comentario	Ubicación
Proteína aceptora de grupos metilo (MCPs)	Receptor	Reconocimiento y traducción de señal Se une al quimioefector y traduce la señal a CheA.	Universal entre bacterias y archaea quimiotacticas
CheD	Deamidasa glutamina	Maduración del receptor por deamidación de residuos de glutamina	En todas las archaea quimiotacticas, bacterias Gram positivas, Thermatoga y algunas proteobacterias.
Proteína de unión a ligandos	Reconocimiento de ligandos	Unión a quimioefectores y traductres de señales de los receptores	<i>E. coli.</i>
CheA	Histidina kinasa	Excitation Autofosforila un residuo de histidina, sustrato de Che Y y a otros reguladores de respuesta	Universal entre bacterias y archaea quimiotacticas
CheW	Coupling protein	Se une a CheA y a receptor	Universal entre bacterias y archaea quimiotacticas
CheY	Response regulator	Regulador de respuesta primario. Interactua con el mecanismo de movilidad induciendo un cambio en el comportamiento del motor flagelar.	Universal entre bacterias y archaea quimiotacticas
CheR	Metil transferasa	Adaptation Metila el residuo glutamato en MCPs, en el proceso de adaptación	Conservada en bacterias quimiotacticas y archaea a excepción de <i>H. pylori</i> , hasta ahora.
CheB	Metil esterasa	Hidrolza residues metil glutamate en MCPs, usualmente tiene dominio del reglador de respuesta	Conservada en bacterias quimiotacticas y archaea a excepción de <i>H. pylori</i> , hasta ahora.
CheV	Pareja y proteína adaptacional	Se une a CheA y al receptor. Dominio del regulador de respuesta pede ser fosforilado en la fase de adaptación.	En bacterias entericas como <i>S. entérica</i> serovar Typhimurium; pero no en <i>E. coli</i>
CheC	Fosfatasa y proteína adaptacional	Signal removal Hidrolza Che Y-P, probable papele en la adaptación	En todas las archaea quimiotacticas, bacterias Gram positivas, Thermatoga y algunas proteobacterias.
CheX	Probable fosfatasa	Homologo de CheC probablemente misma función.	En spirochetas, en algunas las archaea quimiotacticas, bacterias Gram positivas, Thermatoga y algunas proteobacterias. archaea
CheZ	Fosfatasa	Hidroliza CheY-P.	Proteobacteria
FliY	Fosfatasa y mecanismo flagelar	Homologo en N termial de CheC; hidroliza CheY-P; parte integral del mecanismo mecanismo flagelar	Bacterias Gram positivas, algunas spirochetas y Thermatoga

Tabla 6. Quimiotaxis en el rumen

Organismo	Atrayente	Referencia
<i>Isotricha intestinalis</i> , <i>I. prostoma</i>	Sacarosa, glucose, y fructose.	Wubah y Kim, 1996
<i>Neocallimastix frontalis</i>	Glucosa, galactosa, xylosa, fructose, manosa, L-sarbossa, sacarosa, rafinosa, manitol, sorbitol, fucosa y a.deoxy-glucosa.	Orpin y Bountiff, 1978

CONCLUSIÓN

Bases de datos para el análisis de genómica comparativa nos permitieron dilucidar la presencia de genes quimiotácticos en *Ruminococcus albus* que pudieran ser los responsables de un conjunto diverso de funciones de señalización como la formación de biofilm, adherencia y regulación de genes (Galicia Jiménez *et al.*, 2011) Aunado a esto *R. albus* mostró poseer una proteína de unión a celulosa (CBP) llamada CbpC, y presenta una homología con el pili tipo IV de bacterias Gram negativas (Chesson *et al.*, 1982; Hungate y Stack, 1982) este tipo de pilis se distingue de otros por su localización polar, secuencias conservadas de proteínas de ensamblaje pilinas y su papel en la movilidad (Rakotoarivonina *et al.*, 2005, Shinkai y Kobayashi, 2007) Que junto con el glicocalix (Rakotoarivonina *et al.*, 2005) están involucradas en la adhesión.

Dado que el fenómeno quimiotáctico ha sido poco estudiado en bacterias ruminales, la detección de genes responsables de la quimiotaxis en estos microorganismos, provee una herramienta en la disección molecular de este fenómeno en rumiantes. A partir del conocimiento de los principios que rigen la comunicación de las poblaciones microbianas, sus principales interacciones y productos del metabolismo microbiano se podrían plantear la manipulación de la fermentación ruminal, creando así los cultivos probióticos para el ganado vacuno (Holzapfel y Schillinger, 2002), actuando benéficamente en la flora intestinal del individuo.

REFERENCIAS

Akashi, T., S. Koshimizu, T. Aoki, and S. Ayabe. 2006. Identification of cDNAs encoding pterocarpan reductase involved in isoflavan phytoalexin biosynthesis in *Lotus japonicus* by EST mining. *FEBS*

Barakat H. H., Souleman A. M., Hussein S. A. M., O. Ibrahiem A., and Nawwar M. A. M. 1999. Flavonoid galloyl glucosides from the pods of *Acaciafarnesiana*. *Phytochemistry*. 51:3.

Blaut, M., Schoefer. L., and Braune A. 2003. Transformation of flavonoids by intestinal microorganisms. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 73:79-87.

Brulc JM, Antonopoulos DA, Miller MEB, Wilson MK, Yannarell AC, Dinsdale EA. 2009. Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America 106:1948-1953.

Chen Jie Yang, Guoyu Han Zhengkang. 1999. Effect of Daidzein on Serum Testosterone and Rumen Digestion, Metabolism in Ruminates. *Jiangsu Agricultural Research* 02.

Chesson, Andrew, Colin S Stewart, and R John Wallace. 1982. Influence of Plant Phenolic Acids on Growth and Cellulolytic Activity of Rumen Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 44:597-603.

Colombo R, Lanc F, Yariwake MJH. 2006. Determination of flavonoids in cultivated sugarcane leaves, bagasse, juice and in transgenic sugarcane by liquid chromatography-UV detection. *Journal of Chromatography A*. 1103:118-124

Duval, S M., McEwan N R, Graham R C, Wallace R J, and Newbold C J. 2007. Effect of a blend of essential oil compounds on the colonization of starch-rich substrates by bacteria in the rumen. *Journal of Applied Microbiology*. 103:2132-2141.

Escamilla Jiménez, Ch. I., Cuevas Martínez E. Y., Guevara Fonseca J. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 52(2) 73-75.

Fernando, S C, Purvis, H T, Najar, F Z, Sukharnikov, L O, Krehbiel, C R, Nagaraja, T G, Roe, B A, Desilva, U. 2010. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied and Environmental Microbiology*. 76:7482-7490.

Formica, Jv, and W Regelson. 1995. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids.. *Food and Chemical Toxicology*. 33(12):1061-1080.

Galicia Jiménez, M. M., Sandoval Castro, C., Rojas Herrera, R., Magaña Sevilla, H. 2011. "Possible chemotaxis in *Ruminococcus albus*: comparative genomics. *Journal of Applied Animal Research*. in press.

Goel, G, H Makkar, and K Becker. 2008. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and

- concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*. 147:72-89.
- Gough, C., Galera, C., Vasse, J., Webster, G., Cocking, E. C., and Denarie, J. 1997. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571. *Molecular plant-microbe Interactions*. 10:560-570.
- Guo, H.J., Han, Z.K., and Wang, G.J. 2002. Effect of daidzein supplemented to diet on the castrated pigs growth performance and related endocrine functions. *Journal China Husbandry*. 38:17-18.
- Hammes, W. P., and Hertel Ch.. 2002. Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. *Food Research International* 35:165-170.
- Hernandez-Sanabria E, Guan LL, Goonewardene LA, Li M, Mujibi DF, Stothard P 2010. Correlation of particular bacterial PCR-denaturing gradient gel electrophoresis patterns with bovine ruminal fermentation parameters and feed efficiency traits. *Applied and Environmental Microbiology*. 76:6338-6350.
- Holzappel, W. H., and Schillinger U. 2002. Introduction to pre and probiotics. *Food Research International* 35:109-116.
- Hungate, R E, and Stack R. J. 1982. Phenylpropanoic Acid: Growth Factor for *Ruminococcus albus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 44:79-83.
- Jain, V., and Gupta K. 2003. The flavonoid naringenin enhances intercellular colonization of rice roots by *Azorhizobium caulinodans*. *Biology and Fertility of Soils* 38:119-123.
- Klieve, A V, Leary M N O., McMillen L., and Ouwerkerk D. 2007. *Ruminococcus bromii*, identification and isolation as a dominant community member in the rumen of cattle fed a barley diet. *Journal of Applied Microbiology*. 103:2065-2073.
- Krause, D. O., Smith W. J. M., and MSweeney Ch. S. 2004. Use of community genome arrays (CGAs) to assess the effects of *Acacia angustissima* on rumen ecology. *Microbiology*. 150:2899-2909.
- Miron, J., Ben-Ghedalia D., and Morrison M. 2001. Invited Review: Adhesion Mechanisms of Rumen Cellulolytic Bacteria. *Journal Dairy Science*. 84:1294-1309.
- Mowery, P, Ostler J. B, and Parkinson J. S. 2008. Different signaling roles of two conserved residues in the cytoplasmic hairpin tip of Tsr, the *Escherichia coli* serine chemoreceptor. *Journal of Bacteriology*. 190:8065-8074.
- Muetzel, S, E., Hoffmann M., and Becker K. 2003. Supplementation of barley straw with *Sesbania pachycarpa* leaves in vitro: effects on fermentation variables and rumen microbial population structure quantified by ribosomal RNA-targeted probes. *The British Journal of Nutrition*. 89:445-453.
- Ngadjui, B. T., and Berhanu M. A. 2003. The chemistry and pharmacology of the genus *dorstenia* (moraceae). *Studies in Natural Products Chemistry*. 29:44.
- Orpin, C. G., and Bountiff L.. 1978. Zoospore Chemotaxis in the Rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *Microbiology* 104:113-122.
- Parkinson, J S, and Kofoid E C. 1992. Communication modules in bacterial signaling proteins. *Annual Review of Genetics*. 26:71-112.
- Patra, A, Kamra D., and Agarwal N. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*. 128:276-291.
- Peck, M. C., Fisher R. F., and Long S. R. 2006. Diverse flavonoids stimulate NodD1 binding to nod gene promoters in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of bacteriology*. 188:5417-5427.
- Perrett, S, Whitfield P. J., Sanderson L., and Bartlett A. 1995. The plant molluscicide *Millettia thonningii* (Leguminosae) as a topical antischistosomal agent. *Journal of Ethnopharmacology*. 47:49-54.
- Ponce MA, Bompadre MJ, Scervino JM, Ocampo JA, Chaneton EJ, Godeas AM 2009. Flavonoids, benzoic acids and cinnamic acids isolated from shoots and roots of Italian rye grass (*Lolium multiflorum* Lam.) with and without endophyte association and arbuscular mycorrhizal fungus. *Biochemical Systematics and Ecology* 37:245-253.
- Rakotoarivonina H, Larson MA, Morrison M, Girardeau J-P, Gaillard-Martinie B, Forano E,

2005. The *Ruminococcus albus* pilA1-pilA2 locus: expression and putative role of two adjacent pil genes in pilus formation and bacterial adhesion to cellulose. *Microbiology*. 151:1291-1299.
- Russell, James B, and Baldwin R. L. 1979. Comparison of Substrate Affinities Among Several Rumen Bacteria: a Possible Determinant of Rumen Bacterial Competition. *Applied and Environmental Microbiology*. 37:531-536.
- Sato M, Tanaka H, Fujiwara S, Hirata M, Yamaguchi R, Etoh H. 2003. Antibacterial property of isoflavonoids isolated from *Erythrina variegata* against cariogenic oral bacteria. *Phytomedicine*. 10:6.
- Schoefer, L., Ruchika M., Braune A., Birringer M., and Blaut M. 2002. Anaerobic C-ring cleavage of genistein and daidzein by *Eubacterium ramulus*. *FEMS microbiology letters*. 208(2):197-202.
- Selma, M. V., Espín J. C., and Tomás-Barberán F. A. 2009. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of agricultural and food chemistry*. 57(15):6485-6501.
- Shinkai, T. and Kobayashi Y. 2007. Localization of ruminal cellulolytic bacteria on plant fibrous materials as determined by fluorescence in situ hybridization and real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(5):1646-1652.
- Stafford, H. 1970. The accumulation of anthocyanins in green and red seedling strains of *Sorghum vulgare*. *Phytochemistry*. 9:1799-1801.
- Stock, J. B., Levit M. N., and Wolanin P. M. 2002. Information processing in bacterial chemotaxis. *Signal Transduction Knowledge Environment*. 2002(135):25.
- Streit, W R, Joseph C. M., and Phillips D. A. 1996. Biotin and other water-soluble vitamins are key growth factors for alfalfa root colonization by *Rhizobium meliloti* 1021. *Molecular plant-microbe Interactions*: 9(5):330-338.
- Sui Meixia Zhu Chengming. 2007. Application of soybean isoflavones in ruminant. *China Feed*. 13.
- Szurmant, H., and Ordal G. W. 2004. Diversity in chemotaxis mechanisms among the bacteria and archaea. *Microbiology and Molecular Biology*. 68:301-319.
- Tajima K., Aminov RI., Nagamine T., Matsui H., Nakamura M., Benno Y. 2001. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 67:2766-2774.
- Hodgson J. M. 2008. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(S1):288-290
- Vandestaaij J., Debakker N., Oosthoek A., Broekman R., Vanbeem A., Stroetenga M. 2002. Flavonoid concentrations in three grass species and a sedge grown in the field and under controlled environment conditions in response to enhanced UV-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*. 66:21-29.
- Varel, V. H., Jung H. G., and Krumholz L. R. 1991. Degradation of cellulose and forage fiber fractions by ruminal cellulolytic bacteria alone and in coculture with phenolic monomer-degrading bacteria. *Journal of Animal Science*. 69:4993-5000.
- Verma, A. R., Vijayakumar M., Mathela Ch. S., and Rao Ch. V. 2009. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. 47:5.
- Wang, X-L., Kwang-Hee S., Hor-Gil H. and Kim S-I. 2005. Enhanced biosynthesis of dihydrodaidzein and dihydrogenistein by a newly isolated bovine rumen anaerobic bacterium. *Journal of Biotechnology*. 115:261-269.
- Wang, Y., McAllister T. A., Yanke L. J, and Cheeke P R. 2000. Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *Journal of Applied Microbiology*. 88:887-896.
- Winkel-Shirley, B. 2002. Molecular genetics and control of anthocyanin expression. *Advances in Botanical Research*. 37:75-94.
- Wolanin, P. M., Thomason P. A., and Stock J. B. 2002. Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome Biology* 3(10):3013.1-3013.8

- Wubah, D A, and Kim DS. 1996. Chemoattraction of anaerobic ruminal fungi zoospores to selected phenolic acids. *Microbiological Research*. 151:257-262.
- Yu Zhuo-teng, Yao Wen, Mao Sheng-yong, Zhu Wei-yun. 2004. Effect of daidzein on the intestinal flora of piglets. *Acta Nutrimenta Sinica*. 82-86.
- Yu, Zhuo-Teng, Wen Yao, and Wei-Yun Zhu. 2008. Isolation and identification of equol-producing bacterial strains from cultures of pig faeces. *FEMS Microbiology Letters*. 282:73-80.
- Zhang Q., Wang X., Wang S., Hao Q., Guo Y., Wang S. 2010. Biotransformation of daidzein by resting cell system of bacterial strain isolated from bovine rumen gastric juice *Sheng wu gong cheng xue bao*. 26(1):35-41.
- Zhou, Mi, Hernandez-Sanabria E., and Guan L. L. 2010. Characterization of variation in rumen methanogenic communities under different dietary and host feed efficiency conditions, as determined by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Applied and Environmental Microbiology*. 76:3776-3786.
- Zhu, W.Y., Mao, S.Y., Wang, Q.J., Yao, W., Liu, Q., and Theodorou M.K. 2002. Effects of daidzein on in vitro fermentation of microorganisms from the goat rumen. *Reproduction Nutrition Development*. 42:S17

Submitted March 22, 2011– Accepted May 30, 2011
Revised received July 04, 2011