

# **Desarrollo ruminal en terneros Holando Argentino alimentados con preiniciador para un desleche a 30 días de edad.**

**Autor: Méd. Vet. Juan G. Riganti**

**Director: Méd. Vet. MSc. José Maiztegui**

**Especialización en Buiatría**

**Facultad de Cs. Veterinarias de Esperanza**

**Universidad Nacional del Litoral**

**Noviembre, 2015.**

# Índice

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
• FUNCIÓN GENERAL DEL RUMEN Y RETÍCULO	4
• DESARROLLO RUMINAL EN EL FETO	8
• ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO DEL BOVINO ADULTO	11
• HISTOLOGÍA DEL ESTÓMAGO DEL BOVINO	13
• DESARROLLO RUMINAL DEL TERNERO	14
▪ FASE LACTANTE	14
▪ FASE DE TRANSICIÓN	15
▪ DESARROLLO ANATÓMICO	15
▪ DESARROLLO PAPILAR Y MUSCULAR	16
• TÉCNICAS DE DISECCIÓN DEL RUMEN PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE TEJIDOS	19
OBJETIVO	22
FUNDAMENTACIÓN	22
MATERIALES Y MÉTODOS	23
• LUGAR DE REALIZACIÓN	23
• ANIMALES	23
• DIETAS	24
• ESTUDIOS ANATOMO MORFOLÓGICOS	25
• ANÁLISIS	25
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
FIGURAS	
FIGURA 1. Desarrollo fetal del estomago bovino.	10
FIGURA 2. Lote de terneros divididos en G I (collar azul) y GII (collar rojo).	23
FIGURA 3. Estómago de terneros a diferentes edades.	29
FIGURA 4. Largo de papilas en craneal del saco dorsal del rumen.	32
FIGURA 5. Largo de papilas en caudal del saco dorsal del rumen.	32
FIGURA 6. Largo de papilas en craneal del saco ventral del rumen.	34

FIGURA 7. Largo de papilas en caudal del saco ventral del rumen.	34
FIGURA 8. a, b, c, d, e, f. Imágenes microscópicas del desarrollo papilar ruminal en terneros, H&E, x40.	35
FIGURA 9. a, b, c. Imágenes microscópicas del desarrollo papilar ruminal en terneros, H&E.	36
TABLAS	
TABLA 1. Suministro de Preiniciador Ternero.	24
TABLA 2. Suministro de Iniciador Ternero.	24
TABLA 3. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros con contenido en el G I.	26
TABLA 4. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros con contenido en el G II.	27
TABLA 5. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros sin contenido en el G I.	27
TABLA 6. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros sin contenido en el G II.	28
TABLA 7. Medidas en micras en zona craneal del Saco Dorsal del Rumen por semana y por grupo.	31
TABLA 8. Medidas en micras en zona caudal del Saco Dorsal del Rumen por semana y por grupo.	31
TABLA 9. Medidas en micras en zona craneal del Saco Ventral del Rumen por semana y por grupo.	33
TABLA 10. Medidas en micras en zona caudal del Saco Ventral del Rumen por semana y por grupo.	33
ABREVIATURAS	51
ANEXO I. Sustituto lácteo. Composición centesimal e ingredientes.	52
ANEXO II. Preiniciador terneros. Composición centesimal e ingredientes.	53
ANEXO III. Iniciador terneros. Composición centesimal e ingredientes.	54

## **DEDICATORIA**

A mis Padres.

A mi Familia.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de Casilda, UNR.

Al Servicio Técnico de la Cátedra de Patología.

A la empresa CONECAR por subsidiar el trabajo.

A los técnicos de CONECAR por colaborar en el trabajo.

## RESUMEN

Para deslechar tempranamente a un ternero se debe lograr una rápida transición de lactante a rumiante y para ello es esencial un rápido y adecuado desarrollo ruminal y la adaptación metabólica para que el animal sea capaz de obtener suficientes nutrientes del alimento sólido a partir de la fermentación ruminal. Varios son los parámetros que determinan el buen desarrollo ruminal, de ellos, tiene gran importancia la superficie de absorción ruminal. El tamaño y forma de las papilas ruminales es variable en función de la dieta y es el efecto de los productos finales de la fermentación bacteriana, los Ácidos Grasos Volátiles (AGV), los que influyen sobre éstas. El objetivo de este estudio fue evaluar cambios morfológicos del rumen como indicadores de su desarrollo en terneros Holando Argentino alimentados con un preiniciador. Se utilizaron 30 terneros machos lactantes de la raza Holando Argentino de 3 días de edad promedio y se dividieron en dos grupos (G I y G II) para su crianza en estacas individuales. G I: se alimentaron con sustituto lácteo (SL) al 10 % en dos tomas diarias de 2 litros repartidos en la mañana y en la tarde hasta los 21 días y luego, hasta los 30 días, una sola toma de 2 litros, momento en que se suspendió el sustituto lácteo; además, desde el primer día de llegada se suministró un alimento balanceado peleteado preiniciador terneros según protocolo de la empresa. G II: se alimentaron diariamente con 4 litros de SL e iniciador terneros hasta los 50 días. A los dos grupos, a partir de los 30 días se les agregó fardo de alfalfa de buena calidad y durante toda la experiencia se les ofreció agua a voluntad. Se muestrearon dos terneros el primer día y luego semanalmente 2 animales de cada grupo hasta la séptima semana. Se separaron los compartimentos del estómago y se pesaron con y sin sus contenidos. Se seccionaron muestras de la zona craneal y caudal del saco dorsal y del saco ventral del rumen para estudios histológicos; se realizó la medición con regla micrométrica del largo y ancho de papilas principales, el espesor de la capa de paraqueratina y de la muscular ruminal. La evaluación estadística se realizó mediante un test de diferencia de medias según dieta y por semana de edad (sin repeticiones). Los pesos relativos de los compartimentos fueron similares en los dos grupos ( $p > 0,05$ ). En ambos grupos el crecimiento papilar fue similar ( $p > 0,05$ ) en las cuatro zonas analizadas; desde el inicio, las papilas fueron creciendo en longitud, de forma elongada y luego entre la 3ª y 4ª semana de modo marcado, con ramificaciones laterales dobles y múltiples; en la 5ª semana un leve retraso, probablemente debido a la adición de fardo y en la 6ª semana, vuelven a aumentar su tamaño; no se observaron diferencias ( $p > 0,05$ ) en el largo (LP) y ancho de papilas, en el espesor de la paraqueratina, ni en espesor de capa muscular por región analizada para ambos grupos. El LP fue el parámetro que

tuvo mayor variación en crecimiento aumentando marcadamente la superficie de absorción ruminal. El LP se considera una de las variables más importantes para estudiar el desarrollo ruminal, y sus variaciones representarían la influencia de los tratamientos dietéticos en el desarrollo ruminal. Ambos grupos tuvieron un buen desarrollo ruminal al compararlos con los obtenidos por otros autores. Los terneros deslechados a los 30 días mantuvieron el desempeño hasta el final de la experiencia, lo que indicaría que las características del preiniciador serían adecuadas para un desleche a los 30 días, más estudios deberían realizarse para seguir el desempeño de los animales luego del desleche.

## INTRODUCCIÓN

El estómago de los rumiantes, se caracteriza anatómicamente por su gran tamaño, es compuesto y consta de cuatro compartimentos o divisiones llamadas rumen, retículo, omaso y abomaso; su capacidad varía ampliamente con la edad y el tamaño del animal. Al nacimiento el rumen, retículo y omaso no están bien desarrollados y la suma de sus tamaños es igual a la del abomaso, mientras que en el adulto este último representa aproximadamente el 10 % del total del estómago (Cunningham, 2009). El rumen, en el adulto, ocupa la mitad izquierda de la cavidad abdominal y se extiende dentro de la mitad derecha. El rumen, el retículo y el omaso tienen un epitelio plano estratificado queratinizado en grado variable, mientras que el abomaso tiene una mucosa glandular (Getty, 1992).

En los rumiantes la degradación del alimento se realiza mayoritariamente por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas. Los procesos fermentativos los realizan diferentes tipos de microorganismos a los que el rumiante aloja en sus compartimentos estomacales (CE). Por esta razón debemos tener presente que al alimentar a los rumiantes primero estamos alimentando a los microorganismos rumiales, y que para su buen desarrollo tiene que haber un medio favorable para ello. De esta forma hay una simbiosis entre las bacterias y el animal. La digestión fermentativa puede desarrollarse en los preestómagos porque las condiciones de oxidación-reducción, su pH y la carga iónica se mantienen dentro de un rango compatible con el crecimiento de los microorganismos. Esta digestión fermentativa, si bien favorece al rumiante al permitirle degradar hidratos de carbono estructurales, también afecta la digestión de todos los demás componentes de la dieta, expuestos a los mismos procesos fermentativos, sin que esto represente siempre una ventaja desde el punto de vista del mejor aprovechamiento del alimento (Cunningham, 2009).

El desarrollo del aparato digestivo de los rumiantes comienza en las primeras etapas del crecimiento embrionario y prosigue su formación, crecimiento y desarrollo funcional hasta que el animal es adulto (Church, 1974).

Al nacimiento y las primeras semanas de vida el animal es lactante, posee sólo capacidad de digerir leche y depende de la absorción intestinal de glucosa para mantener un valor de glucemia; a las pocas semanas comienza el llamado período de transición durante el cual el animal comienza a ingerir pequeñas cantidades de alimento sólido y se van desarrollando gradualmente los compartimentos estomacales. Los valores de glucemia comienzan a disminuir mientras aumenta la concentración plasmática de ácidos grasos volátiles (AGV); luego, en la etapa de rumiante, los CE están bien desarrollados y permiten una digestión fermentativa (Church, 1974).

La transición de lactante a rumiante implica para el ternero una serie de pasos adaptativos; estos incluyen cambios en la morfología y funcionalidad del aparato digestivo, el desarrollo de la flora microbiana normal y también cambios metabólicos. En los sistemas de crianza artificial se pretende que esta etapa sea lo más breve posible para disminuir el manejo, el tiempo de la alimentación con leche o sustituto lácteo, los problemas sanitarios y aprovechar la capacidad fermentativa de hidratos de carbono estructurales (capacidad de digerir fibras y otros glúcidos en forma más completa que los no rumiantes) (Church, 1974).

### **FUNCIÓN GENERAL DEL RUMEN Y RETÍCULO**

El rumen, junto con el retículo, forma una cámara que mantiene un ambiente favorable para la fermentación anaerobia que es el resultado de actividades físicas y microbiológicas que transforman los componentes de la dieta en productos que son útiles (ácidos grasos volátiles, proteína microbiana, vitaminas del grupo B), inútiles ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ) o incluso nocivos (amoníaco, nitratos) para el animal huésped (Church, 1988).

Los microorganismos ruminales viven en estrecha relación simbiótica (mutualista) con el animal rumiante. El metabolismo microbiano en ausencia de oxígeno (fermentación) convierte a los carbohidratos en productos orgánicos como los AGV, ácido láctico y etanol. Estos productos retienen la mayor parte de la energía original en el sustrato, aportando productos de la fermentación con valor nutritivo para el rumiante (AGV) y sus propios cuerpos microbianos; de esta manera los rumiantes pueden utilizar alimentos que son muy fibrosos para los no rumiantes, degradar la celulosa liberando el contenido celular, convirtiendo la celulosa en un nutriente, sintetizar proteína microbiana de alto valor biológico a partir de proteína vegetal de bajo valor biológico, aprovechar el nitrógeno no proteico de la dieta y del reciclaje de productos metabólicos de desecho (urea), además proveer todas las vitaminas del complejo B (Church, 1988).

Los rumiantes mantienen la población microbiana en el rumen al ingerir y masticar alimentos con regularidad, añadiendo tampones y eliminando los ácidos producidos, arrastrando los productos microbianos y los residuos alimenticios no digeribles (Church, 1988).

Un patrón de fermentación necesita, según Church, 1988, algunas condiciones para desarrollarse apropiadamente:

- » Debe existir un aporte suficiente de sustratos.
- » Se debe mantener un potencial de óxido-reducción.
- » La temperatura debe estar en un rango de 39 - 40°C.

- » Una osmolaridad cercana a los 300 mOsm.
- » Un pH de 6-7.
- » Remoción de los desechos no digeribles.
- » Remoción de microorganismos congruente con la regeneración de los mismos.
- » Remoción de los ácidos grasos volátiles (AGV), producidos durante la fermentación.

Si los terneros cuentan con alimento disponible a temprana edad, entonces el desarrollo del rumen puede comenzar dentro de las primeras semanas de nacido. Se plantea que existen determinados elementos de vital importancia para lograr un adecuado desarrollo ruminal siendo estos (Church, 1974):

- Presencia de bacterias (refiriéndose al desarrollo de la microbiota ruminal).
- Disponibilidad de líquido en el rumen.
- Motilidad Ruminal con entradas y salidas a través de la acción muscular.
- Habilidad absorptiva del epitelio ruminal.
- Sustrato.

Cuando nace el ternero el rumen es estéril. La colonización microbiana del aparato digestivo se produce en las primeras horas de vida comenzando con los primeros contactos que realiza el animal con el ambiente y con alimentos no estériles. El rumen de terneros de una semana de edad dispone de especies bacterianas que son características del adulto, aunque en distintas proporciones (Church, 1974). El cambio en el número y tipo de bacterias casi siempre está dado en función del consumo de sustrato (Lengemann y Allen, 1959). Jiao et al. (2015) estudiaron la diversidad taxonómica de las bacterias que colonizan el epitelio ruminal de cabritos, que podrían participar en el desarrollo anatómico y funcional del rumen.

Para fermentar el sustrato (grano y heno), las bacterias ruminales deben vivir en un ambiente acuoso. En ausencia de suficiente agua, las bacterias no pueden crecer y esto hace más lento el desarrollo ruminal (Cunningham, 2009). La mayor parte del agua que ingresa al rumen procede del consumo de agua libre. Se ha demostrado que el agua incrementa el consumo de iniciador, la tasa de ganancia de peso y reduce la diarrea (Kertz, et al., 1984).

Al incrementarse el consumo de alimento seco comienzan las contracciones ruminales. El rumen y el retículo se encargan de realizar la remoción de desechos y microorganismos a través un patrón complejo de contracciones que se originan en el retículo; además el retículo colecta el alimento que ha sido suficientemente fermentado para transportarlo hacia el omaso; las contracciones del retículo y rumen también participan en el eructo. Cuando el ternero recibe leche, heno y grano en los primeros

días de vida es posible medir las contracciones ruminales desde tan solo las 3 semanas de edad. No obstante, cuando se les da sólo leche, no hay actividad ruminal contráctil mensurable durante períodos prolongados. El comportamiento de la rumia se inicia en el recién nacido lactante con el consumo de alimentos sólidos; se observa comúnmente a los 8 a 12 días de edad en los terneros que reciben forrajes y concentrados desde el nacimiento. El tiempo de rumia es variable y es mayor cuando son alimentados con henos (Church, 1974).

Debido a la fermentación ruminal, se producen diferentes gases, cerca de 30-50 litros/hora en un bovino adulto y 5 litros/hora en un borrego; estos son eliminados a través del eructo. Los principales gases son: dióxido de carbono, metano, nitrógeno, oxígeno, hidrógeno y ácido sulfhídrico. Los AGV son principalmente retirados del líquido ruminal al ser absorbidos en las paredes del rumen y retículo (Cunningham, 2009).

Los AGV son de suma importancia ya que son sustratos energéticos que aportan el 60 a 80 % de la energía de la dieta a los rumiantes por lo tanto es importante que exista un mecanismo de alta capacidad y eficacia para la absorción de los AGV (Cunningham, 2009). El ácido acético, propiónico y el ácido butírico son absorbidos por el epitelio del rumen, retículo y librillo, y constituyen la principal fuente de energía de los rumiantes. El epitelio estratificado del rumen generalmente no se caracteriza por una eficaz absorción; no obstante, sus características le permiten absorber eficientemente AGV, ácido láctico, electrolitos y agua. La superficie del epitelio es muy extendida debido a la formación de papilas bien vascularizadas (Cunningham, 2009).

La eliminación continua de AGV mediante absorción en el retículo rumen es importante para el mantenimiento de un pH ruminal estable. Los AGV difunden pasivamente desde el rumen a la sangre según un gradiente de concentración; la tasa de absorción es influenciada por el pH del rumen y la longitud de la cadena de los ácidos individuales. Cuando desciende el pH en la cara epitelial del rumen, aumenta la tasa de absorción de AGV, indicando que el incremento en la proporción de ácidos presentes en forma no disociada favorece una absorción más rápida. El aumento de la longitud de la cadena aumenta también las tasas de absorción de los ácidos no disociados como sigue: butírico > propiónico > acético (Church, 1988; Cunningham, 2009).

El bajo pH ruminal y su efecto sobre la absorción de AGV puede ser el catalizador de la conducción de crecimiento epitelial del rumen (Sutton et al., 1963). Sin embargo, el tipo de dieta, la población microbiana presente, y los ácidos grasos volátiles producidos (Hibbs et al., 1956) influyen en gran medida en el pH ruminal y no se puede eliminar de la ecuación. La absorción de AGV no sólo es importante para mantener su distribución en las células animales, sino para prevenir cantidades

excesivas que puedan alterar el pH ruminal (Cunningham, 2009). Cuando atraviesan el epitelio, los AGV sufren diferentes grados de transformación. El acetato y propionato son absorbidos casi sin alterarse, pero la mayor parte del ácido butírico se transforma en ácido  $\beta$ -hidroxibutírico en el epitelio ruminal (Cunningham, 2009).

Los AGV absorbidos tienen diferentes destinos metabólicos: El acético pasa rápidamente al organismo sin sufrir ningún cambio y se oxida en los diferentes tejidos para generar ATP, también funciona como la principal fuente Acetil-CoA para la síntesis de lípidos; el propiónico es convertido en láctico o succínico, este último puede entrar directamente en el ciclo de Krebs para la obtención de energía o utilizarse como precursor de la glucosa (gluconeogénico), es de suma importancia para el rumiante debido a que en el intestino delgado se absorbe poca glucosa. El butírico es metabolizado en la pared ruminal hasta  $\beta$ -hidroxibutírico, esta vía es cetogénica, es oxidado en muchos tejidos para la producción de energía (Cunningham, 2009). Al parecer, el ácido butírico es el que tiene mayor influencia sobre el desarrollo de las papilas ruminales debido precisamente a que se metaboliza en las células epiteliales (Cunningham, 2009).

En el hígado el propionato y el acetato son incorporados al metabolismo energético, el ácido propiónico es el único de los AGV que el hepatocito puede transformar en glucosa, en la vía de la gluconeogénesis. Las moléculas de glucosa sintetizadas en este proceso, serán exportadas hacia los tejidos extra hepáticos, quienes serán los encargados de utilizarla como la primera fuente de energía altamente disponible para sostener las necesidades fisiológicas de mantenimiento, producción y reproducción (Church, 1974).

Los disacáridos y los almidones que escapan a la fermentación ruminal pasan al intestino delgado donde son digeridos por enzimas pancreáticas e intestinales, en la misma forma que en los animales monogástricos (Cunningham, 2009).

## DESARROLLO RUMINAL EN EL FETO

El desarrollo fetal del estómago del bovino es relativamente rápido. Los compartimentos gástricos se desarrollan a partir de una dilatación fusiforme del intestino primitivo, con una curvatura mayor, convexa y dorsal y otra menor cóncava y ventral (Warner, et al., 1958; Schwarze, 1970; Church, 1975). El estómago primitivo es visible a los 28 días de gestación y es similar al de otros embriones mamíferos (Warner, 1958); este saco primitivo comienza a diferenciarse en 4 compartimentos diferentes, a los 36 días ya se manifiestan algunas diferencias en el tejido epitelial (Warner, 1958) y a los 56 días se hacen evidentes los 4 compartimentos y claramente deslindados unos de otros en el embrión de unos 25 mm de longitud (Barone, 1976; Schwarze, 1970). Durante este desarrollo, no hay contribución de tejido esofágico (Warner y Flatt, 1965).

El estómago sufre una rotación longitudinal hacia la izquierda (como en otras especies), en la zona dorsal y anterior del mismo se forma un divertículo que se expande hacia el lado izquierdo que representa el esbozo del rumen y la redecilla, de éste esbozo se desarrolla sobre la derecha y abajo el librillo, y a la derecha de los tres queda ubicado el abomaso (Schwarze, 1970).

El rumen se halla entonces entre el diafragma y el riñón primitivo, aumentando de tamaño y desarrollando sus sacos ciegos; girando en dirección caudal para alcanzar la posición definitiva; el abomaso cambia a la vez de posición hacia el lado derecho, debido a un desplazamiento del hígado; los movimientos descritos permiten a los compartimentos gástricos adoptar su forma típica de herradura. El tamaño relativo de los distintos compartimentos gástricos varía mucho en el curso del desarrollo prenatal, al principio presentan los cuatro las mismas dimensiones. Con 22 mm el abomaso es el menor de los compartimentos como si fuese un apéndice del omaso (Kano et al., 1981). Luego hasta los 4 meses de desarrollo fetal, el rumen es el compartimento mayor y tiene aproximadamente 2 a 3 veces el peso del abomaso. Después de 4 meses de gestación el abomaso comienza a aumentar de peso más rápidamente que el rumen (Becker et al., 1951).

A los dos meses (feto de 40 a 50 mm aproximadamente) los compartimentos ya presentan sus principales características externas e internas (Barone, 1976). En el tercer mes de vida fetal, los diversos compartimentos aumentan activamente, pero siguen siendo aproximadamente igual el uno al otro; en la segunda mitad de la gestación, el abomaso incrementa notablemente su tamaño y al parto es más grande que los otros tres compartimentos reunidos (Barone, 1976; Schwarze, 1970; Kano et

al., 1981). Es al final de la gestación, 8º a 9º mes, que los compartimentos toman su posición final (Warner y Flatt, 1965).

Conjuntamente con el desarrollo externo, se produce el desarrollo de la mucosa de los compartimentos gástricos, observándose primero el esbozo de las hojas del omaso, después los pliegues del abomaso, a continuación las crestas del retículo y finalmente las vellosidades del rumen (Schwarze, 1970). La superficie epitelial se desarrolla lentamente, siendo la superficie interna del rumen lisa y sin papilas visibles durante el primer y segundo tercio de la vida fetal, y recién comienzan a desarrollarse hacia el final de la gestación (Wardrop, 1961). Amasaki y Daigo (1984) describen la relación entre la morfogénesis de la microvasculatura ruminal y la de la capa epitelial ruminal, el proceso comienza con una elevación papilar en la lámina propia vascular al final del tercer mes de gestación y el desarrollo de una proyección de capilares crea una papila en la superficie ruminal visible microscópicamente en el 5 mes.

Arias et al. (1978) evidenciaron que el desarrollo histológico de las papilas ruminales comienza cuando el feto tiene 5 meses de edad y luego de cambios que ocurren en el tejido conectivo (Arias et al., 1980). En embriones de 30 mm el rumen presenta una pared gruesa con ausencia de pliegues epiteliales, el epitelio de revestimiento es escamoso estratificado semejante al del esófago; las células de las capa superficiales son grandes, poligonales, con núcleo esférico y no queratinizado y no se observan papilas en esta etapa. El epitelio del retículo y el omaso es escamoso, estratificado y el omaso presenta pequeñas elevaciones “como hojas”. El abomaso está revestido por un epitelio con varias capas de células columnares pseudoestratificadas aun sin glándulas gástricas (Warner et al., 1958).

Arias, et al. (1980) estudiaron los cambios en el número de células epiteliales, en el tejido conjuntivo, el grosor del tejido conectivo, y la altura y el diámetro de las papilas en la mucosa ruminal fetal y postnatal del bovino.

En Figura 1 se esquematiza el desarrollo y crecimiento del estómago del feto bovino (tomado de Barone, 1976).

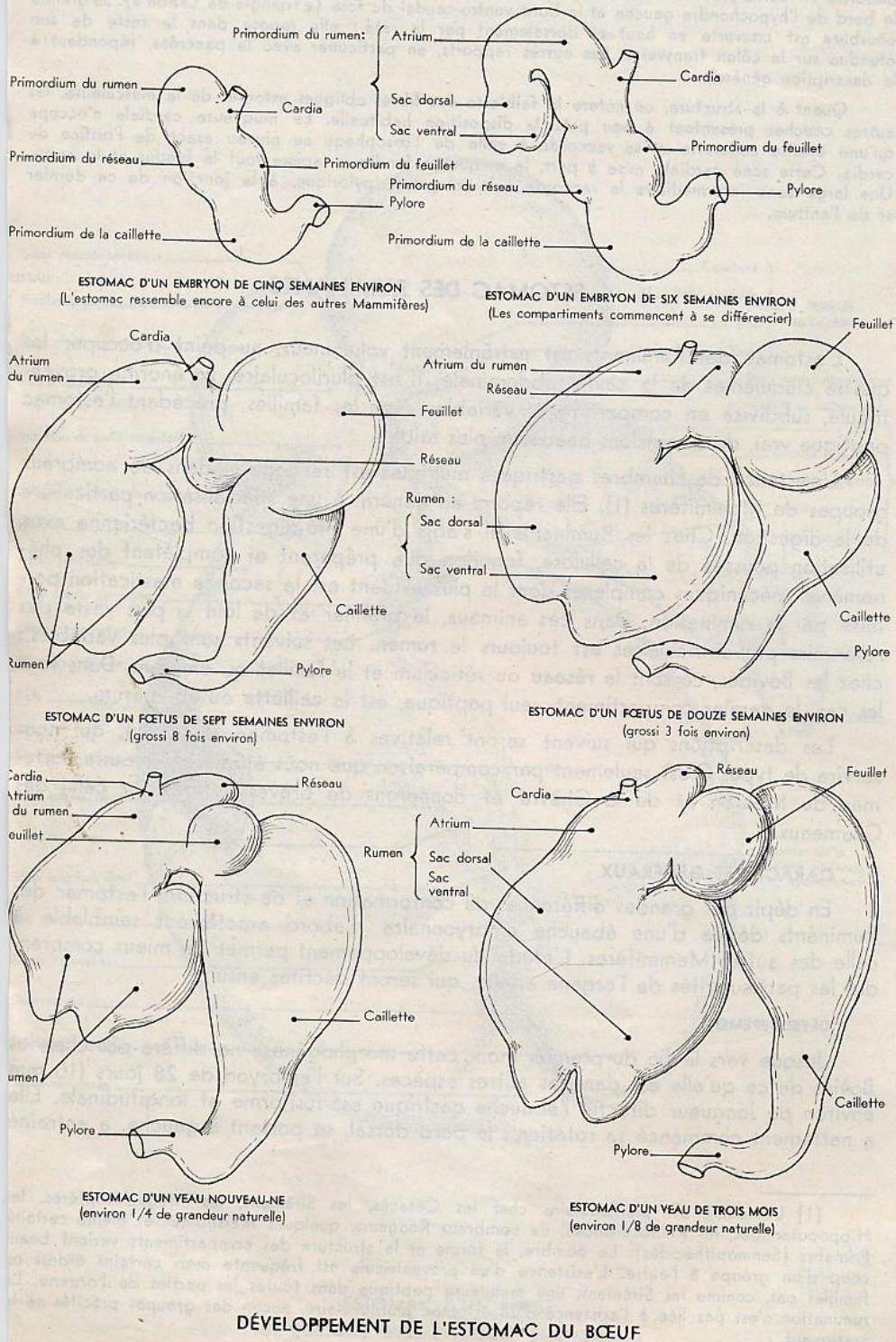


Figura 1- Desarrollo fetal del estómago bovino. Tomado de Barone, R. 1976. p. 334

## ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO DEL BOVINO ADULTO

### RUMEN

El rumen ocupa la mitad izquierda de la cavidad abdominal y se extiende considerablemente hasta la derecha del plano medio, ventral y caudalmente. Su eje mayor va desde un punto opuesto a la parte ventral del séptimo y octavo espacios intercostales hasta casi la entrada de la pelvis. Está algo comprimido de un lado a otro y puede ser descrito como poseedor de dos superficies, dos curvaturas y dos extremidades. La superficie parietal (o izquierda) es convexa y está relacionada con el diafragma, la pared izquierda del abdomen y el bazo. La superficie visceral (o derecha) es algo irregular y está relacionada, fundamentalmente, con el omaso y el abomaso, el intestino, hígado, páncreas, riñón izquierdo, la aorta y la vena cava caudal. La curvatura dorsal sigue la curva formada por el diafragma y los músculos sublumbares, está firmemente unido a estos por peritoneo y tejido conectivo. La curvatura ventral también es convexa y asienta sobre el suelo del abdomen y pared superficial de la bolsa omental. Las superficies están marcadas por los surcos longitudinales derecho e izquierdo, que indican, externamente, la división del rumen en saco dorsal y ventral (Getty, 1992).

En el lado derecho hay dos surcos: el ventral o surco longitudinal derecho, extendido desde el surco craneal al caudal, y el dorsal o surco accesorio derecho, que describe una curva convexa dorsalmente y se une al surco longitudinal derecho por ambos extremos. El surco longitudinal izquierdo, comienza en el surco craneal y se une al surco caudal; cerca de la mitad proporciona una rama dorsal o surco accesorio izquierdo, extendido caudodorsalmente (Getty, 1992).

La extremidad craneal está dividida, ventralmente, por un surco craneal transversal en dos sacos; el saco craneal o *atrium ruminis*, que se continúa caudalmente con el saco dorsal del rumen, cranealmente con el retículo y se curva ventralmente sobre el extremo craneal del saco ventral. La línea de demarcación entre el *atrium ruminis* y el retículo es el surco rumino-reticular. La extremidad caudal se extiende casi hasta el pubis y está relacionada con la vejiga y el intestino, se divide en sacos ciegos caudodorsal y caudoventral por un surco caudal transversal (Getty, 1992).

### RETÍCULO

El retículo es el más craneal y pequeño de los cuatro compartimentos, su porción mayor asienta a la izquierda del plano medio; es algo piriforme y está comprimido craneo caudalmente. La superficie diafragmática es convexa y contacta con el diafragma e hígado. La superficie visceral es más o menos aplanada por la presión del

*atrium ruminis*; termina dorsalmente uniéndose a la pared del rumen. La curvatura menor mira a la derecha y dorsalmente y se conecta con el omaso. La curvatura mayor mira a la izquierda y dorsalmente; asienta contra el diafragma opuesta a la VI y VII costillas (Getty, 1992). El epitelio del retículo presenta pliegues que forman celdas poligonales, que le dan una apariencia de panal de abejas, éstas celdas están aún más divididas y en su interior se encuentran papilas córneas agudas. Las celdas se hacen más pequeñas en la medida que se aproxima el borde del pliegue retículo-ruminal, la mucosa presenta la misma disposición papilar del rumen faltando de 3 a 4 cm para alcanzar el pliegue retículo-ruminal. La estructura de nido de abeja de sus paredes también actúa de barrera protectora, al evitar que partículas diferentes al bolo alimenticio avancen hacia otros compartimentos (Getty, 1992).

### **OMASO**

El omaso tiene forma elíptica y algo comprimida entre sus superficies parietal y visceral, el eje es casi vertical. Está claramente separado de los otros compartimentos. Asienta fundamentalmente a la derecha del plano medio, a la altura de la VII a la XI costillas. La superficie derecha se relaciona con el diafragma e hígado. La porción más ventral del omaso está en contacto con el suelo abdominal. La superficie visceral (izquierda) contacta con el rumen, retículo y abomaso. La base está conectada, en su parte superior, con el retículo por un cuello corto y estrecho y ventralmente con abomaso (Getty, 1992).

Al igual que en el retículo y rumen, el omaso no es funcional en el ternero lactante. Con el cierre de la gotera esofágica, la alimentación líquida pasa directamente al abomaso. El omaso se vuelve más funcional con el consumo de alimento sólido. En el rumiante adulto, el omaso sirve como un área para la absorción de AGV, agua y sales minerales (Cunningham, 2009). Además permiten separar el material sólido del contenido ruminal, reteniendo las partículas entre sus láminas, para luego ser impulsadas hacia el abomaso mediante contracciones. Las contracciones omasales, contrario a las reticulares, son lentas y prolongadas, tanto las láminas como la pared omasal se contraen triturando y expulsando el alimento hacia el abomaso (Cunningham, 2009).

### **ABOMASO**

El abomaso es un saco ovalado que asienta, fundamentalmente, en el suelo abdominal. El extremo craneal, fundus, está en la región xifoidea, en relación con el retículo al cual está en parte unido, al *atrium ruminis* y al saco ventral del rumen. El cuerpo se extiende caudalmente entre el saco ventral del rumen y el omaso. La parte pilórica gira a la derecha caudal al omaso y se inclina dorsalmente, para unirse al

duodeno. La superficie parietal está en contacto con el suelo abdominal, mientras que la visceral es la parte más relacionada con el rumen y el omaso. La curvatura mayor proporciona inserción a la porción superficial del omento mayor y la curvatura menor proporciona inserción al omento menor, que pasa sobre la superficie parietal del omaso al hígado. El abomaso y el omaso están unidos por tejido conjuntivo (Getty, 1992).

## **HISTOLOGÍA DEL ESTÓMAGO**

Autores como Dellmann (1993) o Bacha y Bacha (2001) describen la estructura general de rumen, retículo y omaso como se detalla a continuación:

- Mucosa: los tres presentan una mucosa con una lámina epitelial revestida por un epitelio plano estratificado queratinizado. La lámina propia es de tejido fibroelástico, no tiene glándulas y está muy vascularizada. La muscular de la mucosa está presente solamente en retículo y omaso.
- Submucosa: está formada por tejido conectivo laxo y es delgada. Cuando no existe la muscular de la mucosa, la lámina propia se continúa con la submucosa. En su espesor se encuentra una red de vasos sanguíneos y plexos nerviosos.
- Muscular: la componen fibras musculares lisas dispuestas en dos capas. En rumen y omaso, en la capa interna las fibras se disponen de manera circular y en la externa de manera longitudinal. En el retículo las dos capas tienen curso oblicuo y se cruzan perpendicularmente.
- Serosa: compuesta por un mesotelio y tejido conectivo laxo infiltrado en grado variable con grasa, vasos sanguíneos, linfáticos y nervios.  
(Dellmann, 1993; Bacha y Bacha, 2001).

## **RUMEN**

La superficie interna del rumen es de tipo epitelial, plano estratificado, que forma proyecciones papilares en forma cónica, foliadas y algunas filiformes, son de tamaño variable según la región, con una parte central compuesta por una densa red de fibras colágenas, elásticas y de reticulina, y un revestimiento externo de epitelial. Las células de los estratos más externos del epitelio (córneo y granuloso) se caracterizan porque no son aplanadas, sino que aparecen tumefactas, a manera de vesículas de contenido claro y pared cornificada. Debajo de la membrana basal del epitelio hay una densa red de capilares fenestrados (Dellmann, 1993; Bacha y Bacha, 2001).

Los bordes de los pilares y una parte del saco dorsal están desprovistos de papilas, la disposición papilar se encuentra más desarrollada en los sacos ciegos. En los pilares la capa muscular es más gruesa (Dellmann, 1993; Bacha y Bacha, 2001).

La lámina epitelial realiza tres funciones importantes:

- Protección: la capa superficial queratinizada actúa de superficie protectora contra el alimento grosero.
- Metabolismo: las capas más profundas metabolizan los AGV de cadena corta, principalmente butírico, acético y propiónico, productos de la fermentación bacteriana.
- Absorción: de ácidos grasos volátiles, sodio, potasio, amoníaco y otras sustancias del contenido ruminal (Dellmann, 1993; Bacha y Bacha, 2001).

## **ABOMASO**

Posee una mucosa revestida de un epitelio mucoso y tejido glandular secretor, es equivalente al estómago de los animales monogástricos. En esta región ocurre parte de la digestión enzimática ante la presencia de ácido clorhídrico y enzimas.

## **DESARROLLO RUMINAL EN TERNEROS**

La capacidad fermentadora del rumen no está presente en el rumiante recién nacido (ternero). Al nacer, el rumen no es un órgano funcional y el sistema digestivo y metabólico del rumiante no se diferencia de cualquier otro mamífero recién nacido.

El desarrollo ruminal se puede dividir en tres fases:

- Fase de lactante o no rumiante (0 – 3 semanas).
- Fase de transición (3 – 8 semanas) donde pasará de alimentarse a base de leche a alimentarse de productos vegetales.
- Fase de rumiante (a partir de las 8 semanas) alimentación a base de forrajes y cereales, donde ya puede sustentarse exclusivamente de alimentos vegetales. Esta fase está en dependencia del sistema de cría que se practique.

La duración de cada fase es aproximada y se puede manipular.

## **FASE DE LACTANTE O NO RUMIANTE**

En esta fase el animal obtiene toda su energía a través de la digestión de la leche por enzimas propias. El calostro y luego la leche le aportarán nutrientes, inmunidad pasiva y contribuirán al mantenimiento de la temperatura corporal (Orskov y Ryle, 1998). Durante el primer mes, las enzimas primordiales son la lactasa y la quimosina. El

volumen y actividad del resto de las enzimas es muy bajo en un principio, incrementándose con la edad (Ørskov, 1988).

Aunque en el ternero en esta fase el estómago se comporte como el de un monogástrico y los preestómagos sean muy rudimentarios, como se ha mencionado con anterioridad su patrón de contracción ya está establecido. La leche se digiere en el abomaso que es el compartimento más desarrollado al nacimiento y el único glandular, donde se secretarán las enzimas (renina, pepsina) y el ácido clorhídrico necesarios para coagular y degradar la caseína de la leche; el suero lácteo pasará al duodeno con la lactosa disuelta que será absorbida a nivel intestinal. El paso directo de la leche al abomaso ocurre a través de la gotera esofágica que es un pliegue muscular que se forma en los compartimentos pre gástricos y al cerrarse formará un conducto que permitirá que el fluido ingerido pase directamente desde el cardias hasta el abomaso (Cunningham, 2009).

### **FASE DE TRANSICIÓN**

Esta constituye la fase más crítica ya que el rumiante pasa de depender de las enzimas gástricas propias, a la simbiosis con los microorganismos ruminales y el retículo-rumen debe pasar de ser un órgano no funcional a ser una cámara de fermentación que aporte los productos de la fermentación necesarios para el crecimiento y mantenimiento del animal. Durante esta fase se producen una serie de cambios hacia el rumen maduro, que le permitirán mantenerse a base de forrajes y / o concentrados, como son aumentar el tamaño y adquirir las proporciones relativas adultas (Desarrollo anatómico), establecer una población microbiana estable (Desarrollo microbiológico) y una diferenciación papilar y metabólica para poder absorber y utilizar los productos de la fermentación (Warner, 1991). Estos cambios se producen paulatinamente a medida que el ternero comienza a consumir alimentos sólidos, estando todos interrelacionados entre sí para asegurar el éxito del destete sin que se afecte el crecimiento y la salud del animal (Klein et al., 1987).

### **DESARROLLO ANATÓMICO**

Al nacer el ternero el abomaso es la parte más desarrollada, representando el 50% del peso y tamaño del estómago (Lyford, 1993). Durante la fase de lactancia las pautas de crecimiento de los distintos compartimentos son similares y al iniciarse el consumo de alimentos sólidos comienza un rápido crecimiento del retículo-rumen. A las 8 semanas de edad, el rumen experimenta su máximo crecimiento, alcanzando proporciones próximas a las del adulto con respecto a los otros órganos digestivos y al peso

corporal. Posteriormente la totalidad del estómago aumentará en capacidad y en peso, proporcionalmente al peso corporal. Cabe señalar que en el rumiante adulto el rumen llega a representar el 80% de la capacidad gástrica. El omaso y abomaso no sufren estos rápidos crecimientos, sino que crecen lentamente durante todo el desarrollo (Cunningham, 2009).

El tamaño, forma y capacidad de los distintos compartimentos gástricos de los rumiantes dependen de la alimentación, la edad y la talla de los animales. Al año o año y medio de vida el estómago debe alcanzar un desarrollo adecuado; en este momento el retículo-rumen representará entre el 65-80 % de la capacidad total del complejo gástrico y al omaso y el abomaso corresponden el 5 y el 7 % respectivamente (Cunningham, 2009). Church (1976) ha revisado la capacidad y el tamaño relativos de los órganos digestivos en distintas etapas de crecimiento en especies diferentes y con distintas dietas. Una forma de evaluar los cambios de medidas de volumen y motilidad es realizando ultrasonografía pero los compartimentos no siempre son totalmente explorables, además esta es una interesante herramienta para realizar prácticas clínicas concernientes a detectar afecciones que provocan desordenes digestivos (Braun et al., 2013).

Conforme al crecimiento del animal los compartimentos gástricos irán adquiriendo las posiciones adultas dentro de la cavidad abdominal, y los otros órganos abdominales se redistribuirán para dar cabida al rápido desarrollo del rumen que llegará a ocupar casi la totalidad del lado izquierdo de la cavidad (Tamate et al., 1962).

Para determinar el desarrollo del estómago de los rumiantes se han utilizado varios métodos. Aunque cada uno de estos calcula el tamaño y la capacidad relativa del órgano, la exactitud de la determinación puede verse influenciada por el contenido de grasa y humedad del tejido fresco, por el desarrollo relativo del epitelio y del músculo, por la distensión cuando se llena, por el consumo de alimento antes de la determinación, por la velocidad del paso de la digesta; Church (1976) sugiere que el mejor procedimiento para medir el llenado fisiológico sería la determinación del contenido del estómago de un animal alimentado normalmente y para lograr un rápido desarrollo del rumen, considera como un factor clave el consumo de una dieta que permita el crecimiento del epitelio ruminal y de la masa muscular promoviéndose así la motilidad ruminal.

El tiempo que tardan los animales en desarrollar anatómicamente y funcionalmente el rumen determina el ritmo al que los procesos digestivos pasan de depender de las enzimas producidas por el animal, a la relación simbiótica que se establece con los microorganismos ruminales (Ørskov, 1988).

## **DESARROLLO PAPILAR Y MUSCULAR.**

El consumo de alimento sólido promueve el rápido desarrollo del rumen, tanto en tamaño como en funcionamiento, siendo entendido como desarrollo del rumen la implantación de los microorganismos y su capacidad para absorber los nutrientes derivados de los procesos fermentativos que allí se suceden (Lyford, 1993). Los alimentos producen dos tipos de estimulación, una física y una metabólica. La primera está producida por alimentos voluminosos, como los forrajes o material inerte introducido dentro del rumen, que aumentan el volumen del retículo–rumen y su tono muscular; la segunda, está mediada por los productos de fermentación sobre la diferenciación epitelial (Church, 1988).

El crecimiento de las papilas es lento en el rumen de terneros alimentados exclusivamente con leche durante 16 semanas (2 mm de longitud aproximadamente), mientras que cuando se incluyen alimentos sólidos en la dieta se logra un mejor crecimiento de las papilas (Lyford, 1993). Los materiales voluminosos sin potencial para ser fermentados no estimulan el desarrollo del epitelio aunque provocan la expansión y crecimiento muscular del rumen (Lyford, 1993). El epitelio es importante para la absorción y metabolismo de minerales y AGV, protege también a los tejidos subyacentes de la abrasión realizada por la digesta y la invasión microbiana, evitando la aparición de abscesos hepáticos (Bacha, 1999). Diversos estudios tratan de evaluar las adaptaciones moleculares del epitelio ruminal y el rol en la expresión de genes de proliferación celular y metabólicos que se producen durante la fase de transición con diferentes dietas sugiriendo su relación en la regulación nutricional para el desarrollo del rumen (Laarman et al., 2012; Naeem et al., 2012; Connor et al., 2014).

La absorción de productos finales de la fermentación depende del adecuado desarrollo de las papilas del epitelio rumino-reticular y de una correcta circulación capilar (Bacha, 1999). Al ver que el desarrollo papilar estaba estimulado por productos de la fermentación, muchos experimentos se llevaron a cabo para determinar que AGV eran más estimulantes. El más eficaz en el desarrollo papilar parece ser el butirato, seguido por propionato y poco el acetato (Warner, 1991). Los primeros estudios describieron la acción del butirato y el propionato mediante un mecanismo directo, por un aumento del flujo sanguíneo en el epitelio ruminal durante su metabolismo. El contacto continuo y en cantidad suficiente de los AGV, especialmente del butírico y en menor medida el propiónico, con el epitelio estratificado del rumen, estimula el desarrollo de las papilas y junto con la presencia del dióxido de carbono que estimula el flujo sanguíneo hacia el epitelio retículo ruminal, se desarrolla la principal función de este órgano, que es la absorción de productos para la producción de energía (Warner, 1991).

Los alimentos iniciadores que contienen butirato de sodio tienen un efecto positivo en la ganancia de peso, en la conversión alimenticia y en peso vivo en el pre destete, no así en el pos destete (Serbester et al., 2014). Kato et al. (2011) y Guilloteau et al. (2009) concluyen que la adición de butirato de sodio como aditivo en los alimentos mejora el desempeño de los animales debido en parte a una mejora de la sensibilidad a la insulina y a un mejor desarrollo funcional del aparato digestivo, otros autores encontraron que al adicionar cantidades crecientes de butirato de sodio micro encapsulado disminuía el consumo de alimento y el desempeño productivo (Wanat et al, 2015). En una reciente publicación se indica que el desarrollo ruminal en terneras se ve afectado por algo más allá del butirato (Khan *et al.* 2011) y hay que considerar, especialmente en las primeras semanas de vida, otros agentes que puedan influir.

Los terneros alimentados con altas cantidades de leche tienen un retraso en el desarrollo papilar, al contrario, el desarrollo ruminal es estimulado con dietas bajas en leche y altas en concentrados, este efecto no se correlaciona con la proporción molar de butirato pero si con la concentración molar de propionato en el rumen y el factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1) (Zitnan et al., 2005); los niveles plasmáticos de glucosa y de insulina no se relacionan con el desarrollo ruminal de terneros que consumen dietas altas en leche (Zitnan et al., 2005). Shen et al. (2004) alimentando cabritos con dietas altas en energía observaron un mayor largo de papilas, ancho de papilas y densidad de papilas comparados con cabritos alimentados con dietas bajas en energía, a su vez los primeros tenían mayores concentraciones plasmáticas de IGF-1 y el epitelio de las papilas tenía mayor cantidad de receptores para IGF-1. Sin embargo, se requiere de mayor investigación para determinar la función de estos y otros factores de crecimiento relacionados con el desarrollo ruminal.

Los alimentos muy fermentables como los concentrados producen gran cantidad de AGV que estimulan el desarrollo papilar. Al contrario, los alimentos forrajeros estimulan el desarrollo muscular, pero producen menos AGV para estimular el desarrollo epitelial (Warner et al., 1956; Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962).

El efecto estimulador de los alimentos forrajeros sobre la musculatura y el volumen ruminal, y de los productos de fermentación sobre el desarrollo epitelial es reversible. La fermentación ruminal debe ser continua para que se mantenga la integridad de las papilas ruminales y si se vuelve a una dieta a base de leche, se producirá una regresión papilar y del tejido muscular del retículo-rumen (Warner, 1991).

Según Bacha (1999), cuando los animales consumen forraje de baja calidad como único alimento sólido, el desarrollo de las papilas ruminales es lento y poco queratinizado debido a la escasa producción de ácidos grasos volátiles y al elevado contenido de fibra no degradable.

El largo de papilas (LP) ruminales es considerada la variable más importante para medir el desarrollo ruminal en terneros en respuesta a diferentes tratamientos dietéticos, le siguen el ancho de papilas (AP) y luego el espesor de la pared ruminal (EP) (Lesmeister et al., 2004). Si bien hay variaciones de estos parámetros en las diferentes zonas del rumen Lesmeister (2004) recomiendan muestrear de la parte craneal y caudal de los sacos dorsal y ventral del rumen y halla buena correlación entre el desarrollo de LP, AP y EP dentro de cualquier área con los cambios de desarrollo de otras áreas. La mayoría de los estudios micromorfométrico se han realizado utilizando mediciones con microscopía óptica (Beharka et al., 1998; Ghezzi et al., 2000; Zitnan et al., 2005; Berends et al., 2012), luego mayor precisión se ha logrado con la microscopía electrónica de barrido (Ahmed et al., 2013), microscopía electrónica de transmisión (Swan y Groenewald, 2000) y un reciente trabajo ha utilizado la microtomografía computada proponiendo que tiene el potencial de mejorar la precisión y la eficiencia de las mediciones del tejido ruminal; sin embargo, aún se requiere una estandarización de cada factor implicado en la preparación del tejido, formación de imágenes, y la ubicación de las mediciones de papilas (Steele et al., 2014).

Los concentrados preiniciadores son dietas sólidas que formuladas apropiadamente y suministradas de una determinada manera, logran un buen desarrollo del rumen en un lapso de tiempo breve, logrando así una rápida transición de lactante a rumiante. La composición de las raciones, sus ingredientes y su procesamiento, tienen gran influencia en el desarrollo papilar y además, en el consumo y en la digestibilidad a nivel ruminal y posruminal (Lesmeister y Heindrich, 2004).

Los parámetros generalmente usados para medir el desarrollo del rumen son: el peso del tejido, forma relativa y posición, capacidad de los compartimentos, desarrollo papilar, peso del contenido y niveles de glucosa en sangre (Warner et al., 1956; Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962).

### **TÉCNICAS DE DISECCIÓN DEL RUMEN PARA EL EXAMEN Y LA TOMA DE MUESTRAS DE TEJIDOS.**

McGavin y Morrill (1976) recomiendan la separación de todos los sacos para examinar completamente el tejido. Proponen una técnica de disección para el examen y la evaluación óptima de las cavidades y de los componentes del retículo-rumen; para ello, primero separan manualmente las serosa, las inserciones musculares fibrosas del estómago, separan el omaso y el abomaso cortando a través de la unión retículo-omasal y luego colocan retículo-rumen en su lado derecho. Para exponer la superficie

mucosa hacen una serie de incisiones. La primera incisión se realiza en la superficie craneal del retículo, siguiendo sagitalmente y en dirección dorso-caudal hasta la cisura rumino-reticular. La segunda incisión desde el punto anterior, caudalmente y por el surco longitudinal izquierdo hacia caudal y luego por los pilares separando los sacos ciegos caudoventral y ventral, el saco dorsal, ventral y craneal del rumen. Luego, tras la observación, toman muestras de tejidos de diferentes regiones y las fijan en formalina o glutaraldehído al 2,5 % para estudios histológicos.

Hill et al. (2005) discute como parte de un estudio de investigación en nutrición para evaluar el desarrollo ruminal en terneros jóvenes utilizando diferentes raciones, una técnica utilizada para la disección, el muestreo y análisis de tejidos. El método permite el examen de los distintos sacos del rumen (dorsal, ventral, craneal y caudal) y en su estudio utiliza microscopía electrónica de barrido para medir densidad de papilas y la histología para medir la longitud y el ancho de papilas. Una vez expuesto los compartimentos del estómago, liga en el esfínter cardial y el esfínter pilórico y cortando en estos puntos los elimina de la cavidad abdominal. El rumen se coloca sobre su lado ventral, elimina el retículo y realiza una incisión desde el esfínter cardial continuando en una dirección lateral hasta que el interior del rumen es expuesto. Con este método divide la parte dorsal del rumen al medio. Con esta técnica todos los sacos del rumen permanecen unidos y proporciona la oportunidad de ver la transición de los cambios en el tejido ruminal en sus diferentes partes.

Lesmeister et al. (2004) proponen un procedimiento de trabajo para establecer un criterio de toma de muestras de tejido ruminal que sea repetible y que permita determinar áreas ruminales que mejor se adapten para identificar diferencias en el desarrollo ruminal entre tratamientos. El retículo-rumen se abre en un plano más o menos simétrico a la derecha e izquierda, separadas por una porción ventral del rumen que se mantuvo intacta. Posteriormente, para el muestreo de las papilas, el rumen se separa en nueve zonas de muestreo diferentes, a saber: porción caudal del saco ciego caudo-ventral, lado derecho de saco caudo-dorsal, lado izquierdo del saco caudo-dorsal, el lado derecho del saco cráneo-dorsal, lado izquierdo del saco cráneo-dorsal, lado derecho del saco cráneo-ventral, lado izquierdo del saco cráneo-ventral, lado derecho de la porción ventral del saco ciego caudo-ventral y parte izquierda de la porción ventral del saco ciego caudoventral. En su trabajo evaluó los lados derecho e izquierdo para medir las correlaciones entre las áreas para diferentes parámetros y para determinar la eficacia del procedimiento en la detección de diferencias entre tratamiento. Los resultados indicaron que las muestras deben tomarse de las zonas craneal y caudal de los sacos dorsal y ventral del rumen para representar suficientemente el crecimiento y el desarrollo papilar a lo largo de todo el rumen.

Hill et al. (2005), en contraste con McGavin y Morrill (1976), inmediatamente después de la recolección, fijan las muestras en solución Trump (McDowell y Trump, 1976), en un volumen de 5 a 10 veces el volumen de la muestra durante 72 h mínimo y luego las procesaron para su evaluación con microscopio electrónico de barrido para medir densidad de papilas y la histología para determinar tamaño de las papilas. Las muestras fijadas en la solución de Trump pueden ser teñidas y procesadas por medios convencionales y embebidas en bloques de parafina. Los bloques de parafina fijados en solución de Trump no tienen las características frágiles de las realizadas el uso de tejido fijado glutaraldehído 2 % y tienen un período de almacenamiento más largo, de hasta varios años.

## **OBJETIVO**

Evaluar cambios anatomo e histomorfológicos del rumen como indicadores de su desarrollo en terneros Holando Argentino alimentados con un preiniciador para realizar un desleche a los 30 días de edad.

## **FUNDAMENTACIÓN**

Uno de los principales objetivos de la alimentación temprana de terneras es maximizar el desarrollo ruminal, para alcanzar la capacidad de utilizar y aprovechar los forrajes complementados con el alimento balanceado. Para alcanzar dicho desarrollo, el tracto gastrointestinal y específicamente el rumen, debe sufrir una serie de cambios anatómicos y fisiológicos que son estimulados y o acelerados por el tipo de dieta (Suárez et al., 2007). Es importante indicar que un adecuado desarrollo ruminal, en animales de reemplazo, tiene que ver más con la alimentación que con la edad de los terneros y esto debe ser considerado al momento del destete para poder obtener animales con una baja incidencia de enfermedades, adecuadas ganancias de peso y que puedan llegar a producir eficientemente. Además de pretender un adelanto en la funcionalidad ruminal, otro aspecto que interesa con un destete temprano es lograr un ahorro en la cantidad de dieta líquida a utilizar, como asimismo un acortamiento del período de suministro de dicha dieta; además otras ventajas como son, el ahorro en mano de obra, facilitar el manejo de la crianza y disminuir los días susceptibles a las diarreas.

En la Argentina muy pocos trabajos se han realizado evaluando las modificaciones durante el desarrollo ruminal en terneros Holando Argentino (Lis et al., 2003) y la información que se pueda aportar da consistencia técnico científica a las prácticas que se realizan o que pretendan innovar en los métodos de crianza artificial en terneros Holando Argentino u otras razas lecheras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### a- LUGAR DE REALIZACIÓN

El ensayo se realizó en el predio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Casilda, Universidad Nacional de Rosario, en el sector de ganadería en un lote con sombra natural.

### b- ANIMALES

Se utilizaron 30 terneros macho de la raza Holando Argentino provenientes de diferentes tambos de una empresa tampera del departamento Iriondo, Santa Fe. Los animales eran lactantes de entre 2 y 4 días de edad y se dividieron en forma homogénea en dos grupos (**G I** y **G II**) para su crianza en estacas individuales e identificados con collar rojo **G I**, azul **GII** y con caravanas numeradas colocadas en el pabellón auricular (Figura 2).



Figura 2- Lote de terneros divididos en G I (collar azul) y GII (collar rojo).

### c- DIETAS

Los terneros del **G I** fueron alimentados con sustituto lácteo (composición en el Anexo I) al 10 % a temperatura de 37 °C en dos tomas diarias de 2 litros, repartidos en la mañana y en la tarde hasta los 21 días y luego, hasta los 30 días, una sola toma de 2 litros, momento en que se suspendió el sustituto, además desde el primer día de llegada se suministró un alimento balanceado peletizado Preiniciador Terneros según protocolo de tabla I hasta los 35 días; la composición química del balanceado se detalla en el Anexo II.

Los terneros del **G II** fueron alimentados con sustituto lácteo al 10 % a temperatura de 37 °C en dos tomas diarias de 2 litros, repartidos en la mañana y en la tarde hasta los 50 días, además desde el primer día de llegada se suministró un alimento balanceado peletizado Iniciador Terneros según protocolo de tabla II; la composición química del balanceado se detalla en el Anexo III.

A los dos grupos, a partir de los 30 días se les agregó fardo de alfalfa de buena calidad y durante toda la experiencia se les ofreció agua a voluntad.

**Tabla 1. Suministro de Preiniciador Ternero.**

Semana	Preiniciador	Iniciador	Leche (litros)	Agua fresca
1	A voluntad (inicio 100 g)		4	A voluntad
2	A voluntad		4	A voluntad
3	A voluntad (800 g aprox.)		2	A voluntad
4	500 g	500 g	2*	A voluntad
5		A voluntad		A voluntad
6		A voluntad		A voluntad
7		A voluntad		A voluntad
8		A voluntad		A voluntad

\*Retirar la leche, si se alcanza el consumo de entre 800-1000 g durante 3 días seguidos.  
Presentación: Peleteado de 4 mm

**Tabla 2. Suministro de Iniciador Ternero.**

Semana	Iniciador (g)	Leche (litros)	Agua fresca
1-2	100-200	4	A voluntad
3-4	200-400	4	A voluntad
5-6	400-800	4	A voluntad
7-8	900-1000	4*	A voluntad

\*Retirar la leche, si se alcanza el consumo de entre 800-1000 g durante 3 días seguidos.  
Presentación: Peleteado de 4 mm

#### *d- ESTUDIOS ANATOMOMORFOLÓGICOS*

Para el estudio morfológico del rumen, se realizó la eutanasia de animales semanalmente (sedación profunda y anestesia con xilacina en dosis de 1 mg/kg, luego inconciencia por conmoción cerebral y posterior exanguinación); el primer día dos terneros lactantes, la segunda semana un ternero de cada grupo y luego semanalmente dos animales de cada grupo. Los animales se muestrearon en la tarde antes de la segunda toma de leche diaria. Se realizó la apertura de los animales en posición de decúbito lateral izquierdo, se ligó el extremo distal del esófago y el píloro y por corte se separó el estómago. Por disección, se separaron el retículo-rumen, el omaso y el abomaso; se pesaron individualmente en balanza digital con sus contenidos, luego de vaciados y lavados se pesaron sin los mismos. Para facilitar la comparación de los pesos de los CE con los que se encuentran en la bibliografía y evitar el efecto de confusión por ensayos realizados en animales de diferentes edades, diferentes dietas y consumo de concentrado, los pesos se expresaron en valor absoluto y luego en porcentaje de cada uno en relación al peso total del estómago.

El retículo-rumen se abrió según la técnica de Lesmeister et al. (2004), se realizó una observación de la mucosa a la vista (ojo desnudo) y en lupa estereoscópica (Olimpus). Para estudios histológicos se colectaron muestras de tejido ruminal de 2 por 1 cm en cuatro zonas: en la parte craneal y en la caudal de la curvatura dorsal del saco dorsal y de la parte craneal y caudal de la curvatura ventral del saco ventral del rumen; las mismas se lavaron con agua, se montaron sobre un cartón para mantenerlas extendidas y se fijaron en formol 10 % neutro bufferado. Se procesaron por técnicas histológicas de rutina, se deshidrataron en alcohol etílico en graduación creciente de 50 a 100% y luego en xilol, se imbibieron en parafina, se cortaron a 5  $\mu$ m y se colorearon con hematoxilina y eosina. Para evaluar el desarrollo ruminal, se realizó la medición con regla micrométrica, incorporada al ocular en un microscopio Olympus CX40; de cada trozo de tejido muestreado, se seleccionaron 10 papilas al azar, a las cuales se les realizaron mediciones de longitud y ancho de las papilas. El largo de papilas se midió sólo en las papilas principales cuya contextura era evaluada por su mayor longitud (Ghezzi, et al., 2000), el ancho de papilas principales en su base. También se midió el espesor de la capa muscular y de paraqueratina en 10 zonas.

#### *e- ANÁLISIS*

La evaluación estadística para cada parámetro se realizó mediante un test de diferencia de medias según dieta y semana con un nivel de significancia de 0,05.

Debido a que no se hicieron repeticiones los resultados son de carácter descriptivo para este ensayo.

## RESULTADOS

En ambos grupos se observa una evolución similar en los cambios relativos de peso en los compartimentos estomacales con sus contenidos ( $p>0,05$ ), teniendo en los lactantes al inicio del ensayo una relación similar entre el retículo-rumen y el abomaso; luego un rápido aumento proporcional del retículo-rumen aproximado a un 80 % entre la tercera y cuarta semana para mantenerse hasta la 7 semana entre el 80 y el 86 %, en tanto que el abomaso fue disminuyendo su peso relativo. El omaso mantuvo una relación más constante con escasa variación relativa en un rango del 4 al 6 %. Los pesos absolutos y relativos entre los compartimentos con sus contenidos se presentan en Tabla 3 y 4.

Al inicio de la experiencia (animales de entre 2 y 4 días de vida) el peso relativo del retículo-rumen y el abomaso sin el contenido fueron similares ( $p>0,05$ ), correspondiéndoles 42 % y 44 % respectivamente; a su vez, un 14 % correspondió al omaso. En las semanas siguientes en ambos grupos hay un rápido y progresivo aumento del peso relativo del retículo-rumen siendo en el G I ligeramente superior, aunque no significativo, y una disminución en el abomaso. El peso relativo del omaso se mantuvo constante. Los pesos absolutos y relativos entre los compartimentos sin sus contenidos se presentan en Tabla 5 y 6.

**Tabla 3. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros con contenido en el G I.**

Semana	Retículo-Rumen		Omaso		Abomaso	
	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %
<b>0</b>	719 (±150)	<b>47</b>	82 (±5)	<b>5</b>	737 (±266)	<b>48</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	920 (±0)	<b>54</b>	93 (±0)	<b>5</b>	700 (±0)	<b>41</b>
<b>2<sup>a</sup></b>	1743 (±422)	<b>64</b>	135 (±16)	<b>5</b>	860 (±150)	<b>31</b>
<b>3<sup>a</sup></b>	2952 (±774)	<b>78</b>	137 (±40)	<b>4</b>	684,5 (±279)	<b>18</b>
<b>4<sup>a</sup></b>	3920 (±1000)	<b>79</b>	215 (±36)	<b>4</b>	850 (±112)	<b>17</b>
<b>5<sup>a</sup></b>	4525 (±1200)	<b>80</b>	336 (±81)	<b>6</b>	803 (±479)	<b>14</b>
<b>6<sup>a</sup></b>	8350 (±520)	<b>85</b>	437 (±10)	<b>4</b>	1007 (±180)	<b>10</b>
<b>7<sup>a</sup></b>	9600 (±565)	<b>86</b>	442 (±67)	<b>4</b>	1105 (±912)	<b>10</b>

**Tabla 4. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros con contenido en el G II.**

Semana	Reticulo-Rumen		Omaso		Abomaso	
	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %
<b>0</b>	719 (±150)	<b>47</b>	82 (±4)	5	737 (±266)	<b>48</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	919 (±0)	<b>54</b>	95 (±0)	6	680 (±0)	<b>40</b>
<b>2<sup>a</sup></b>	2675 (±1500)	<b>78</b>	120 (±35)	4	631 (±302)	<b>18</b>
<b>3<sup>a</sup></b>	4550 (±353)	<b>78</b>	210 (±12)	4	1106 (±65)	<b>19</b>
<b>4<sup>a</sup></b>	4044 (±1623)	<b>80</b>	244 (±28)	5	767 (±44)	<b>15</b>
<b>5<sup>a</sup></b>	4950 (±777)	<b>85</b>	370 (±62)	6	483 (±0)	<b>8</b>
<b>6<sup>a</sup></b>	5650 (±1900)	<b>82</b>	355 (±21)	5	868 (±106)	<b>13</b>
<b>7<sup>a</sup></b>	6850 (±353)	<b>80</b>	523 (±159)	6	1206 (±376)	<b>14</b>

**Tabla 5. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros sin contenido en el G I.**

Semana	Reticulo-Rumen		Omaso		Abomaso	
	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %
<b>0</b>	219 (±58)	<b>42</b>	76 (±21)	14	230 (±10)	<b>44</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	240 (±0)	<b>47</b>	74 (±0)	14	200 (±0)	<b>39</b>
<b>2<sup>a</sup></b>	363 (±40)	<b>50</b>	114 (±5)	16	243 (±3)	<b>34</b>
<b>3<sup>a</sup></b>	589 (±85)	<b>60</b>	121 (±34)	12	266 (±19)	<b>27</b>
<b>4<sup>a</sup></b>	987 (±5)	<b>66</b>	171 (±16)	11	346 (±6)	<b>23</b>
<b>5<sup>a</sup></b>	1215 (±134)	<b>66</b>	298 (±57)	16	315 (±75)	<b>17</b>
<b>6<sup>a</sup></b>	1700 (±70)	<b>70</b>	380 (±28)	16	352 (±31)	<b>14</b>
<b>7<sup>a</sup></b>	1995 (±134)	<b>74</b>	312 (±74)	12	386 (±103)	<b>14</b>

**Tabla 6. Peso medio y relación porcentual de los compartimentos estomacales de los terneros sin contenido en el G II.**

Semana	Reticulo-Rumen		Omaso		Abomaso	
	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %	Peso absoluto (g)	Peso Relativo %
<b>0</b>	219 (±58)	<b>42</b>	76 (±2)	<b>14</b>	230 (±10)	<b>44</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	240 (±0)	<b>46</b>	75 (±0)	<b>14</b>	210 (±0)	<b>40</b>
<b>2<sup>a</sup></b>	427 (±180)	<b>49</b>	110 (±40)	<b>13</b>	335 (±45)	<b>38</b>
<b>3<sup>a</sup></b>	855 (±35)	<b>56</b>	329 (±28)	<b>22</b>	345 (±63)	<b>23</b>
<b>4<sup>a</sup></b>	1190 (±381)	<b>68</b>	212 (±31)	<b>12</b>	345 (±10)	<b>20</b>
<b>5<sup>a</sup></b>	1161 (±132)	<b>69</b>	238 (±87)	<b>14</b>	291 (±9)	<b>17</b>
<b>6<sup>a</sup></b>	1404 (±79)	<b>70</b>	274 (±34)	<b>14</b>	337 (±18)	<b>17</b>
<b>7<sup>a</sup></b>	1610 (±14)	<b>68</b>	330 (±74)	<b>14</b>	423 (±33)	<b>18</b>

### **Descripción macroscópica de la mucosa ruminal**

A la observación visual de la mucosa ruminal no se observaron diferencias en el tamaño, forma y distribución de las papilas ruminales entre las dietas.

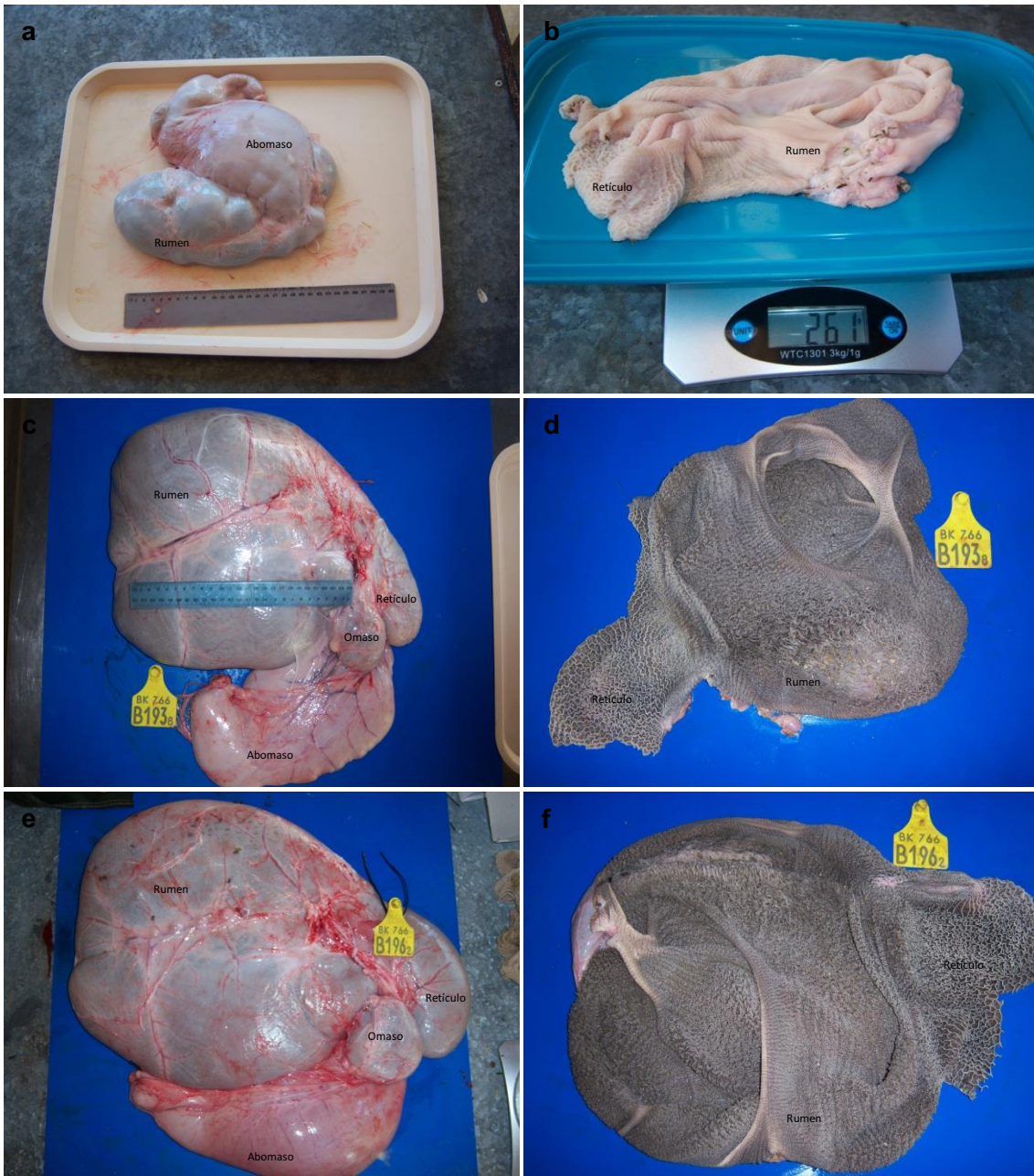
En los terneros, lactantes la mucosa del rumen presentó una superficie blanquecina, algo brillante, suave, con ligeras sobreelevaciones nodulares del tamaño de uno a dos milímetros de diámetro; la pared ruminal era blanquecina, delgada, muy flexible y algo elástica (Figuras 3a y 3b).

A la semana de comenzar la ingestión de alimento balanceado la superficie estaba cubierta de pequeñas sobreelevaciones cónicas blanco grisáceas a gris más oscuro en las puntas y un delgado espesor de pared.

A la segunda semana la mucosa estaba revestida de proyecciones filiformes pequeñas de puntas redondeadas de color blanco grisáceo.

En la tercera y cuarta semana se observaron características similares a la anterior pero de mayor tamaño y muy juntas (Figuras 3c y 3d).

En la quinta, sexta y séptima semana las papilas se fueron ensanchando progresivamente y aumentando de tamaño tomando un aspecto foliáceo y color grisáceo con tonos oscuros y rugosas al tacto (Figuras 3e y 3f).



**Figura 3a-** Estómago de ternero de 3 días de edad, el abomaso representa aproximadamente el 50 % del estómago.

**Figura 3b-** Superficie mucosa del Retículo-Rumen de ternero de 3 días de edad, superficie blanquecina, suave, con ligeras sobrelevaciones nodulares; dieta láctea.

**Figura 3c-** Estómago de ternero de 4 semanas de edad, marcado cambio en las relaciones de los estómagos.

**Figura 3d-** Superficie mucosa del Retículo-Rumen de un ternero de 4 semanas de edad, rumen con superficie rugosa, de color grisáceo con tonos oscuros; dieta láctea y alimento balanceado.

**Figura 3e-** Estómago de ternero de 6 semanas de edad. Proporciones de los estómagos similares al rumiante adulto.

**Figura 3f-** Superficie mucosa del Retículo-Rumen de 6 semanas de edad, rumen con superficie rugosa, de color gris oscuros y papilas evidentes; sólo a base de alimento balanceado y fardo.

## **Descripción microscópica de la mucosa ruminal**

Los terneros lactantes, de 3 días de edad, presentaron una mucosa ruminal con un epitelio plano estratificado de 3 a 8 capas celulares con escasas células balonizadas en las puntas y con una delgada capa homogénea de queratina y paraqueratina, superficialmente con pequeñas sobreelevaciones papilares rudimentarias (Figura 8a y Figura 9a).

Se observó un comportamiento similar en el crecimiento papilar a lo largo de las siete semanas en los terneros alimentados con el preiniciador (G I) y con el iniciador (G II) ( $p > 0,05$ ).

A la semana de edad, las papilas fueron ligeramente más elevadas, tomando formas digitiformes y lanceoladas con espacios interpapilares bien definidos.

En la segunda semana las papilas aumentaron de tamaño y levemente de espesor, adquirieron forma digitiforme y mayor queratinización, en algunas papilas comienzan a evidenciarse proyecciones secundarias (Figura 8b).

A la tercer semana continúan creciendo y se hacen evidentes papilas con 2 a 3 ramificaciones laterales intercaladas con papilas digitiformes largas, aumenta levemente el espesor de queratina sin diferencias entre los grupos ( $p > 0,05$ ) (Figura 8c y Figura 9b).

En las semanas siguientes las papilas aumentan de tamaños, se observaron de forma digitiformes largas y también arboriformes grandes. No se observaron diferencias significativas en el largo y ancho de papilas por región analizada para ambos grupos ( $p > 0,05$ ).

El espesor de la capa de queratina en las diferentes zonas analizadas tuvo valores similares durante las semanas; se produjo un aumento marcado (3 a 4 veces) en las dos primeras semanas y luego, en las siguientes semanas se mantuvo en valores constantes (Figuras 8d, 8e y 8f y Figura 9c). En algunos casos era notorio el desprendimiento de laminillas de queratina.

Los valores obtenidos para cada grupo, para las diferentes regiones y por semana, se presentan en las Tablas 7, 8, 9 y 10. El largo de papilas para cada grupo, para las diferentes regiones y por semana, se esquematizan en las Figuras 4, 5, 6 y 7.

## **Espesor de capa muscular**

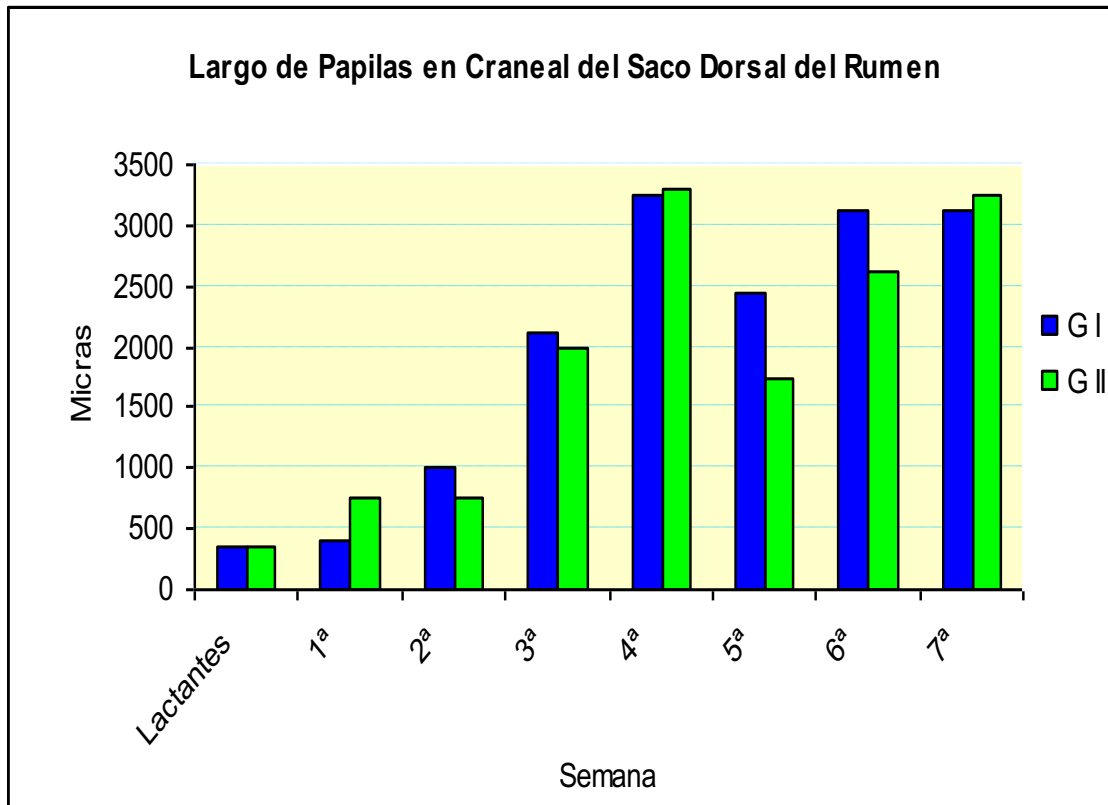
Los espesores de capa muscular fueron irregulares a lo largo de las 7 semanas, con poca diferencia a favor del G I alrededor de la 4ª semana pero sin diferencias significativas para ambos grupos ( $p > 0,05$ ). Los valores obtenidos para cada grupo, para las diferentes regiones y por semana, se presentan en las Tabla 7, 8, 9 y 10.

**Tabla 7. Medidas en micras en zona craneal del Saco Dorsal del Rumen por semana y por grupo.**

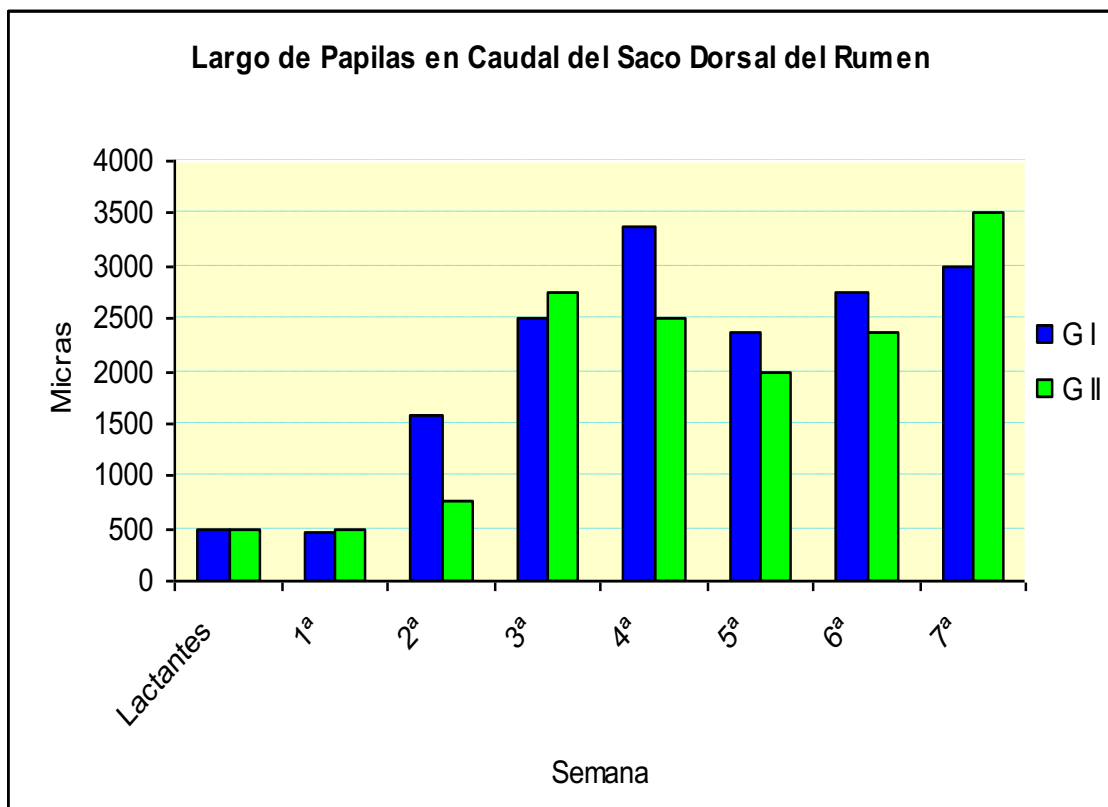
	Semana														
	0	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>		7 <sup>a</sup>	
		G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II
<b>Largo de papila</b>	<b>350</b> ±35	<b>400</b> ±32	<b>750</b> ±180	<b>1000</b> ±154	<b>750</b> ±176	<b>2125</b> ±205	<b>2000</b> ±255	<b>3250</b> ±275	<b>3300</b> ±265	<b>2435</b> ±187	<b>1750</b> ±215	<b>3125</b> ±278	<b>2625</b> ±260	<b>3125</b> ±220	<b>3250</b> ±272
<b>Ancho de papila</b>	<b>200</b> ±16	<b>250</b> ±15	<b>300</b> ±25	<b>400</b> ±31	<b>350</b> ±22	<b>450</b> ±24	<b>425</b> ±22	<b>500</b> ±54	<b>400</b> ±42	<b>600</b> ±55	<b>375</b> ±48	<b>625</b> ±74	<b>500</b> ±52	<b>500</b> ±28	<b>500</b> ±75
<b>Espesor de Paraqueratina</b>	<b>3</b> ±0,5	<b>5</b> ±1,4	<b>10</b> ±2,1	<b>10</b> ±2	<b>12,5</b> ±1,8	<b>12,5</b> ±2,1	<b>12</b> ±2,4	<b>13</b> ±2,6	<b>13</b> ±2,1	<b>12,5</b> ±2,2	<b>10</b> ±2	<b>13</b> ±2,3	<b>14,5</b> ±1,8	<b>12,5</b> ±1,7	<b>12,5</b> ±1,8
<b>Espesor de Capa Muscular</b>	<b>1000</b> ±115	<b>2500</b> ±82	<b>2000</b> ±110	<b>2000</b> ±53	<b>2200</b> ±80	<b>1125</b> ±32	<b>1750</b> ±41	<b>2250</b> ±50	<b>1750</b> ±83	<b>1500</b> ±63	<b>1625</b> ±84	<b>1500</b> ±52	<b>1875</b> ±62	<b>2000</b> ±85	<b>1440</b> ±54

**Tabla 8. Medidas en micras en zona caudal del Saco Dorsal del Rumen por semana y por grupo.**

	Semana														
	0	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>		7 <sup>a</sup>	
		G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II
<b>Largo de papila</b>	<b>500</b> ±40	<b>450</b> ±32	<b>500</b> ±50	<b>1590</b> ±100	<b>750</b> ±145	<b>2500</b> ±210	<b>2750</b> ±174	<b>3375</b> ±132	<b>2500</b> ±161	<b>2375</b> ±122	<b>2000</b> ±150	<b>2750</b> ±174	<b>2375</b> ±135	<b>3000</b> ±200	<b>3500</b> ±255
<b>Ancho de papila</b>	<b>200</b> ±16	<b>250</b> ±17	<b>250</b> ±22	<b>300</b> ±20	<b>300</b> ±18	<b>350</b> ±25	<b>450</b> ±23	<b>450</b> ±33	<b>500</b> ±35	<b>750</b> ±45	<b>500</b> ±40	<b>625</b> ±37	<b>500</b> ±56	<b>625</b> ±41	<b>550</b> ±44
<b>Espesor de Paraqueratina</b>	<b>4</b> ±0,3	<b>4</b> ±1,1	<b>8</b> ±1,3	<b>12,5</b> ±1,6	<b>10</b> ±1,9	<b>12,5</b> ±2	<b>12</b> ±3	<b>14</b> ±2,2	<b>15</b> ±1,8	<b>12,5</b> ±1,6	<b>10</b> ±1,8	<b>12</b> ±2	<b>11</b> ±1,8	<b>11</b> ±1,9	<b>12,5</b> ±2
<b>Espesor de Capa Muscular</b>	<b>1500</b> ±59	<b>1500</b> ±75	<b>1500</b> ±60	<b>1125</b> ±32	<b>1250</b> ±52	<b>1625</b> ±46	<b>1200</b> ±45	<b>2000</b> ±55	<b>1500</b> ±38	<b>1375</b> ±44	<b>1750</b> ±50	<b>1320</b> ±35	<b>2250</b> ±38	<b>1500</b> ±35	<b>1500</b> ±40



**Figura 4.** Largo de papilas en craneal del saco dorsal del rumen.



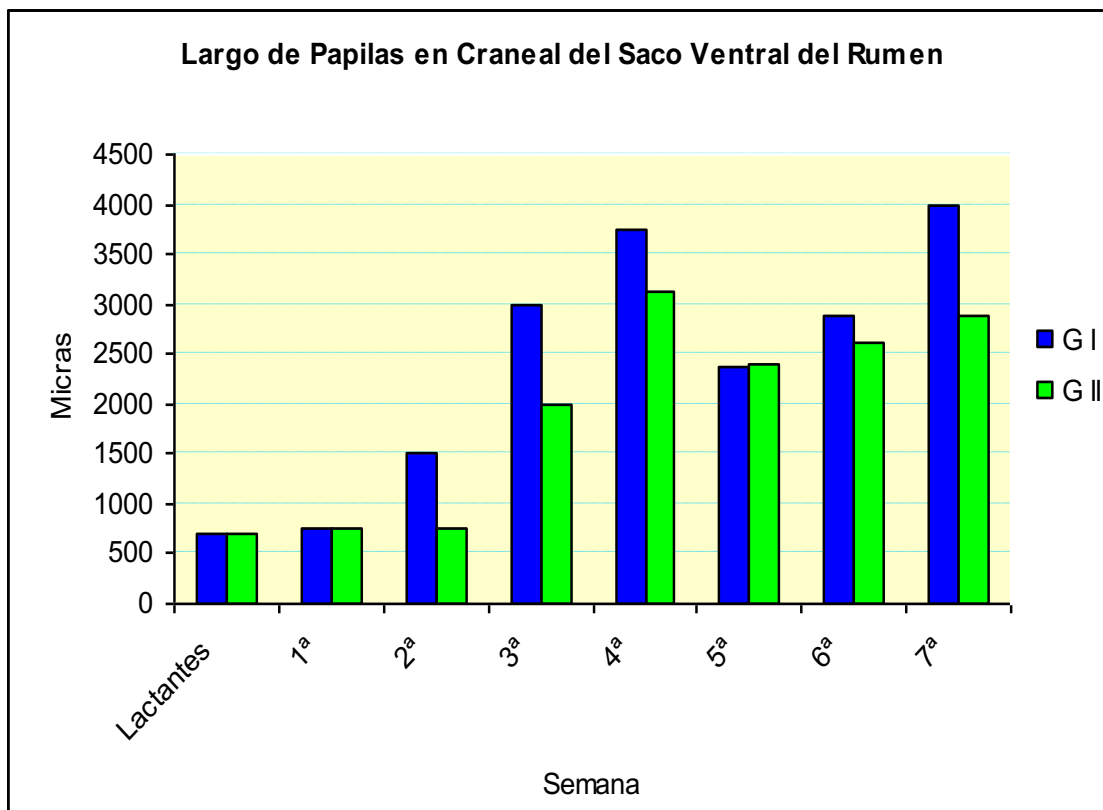
**Figura 5.** Largo de papilas en caudal del saco dorsal del rumen.

**Tabla 9. Medidas en micras en zona craneal del Saco Ventral del Rumen por semana y por grupo.**

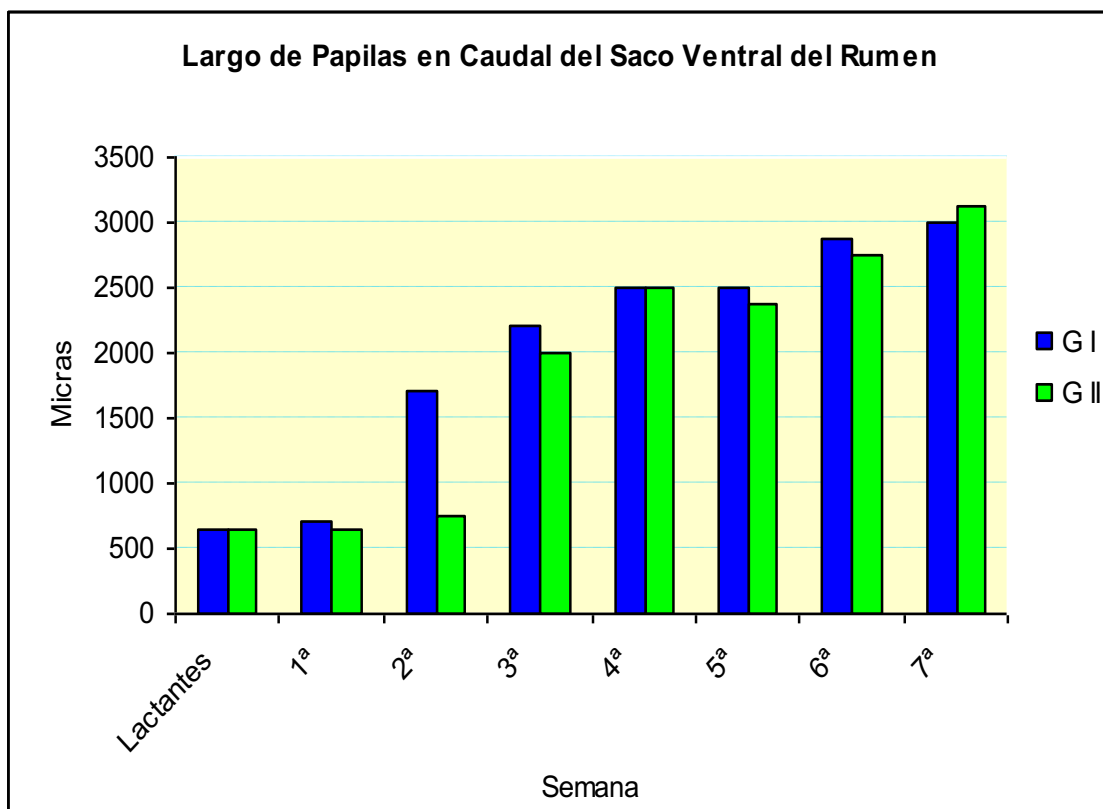
	Semana														
	0	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>		7 <sup>a</sup>	
		G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II
<b>Largo de papila</b>	<b>700</b> ±35	<b>750</b> ±27	<b>750</b> ±46	<b>1500</b> ±133	<b>750</b> ±121	<b>3000</b> ±118	<b>2000</b> ±245	<b>3750</b> ±132	<b>3125</b> ±144	<b>2375</b> ±128	<b>2400</b> ±109	<b>2875</b> ±140	<b>2625</b> ±201	<b>4000</b> ±151	<b>2875</b> ±210
<b>Ancho de papila</b>	<b>200</b> ±16	<b>250</b> ±17	<b>300</b> ±20	<b>500</b> ±22	<b>250</b> ±41	<b>400</b> ±31	<b>500</b> ±40	<b>600</b> ±36	<b>450</b> ±22	<b>625</b> ±28	<b>375</b> ±51	<b>600</b> ±25	<b>500</b> ±31	<b>600</b> ±34	<b>500</b> ±35
<b>Espesor de Paraqueratina</b>	<b>4,5</b> ±0,5	<b>5</b> ±1	<b>5</b> ±1,2	<b>12</b> ±1,3	<b>7,5</b> ±1,3	<b>12</b> ±1,7	<b>13</b> ±1,5	<b>13</b> ±1,3	<b>12</b> ±1,3	<b>12,5</b> ±1,6	<b>12,5</b> ±1,7	<b>12,5</b> ±1,8	<b>10</b> ±1,6	<b>12,5</b> ±2,2	<b>12,5</b> ±2
<b>Espesor de Capa Muscular</b>	<b>1000</b> ±33	<b>1000</b> ±45	<b>1250</b> ±36	<b>1000</b> ±60	<b>1000</b> ±27	<b>1500</b> ±22	<b>1500</b> ±28	<b>1750</b> ±24	<b>1500</b> ±28	<b>1250</b> ±30	<b>1800</b> ±22	<b>1650</b> ±27	<b>1560</b> ±25	<b>2000</b> ±36	<b>1440</b> ±38

**Tabla 10. Medidas en micras en zona caudal del Saco Ventral del Rumen por semana y por grupo.**

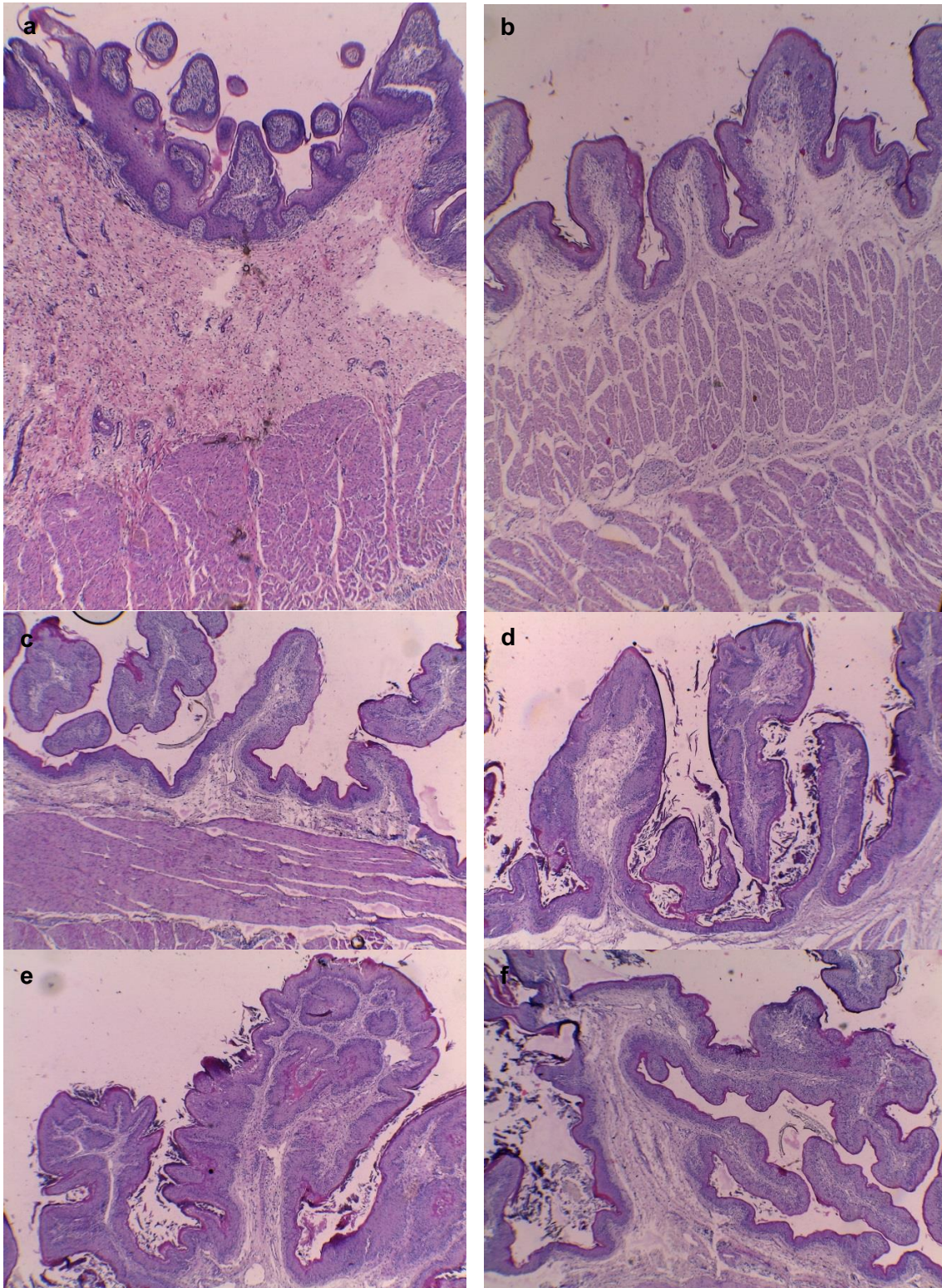
	Semana														
	0	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>		7 <sup>a</sup>	
		G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II	G I	G II
<b>Largo de papila</b>	<b>650</b> ±20	<b>700</b> ±34	<b>650</b> ±25	<b>1700</b> ±31	<b>750</b> ±132	<b>2200</b> ±87	<b>2000</b> ±51	<b>2500</b> ±61	<b>2500</b> ±38	<b>2500</b> ±78	<b>2375</b> ±95	<b>2875</b> ±110	<b>2750</b> ±58	<b>3000</b> ±88	<b>3125</b> ±100
<b>Ancho de papila</b>	<b>200</b> ±15	<b>250</b> ±11	<b>250</b> ±16	<b>500</b> ±18	<b>300</b> ±25	<b>375</b> ±45	<b>500</b> ±22	<b>500</b> ±18	<b>450</b> ±25	<b>625</b> ±22	<b>400</b> ±35	<b>500</b> ±30	<b>500</b> ±22	<b>600</b> ±24	<b>500</b> ±36
<b>Espesor de Paraqueratina</b>	<b>2,5</b> ±0,1	<b>5</b> ±0,7	<b>7</b> ±0,5	<b>12</b> ±1,1	<b>10</b> ±0,8	<b>12</b> ±1,3	<b>14</b> ±1,2	<b>14</b> ±1,8	<b>13</b> ±2	<b>12</b> ±1,7	<b>10</b> ±1,5	<b>12</b> ±1,8	<b>10</b> ±1,7	<b>12</b> ±2	<b>12,5</b> ±2,1
<b>Espesor de Capa Muscular</b>	<b>1000</b> ±45	<b>1200</b> ±32	<b>1500</b> ±30	<b>1750</b> ±38	<b>1000</b> ±75	<b>1500</b> ±51	<b>1125</b> ±68	<b>1185</b> ±78	<b>1500</b> ±42	<b>1375</b> ±44	<b>1625</b> ±35	<b>1375</b> ±34	<b>1440</b> ±41	<b>1250</b> ±28	<b>1500</b> ±35



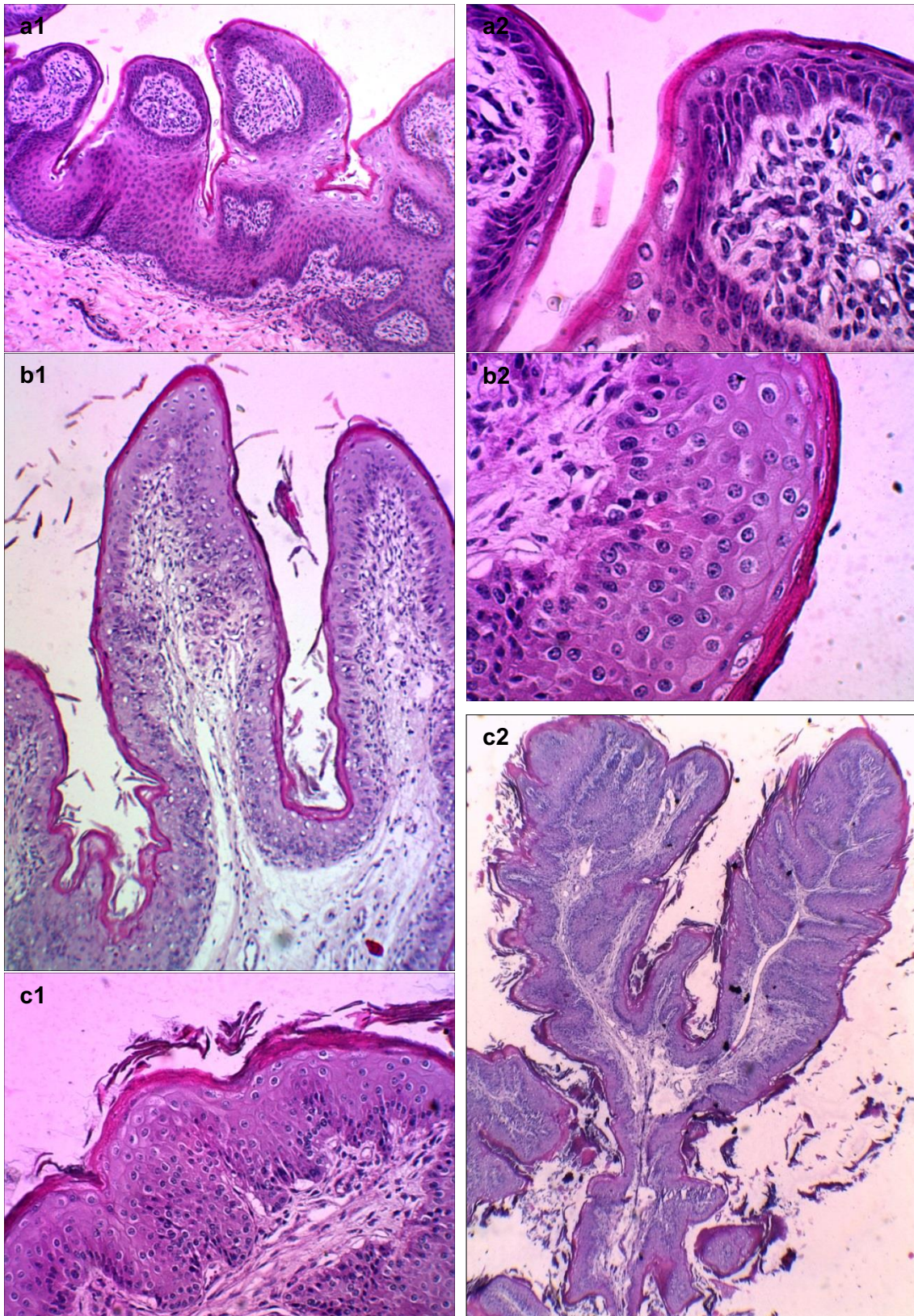
**Figura 6.** Largo de papilas en craneal del saco ventral del rumen.



**Figura 7.** Largo de papilas en caudal del saco ventral del rumen.



**Figura 8-** Imágenes histológicas del desarrollo papilar ruminal en terneros, H&E, x40.  
**a-** Rumen de ternero de 3 días de edad, dieta láctea.  
**b-** Rumen de ternero de 2 semanas de edad, dieta láctea y alimento balanceado.  
**c-** Rumen de ternero de 3 semanas de edad, dieta láctea y alimento balanceado.  
**d-** Rumen de ternero de 4 semanas de edad, dieta láctea y alimento balanceado.  
**e-** Rumen de ternero de 5 semanas de edad, dieta alimento balanceado y fardo.  
**f-** Rumen de ternero de 6 semanas de edad, dieta alimento balanceado y fardo.



**Figura 9-** Imágenes histológicas del desarrollo papilar ruminal en terneros, H&E.  
**a-** Rumen de ternero de 3 días de edad, dieta láctea X100 (a1) y X400 (a2).  
**b-** Rumen de ternero de 3 semanas de edad, dieta láctea y alimento balanceado X100 (b1) y X400 (b2).  
**c-** Rumen de ternero de 6 semanas de edad, dieta alimento balanceado y fardo X100 (c1) y X40 (c2).

## DISCUSIÓN

Al evaluar el peso de los compartimientos del estómago y su relación porcentual no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos, aunque en valor absoluto para el retículo-rumen fue levemente mayor para el GI, esto podría explicarse por el consumo de leche del GII hasta la séptima semana. Marcado fue el crecimiento del retículo-rumen en las primeras cuatro semanas y en relación inversa, se observa que el abomaso disminuye su capacidad relativa en ambos tratamientos. Las dos dietas tenían una presentación física similar, fueron concentrado peleteado durante toda el ensayo y fardo de alfalfa a partir de la 4ª semana, de manera que no afectó el peso lleno y vacío de los CE; Beharka et al. (1998) al comparar dietas de iniciación con distintas formas de presentación física del alimento, compuesto por granos y alfalfa molida y sin moler, evaluadas en terneros a las 11 semanas de edad, no encontraron diferencias en los pesos del retículo-rumen llenos con sus contenidos y vacíos de los mismos, pero tuvieron mayores pesos en los omasos tanto llenos como vacíos. Los pesos para los compartimientos sin el contenido son similares a los reportados por otros autores a las 8 semanas de vida, quienes no hallaron diferencias utilizando diferentes fuentes de almidón en alimentos balanceados para terneras (Khan et al., 2008), distintos sustitutos lácteos (Ghezzi et al., 2000) o en diferentes formas de presentación del alimento iniciador (Castro-Flores y Elizondo, 2012). Wattiaux (1997) cita porcentajes de 80, 7, 8 y 5 para el rumen, abomaso, omaso y retículo, respectivamente, para terneros que rumian y obtienen la mayoría de la energía y proteína de la fermentación ruminal. Beharka et al. (1998) y Baldwin et al. (2004) concluyeron que ni el tipo, ni la forma física de la dieta de inicio afectan los pesos del retículo-rumen, omaso y abomaso, lo que concuerda con los resultados obtenidos, pero si afectan el tamaño de las papilas (Beharka et al. 1998). Castells, et al. (2013) encontró que terneros alimentados con sustituto lácteo, concentrado y heno tuvieron pH más altos que los alimentados sin heno, también tuvieron mayor proporción de acetato en el líquido ruminal, mayor peso del tracto digestivo expresado en peso relativo al peso corporal pero el peso del rumen fue mayor en los alimentados con sustituto lácteo y concentrado. Diversos autores discuten sobre las características de los alimentos iniciadores, su influencia el desarrollo ruminal y en el desempeño productivo de los terneros (Bach et al., 2007; Beharka et al., 1998; Heinrichs and Zanton, 2007).

Un completo estudio del desarrollo del rumen abarca la medición del LP, el AP, la densidad de papilas, el espesor de la capa muscular y de la pared ruminal; de estos parámetros, el LP es una de las variables más importante en el análisis de desarrollo

ruminal, además de ser la variable más influenciada por la dieta y sus variaciones representarían la influencia de los tratamientos en el desarrollo ruminal (Lesmeister et al., 2004). Las papilas ruminales tuvieron un crecimiento moderado hasta la segunda semana, en la 3ª y 4ª semana fue muy marcado y en la 5ª semana se produjo una leve disminución, este último cambio en el patrón de crecimiento podría explicarse a la adición de fardo (fibra larga) en la 4ª semana modificando los productos finales de la fermentación bacteriana, cambiando la proporción de los AGV y así los estímulos sobre el crecimiento papilar; luego en la 6ª y 7ª semana nuevamente se produce un marcado aumento en longitud. Varios investigadores han recomendado la adición de heno molido en alimentos iniciadores para el desarrollo óptimo del rumen (Anderson et al., 1987; Beharka et al., 1998; Coverdale et al., 2004; Greenwood et al., 1997). Sin embargo, algunos investigadores y extensionistas (Jones y Heinrichs 2007; Heinrichs y Lesmeister, 2000) recomiendan no dar heno a los terneros hasta el destete cuando éste se realiza entre las 3-6 semanas, ya que es menos energético que el grano. Los cereales son más eficiente para mejorar el crecimiento del epitelio ruminal en comparación con forraje (Nocek et al. 1980; Suarez et al. 2007) y la ingesta de fibra es muy limitada cuando los terneros son destetados temprano (por ejemplo, 5 semanas). Göncü et al. (2010) sugiere dar fibra (heno) si los terneros se destetan a las 8-10 semanas. El largo y ancho de papila al final de la experiencia fue similar a reportes de otros autores (Hill et al., 2005, Beharka et al., 1998) y mayor a otros (Castro y Elizondo, 2012) debiendo considerarse siempre al comparar, el tipo de alimento, la zona muestreada y la edad de los animales.

En nuestro ensayo fue muy marcada la ramificación de las papilas a partir de la 5ª semana en los dos grupos, esta ramificación fue descrita por otros autores en terneros con dietas con alimentos finamente molidos y observaron que la ramificación papilar fue menor con alimentos sin moler (Beharka et al., 1998; McGavin y Morril, 1976) y consideran que puede ser una adaptación para aumentar superficie y superar una absorción reducida causada por paraqueratosis del epitelio (Beharka et al., 1998). Es conocido que la distribución de las papilas no es uniforme en todo el rumen y el muestreo de tejido de numerosas áreas sería la forma más precisa de evaluar el desarrollo papilar, pero a los efectos de determinar diferencias entre tratamientos, muestras tomadas de la parte craneal y caudal de los sacos dorsal y ventral del serían suficientes para representar el desarrollo y crecimiento de todo el rumen (Lesmeister et al., 2004). El AP tiene baja ocurrencia por los tratamientos y las diferencias de AP tienen menor variabilidad que el LP por el tratamiento (Lesmeister et al., 2004). El procedimiento de muestrear el saco dorsal y el saco ventral del rumen es capaz de detectar diferencias de tratamiento para LP y AP, tiene una aceptable capacidad de

detectar diferencias de tratamientos para espesor de pared del rumen, pero tiene limitada capacidad de detectar diferencias de tratamiento para las papilas por centímetro cuadrado. Las diferencias en la longitud de las papilas se pueden atribuir a un mejor estímulo químico por mayores concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) (Khan et al., 2008). El crecimiento de las papilas ruminales es mínimo en terneros alimentados con leche (Tamate et al., 1962).

Diversas investigaciones han reportado la influencia de la dieta (leche e iniciador) sobre el largo de las papilas (Greenwood et al., 1997; Baldwin et al., 2004); mencionando que el desarrollo de las mismas está fuertemente relacionado con la presencia del butirato como resultado de la digestión fermentativa de carbohidratos (Brownlee 1956, Warner et al., 1956; Klein et al. 1987), además, un incremento en la digestibilidad del almidón debido al procesamiento puede ser ventajoso para el crecimiento de las terneras. En nuestro ensayo el alimento balanceado fue procesado, molido y peleteado en ambos grupos con alto porcentaje de proteínas e hidratos de carbono. Las dietas de iniciación ricas en hidratos de carbono fermentecibles y el procesamiento del grano influyen sobre la producción de AGV (Murphy et al., 1994) además, un incremento en la digestibilidad del almidón debido al procesamiento puede ser ventajoso ya que aumentan las concentraciones de ácido propiónico y butírico y adicionalmente la concentración de AGV totales promoviendo el desarrollo papilar (Beharka et al., 1998; Castro y Elizondo, 2012).

El espesor de la capa muscular tuvo un crecimiento progresivo e irregular en los grupos y entre los grupos que son difíciles de explicar, quizás diferencias tengan relación, además de los componentes de la dieta, con factores intrínsecos como el peso o la contextura del animal. Harrison et al. (1960) refieren que el desarrollo de la pared ocurriría independientemente del crecimiento del epitelio ruminal y que el desarrollo de la capa muscular estaría más influenciado por la presencia de fibra en la dieta, y que era muy escaso en los terneros alimentadas sólo con leche.

McGillard et al. (1965) sugirieron que es necesaria la estimulación física para el desarrollo adecuado de las capas musculares y la motilidad ruminal. La estimulación por el alimento sólido ejercita los músculos del rumen-retículo y promueven su desarrollo (Hamada et al., 1976). Beharka et al. (1998) alimentando terneros con dietas molidas y sin moler (con grano y fardos de alfalfa) durante la crianza hasta las 11 semanas, concluyen en su trabajo que la forma física de la dieta afecta el desarrollo omasal y el desarrollo papilar pero no el desarrollo muscular del retículo-rumen.

No hubo diferencias en el espesor de la capa de paraqueratina en los tratamientos; las características macro y microscópicas son semejantes a las reportadas por otros

autores cuando las dietas son bajas en fibras (Hinders y Owen, 1965; Bull et al., 1965; Zitnan et al., 1998); en las primeras cuatro semanas hubo un rápido aumento del espesor que se estabilizó cuando se incorporó fardo de alfalfa; a la vez, se aplacó el ritmo de crecimiento que tenían las papilas ruminales por lo que no consideramos recomendable la adición de fardo de alfalfa en este período. La alimentación con iniciadores sin fibra promueve una rápida proliferación de la papilas ruminales con aumento de queratinización y paraqueratosis (Zitnan et al., 1998). A la capa cornea se le atribuye un mecanismo protector frente a la acidez en el rumen y a la falta de abrasión ruminal. Las dietas sin fibra causan un engrosamiento de la capa cornea, y una disminución del estrato granuloso en comparación con papilas normales (Thompson et al, 1958, Hinders y Owen, 1965; Nocek et al., 1980), este aumento de la queratinización provoca una disminución de la absorción de AGV del rumen por la disminución de la cantidad de tejido metabólicamente activo disponible (Hinders y Owen, 1965; Nocek et al, 1980; Greenwood et al, 1997). Bull et al. (1965) no encuentra diferencias en ganancia de peso en animales con severa paraqueratosis en animales en crecimiento de 2 a 5 meses de edad.

El pH ruminal de los terneros de ambos grupos osciló entre 5,5 y 5,8 (datos no mostrados). Beharka y cols. (1998) indican pH de alrededor de 5,5 cuando suministraron alimentos molidos en terneros de 4 a 6 semanas de vida, atribuyéndose al gran consumo de granos y a un aumento en la producción de ácido láctico (Roy, 1980) a pesar de ello no observaron efectos perjudiciales. La incorporación de fibra con el fardo aporta un efecto de abrasión y aumenta el pH que puede beneficiar esta situación, pero los resultados de este trabajo evidencian un retraso en el desarrollo papilar coincidiendo con otros autores (Porter et al., 2007; Kertz, 2007). Porter et al. (2007) indican que la forma física y tamaño del iniciador, peleteado o granulado, es más importante que el nivel de fibra en prevenir timpanismos y paraqueratosis.

Las raciones que resultan en pH ruminales más bajos suelen ser más eficientes en el aprovechamiento energético de la ración, pues la fermentación ruminal en estas condiciones suele producir mayores cantidades de propionato y menores de acetato. Además, la eficiencia de síntesis de proteína microbiana aumenta conforme disminuye el pH (hasta cierto límite) y también la degradación de la proteína alimentaria disminuye, y por tanto la cantidad de proteína no degradable de la ración aumenta. Si la proteína usada en la ración tiene un buen perfil de aminoácidos (sólo posible cuando se usa una combinación de varias fuentes de proteína), una leve acidosis puede ayudar a aportar aminoácidos al animal y mejorar su producción (FEDNA).

Según Abe et al. (1999), al introducir material fibroso lignificado (heno, paja) en un rumen en desarrollo el tiempo de permanencia es muy largo, retrasando la ingestión de otro tipo de material sólido y pasando a las porciones posteriores del aparato gastrointestinal parte indigestible de la dieta; este mismo autor trabajó con terneros lactantes y observó que el aumento de ingestión de materia seca y especialmente de material indigerible incrementa el contenido de humedad de las heces haciendo más susceptibles a los animales a sufrir diarreas. Porter et al. (2007) plantean que el uso de heno en dietas de iniciadoras parece crear un ambiente más estable en el rumen de terneros y reducen las diarreas neonatales; sin embargo, demasiada fibra en los preiniciadores reduce el crecimiento papilar y la ganancia de peso (Porter et al., 2007); además, el desarrollo temprano del rumen en las primeras semana de vida con dietas bajas en fibra tendría un efecto protector sobre la mucosa abomasal (Berends et al., 2012; Beiranvand et al., 2014). Mirzaei, et al. (2015) indican que una adecuada pero no excesiva adición de alfalfa picada, es necesaria para la estimulación física, para el adecuado desarrollo del rumen y el crecimiento de los terneros lecheros, en su trabajo, las características morfométricas de pared del rumen fueron similares entre los grupos alimentados con alfalfa, pero el grosor córneo disminuyó de 8,7 a 6,1 micras, con un 8 % de alfalfa picada (entre 3 y 5 mm) comparada con el grupo sin alfalfa. El consumo de concentrado es menor cuando se adiciona pastos pero el tiempo de rumia es mayor y hay una marcada reducción en el comportamiento estereotipado de los terneros, además los terneros destetados que consumieron forraje pasaron más tiempo comiendo en las pasturas al destete (Philips, 2004; Castells et al., 2012).

El desempeño de los animales fue similar en ambos grupos (datos no mostrados), no hubo diferencias en el GI cuando se retiró el sustituto lácteo coincidiendo con Roth et al. (2009) que recomiendan la práctica de dar dietas basadas en iniciadores concentrados con la reducción del suministro de leche para acortar el tiempo del desleche, permitiendo, así, un rápido desarrollo fisiológico sin impacto negativo en el desarrollo ruminal, la ganancia de peso y el estatus sanitario. En el ensayo se suministró agua a discreción en todo el período coincidiendo con autores sobre los beneficios que tiene en los programas de desleche precoz al proveer condiciones de adecuadas para el desarrollo microbiano ruminal, maximizar el consumo de alimentos iniciadores y la ganancia de peso y no hay evidencia de que fluidifique las heces (Kertz et al., 1984; Quigley y Mills, 2006).

## CONCLUSIONES

Un rápido desarrollo ruminal es esencial para un exitoso programa de desleche temprano.

La estrategia de alimentación y el manejo, son claves para superar bien la etapa de transición. El pasaje de pre rumiante a rumiante depende de la dieta ofrecida. Esta debe ser formulada de tal manera que induzca un crecimiento equilibrado entre el tamaño ruminal (influenciado por el forraje) y el grosor de la mucosa y papilas (influenciado por los alimentos concentrados).

Los dos productos comerciales probablemente proporcionaron el perfil de carbohidratos fermentables y nutrientes que promueven un rápido desarrollo del rumen.

Es importante dar alimento preiniciador en los primeros días de vida (2 a 3 días) y que este contenga carbohidratos rápidamente fermentables para promover el crecimiento temprano del epitelio ruminal y la motilidad ruminal.

La calidad del alimento influye en el desarrollo ruminal y en el desempeño del ternero. Las dietas de alta digestibilidad provocan altas concentraciones de AGV que estimulan el crecimiento de papilas largas. La alimentación con maíz extrusado produce un gran desarrollo de papilas ruminales ya que aportaría más cantidad de hidratos de carbono rápidamente fermentables a propionato y butirato, los cuales estimulan el desarrollo ruminal (Lesmeister y Heinrich, 2004).

El consumo de agua debe ser libre ya que mejora la ingesta alimento sólido y proporciona el medio acuoso para el crecimiento bacteriano y la fermentación del sustrato.

La alimentación con leche provoca un retraso en el desarrollo ruminal, se promueve una fermentación láctica, resulta en poca o nula producción de AGV.

En esta etapa sería recomendable no dar heno, ya que disminuye el consumo de concentrado y retrasa el desarrollo papilar.

Los terneros alimentados con el preiniciador terneros y deslechados a los 30-35 días tuvieron un buen desarrollo hasta las 7 semanas.

La paraqueratosis es una condición metabólica, pero esta no ha sido asociada siempre con la reducción del desempeño del animal en crecimiento.

## BIBLIOGRAFIA

- Abe M, Miyajima Y, Hara T, Wada Y, Funaba M, and Iriki T. 1999. Factors Affecting Water Balance and Fecal Moisture Content in Suckling Calves Given Dry Feed J Dairy Sci. 82:1960-1967.
- Ahmed RS, Martens H, and Muelling C. 2013. Scanning Electron Microscopical and Morphometrical Studies on Ruminal Papillae of Sheep Fed on Concentrates. Journal of Animal Research: 3(2):111-123.
- Amasaki H y Daigo M. 1984. Morphogenesis of the ruminal microvasculature in bovine fetuses. Can. J. Anim. Sci. 64:257-258.
- Anderson KL, Nagaraja TG, Morrill JL, Avery TB, Galitzer S J and Boyer JE. 1987. Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. Journal of Animal Science 64:1215-1226.
- Arias JL, Cabrera R and Valencia A. 1978. Observations on the histological development of the bovine rumen papillae. Morphological changes due to age. Anat. Histol. Embriol. 7:140-151.
- Arias JL, Vial E, Cabrera R. 1980. Observations on the histogenesis of bovine ruminal papillae. American Journal of Veterinary Research 41(2):174-8.
- Bach A, Giménez A, Juaristi JL and Ahedo J. 2007. Effects of Physical Form of a Starter for Dairy Replacement Calves on Feed Intake and Performance J. Dairy Sci. 90:3028–3033.
- Bacha F. 1999. Nutrición del ternero neonato. En: Avances en nutrición y alimentación animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Rebollar PG, Ed. Blas C y Mateos GG. Madrid, España. p 277-301.
- Bacha WJ y Bacha LM. 2001. Atlas a Color de Histología Veterinaria 2ª Ed: Cap. 13: Aparato Digestivo, Ed. Inter-médica. Bs. As., Argentina. p 137-140.
- Baldwin RL, McLeod KR, Klotz JL, and Heitmann RN. 2004. Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. J. Dairy Sci. 87:(E. Suppl.):E55–E65.
- Barone R. 1976. Anatomie comparée des mammifères domestiques, tomo I, Francia. Ed Vigot, p.335.

- Becker RB, Dix Arnold PT, Marshall SP. 1951. Development of the bovine stomach during fetal life. *J. Dairy Sci.*, 34: 329.
- Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL, Kennedy GA and Klemm RD. 1998. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81:1946-1955.
- Beiranvand H, Ghorbani GR, Khorvash M, Nabipour A, Dehghan-Banadaky M, Homayouni A, Kargar S. 2014. Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *J Dairy Sci* 97(4):2270-2280.
- Berends H, van Reenen CG, Stockhofe-Zurwieden N and Gerrits WJJ. 2012. Effects of early rumen development and solid feed composition on growth performance and abomasal health in veal calves. *J. Dairy Sci.* 95:3190-3199.
- Braun U1, Krüger S, Hässig M. 2013. Ultrasonographic examination of the reticulum, rumen, omasum and abomasum during the first 100 days of life in calves. *Res Vet Sci.* 95(2):326-33.
- Brownlee A. The development of rumen papillae in cattle fed on different diets. 1956. *The British veterinary journal.* London. 112 (9):369-375.
- Bull LS, Busch LJ, Friend JD, Harris B Jr., and Jones EW. 1965. Incidence of ruminal parakeratosis in calves fed different rations and its relation to volatile fatty acids absorption. *J. Dairy Sci.* 48:1449-1456.
- Castells L, Bach A, Araujo G, Montoro C and Terré M. 2012. Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 95:286-293.
- Castells L, Bach A, Aris A, Terré M. 2013. Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *J. of Dairy Sci.* 96 (8): 5226-5236.
- Castro-Flores P, Elizondo-Salazar JA. Crecimiento y desarrollo ruminal en terneros alimentados con iniciador sometido a diferentes procesos. 2012. *Agronomía Mesoamericana* 23(2):343-352.
- Church DC. 1974. *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes (Vol.1)* Zaragoza, España, Ed. Acribia.

- Church DC. 1976. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. 2 ed. Vol 1. O&B Books, Inc., Corvallis, OR.
- Church DC. 1988. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Englewood Cliffs, New Jersey, Ed. Prentice-Hall, Inc.
- Connor E, Baldwin RL, Walker MP, Ellis SE, Li C, Kahl, Hung H, Li RW. 2014. Transcriptional regulators transforming growth factor- $\beta$ 1 and estrogen-related receptor- $\alpha$  identified as putative mediators of calf rumen epithelial tissue development and function during weaning J. Dairy Sci. 97(7):4193-4207.
- Coverdale JA, Tyler HD, Quigley JD and Brumm JA. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. Journal of Dairy Science 87:2554-2562.
- Cunningham JG, Klein BG. 2009. Fisiología veterinaria 4ª Ed. Elsevier, Madrid, España.
- Dellmann HD. Histología Veterinaria. 1993. Cap. 10: Sistema digestivo, Ed. Acribia, 2ª edición Zaragoza, España. p 196-203.
- Getty R.; Sisson & Grossman. 1992. Sistema digestivo de los rumiantes. Anatomía de los animales domésticos. 5ª ed. México. Tomo I Ed Interamericana. cap. 29.
- Ghezzi MD, Lupidio MC, Castro ANC, Gómez SA, Bilbao GN, Landi HG. 2000. Desarrollo morfológico del estómago en terneros alimentados con dos sustitutos lácteos. Rev. Chil. Anat. 18:19-26.
- Göncü S, Boğam, Kiliç U, Görgülü M, Doran F. 2010. Effects of Feeding Regime Without Roughage on Performances and Rumen Development of Calves During Prewaning Period. J. of Agricultural Sc. 16:124 123-128.
- Greenwood RH, Morrill JL, Titgemeyer EC and Kennedy GA. 1997. A New Method of Measuring Diet Abrasion and Its Effect on the Development of the Forestomach. J Dairy Sci. 80:2534-2541.
- Guilloteau P, Zabielski R, David JC, Blum JW, Morisset JA, Biernat M, Wolinski J, Laubit D, Hamon Y. 2009: Sodium-butyrate as a growth promoter in mil replacer formula for young calves. J. Dairy Sci., 92:1038-1049.

- Hamada T, Maeda S and Kameoka K. 1976. Factors influencing growth of rumen, liver and other organs in kids weaned from milk replacers to solid foods. *J. Dairy Sci.* 59:1110–1118.
- Harrison HN, Warner RG, Sander EG and Loosli JK. 1960. Changes in the tissue and volume of the stomachs of calves following removal of dry feed or consumption of inert bulk. *J. Dairy Sci.* 43:1301–1312.
- Heinrichs AJ and Lesmeister K. 2000. Why you should hold off on feeding forage to calves. *Hoard's Dairyman* 145:638
- Heinrichs J and Zanton G. 2007. Understanding Dietary Fiber: The role of forage fiber in rumen development and heifer growth. 22nd Annual Southwest Nutrition & Management Conference. AZ 1-8.
- Hibbs JW, Conrad, HR, Pouden WD and Frank N. 1956. A high roughage system for raising calves based on early development of rumen function. VI. Influence of hay to grain ratio on calf performance, rumen development, and certain blood changes. *J. Dairy Sci.* 39:171-179.
- Hill SR, Hopkins BA, Davidson S, Bolt SM, Diaz DE, Brownie C, Brown, T, Huntington, GB and Whitlow LW. 2005. Technical Note: Technique for Dissection and Analysis of the Rumen in Young Calves *J. Dairy Sci.* 88:324–326.
- Hinders RG and Owen FG. 1965. Relation of ruminal parakeratosis development to volatile fatty acid absorption. *J. Dairy Sci.* 48:1069-1078.
- Jiao J, Li X, Beauchemin KA, Tan Z, Tang S, Zhou C. 2015. Rumen development process in goats as affected by supplemental feeding v. grazing: age-related anatomic development, functional achievement and microbial colonisation. *Br. J. Nutr.* 26;113(6):888-900.
- Jones C and Heinrichs J. 2007. Early Weaning Strategies. <http://www.extension.org/pages/Early> Weaning Strategies, 10 April 2010.
- Kano Y, Fukaya K, Asari M, Eguchi Y. 1981. Studies on the development of the fetal and neonatal bovine stomach. *Anatom. Histolog. Embryol.* 10(3):264-274.
- Kato SI, Sato K, Chida H, Roh SG, Ohwada S, Sato S, Guilloteau P, Katoh K. 2011. Effects of Nabutyrate supplementation in milk formula on plasma concentrations of GH

and insulin, and on rumen papilla development in calves. *J. Endocrinology*, 211, 241-248.

-Kertz AF, Reutzel LF, Mahoney JH. 1984. Ad libitum water intake by neonatal calves and its relationship to calf starter intake, weight gain, feces score, and season. *Dairy Sci.* 67(12):2964-9.

-Kertz, A F. 1984b. Calves need water before they are weaned. *Hoard's Dairyman*. 129:826.

-Kertz AF. 2007. Letter to the Editor: Pelleted Calf Starter with Straw Access Can Confound Results: A Comment on Bach et al. *J. Dairy Sci.* 90:4924.

-Khan M, Lee H, Lee W, Kim H, Kim S, Ki K, Park S, Ha J, Choi Y. 2007b. Starch source evaluation in calf starter: I. Feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 90:5259-5268.

-Klein RD, Kincaid RL, Hodgson AS, Harrison JH, Hillers JK, Cronrath JD. 1987. Dietary fiber and early weaning on growth and rumen development of calves. *J. Dairy Sci.* 70:2095-2104.

-Laarman AH, Ruiz-Sanchez AL, Sugino T, Guan LL, Oba M. 2012. Effects of feeding a calf starter on molecular adaptations in the ruminal epithelium and liver of Holstein dairy calves. *J. Dairy Sci.* 95(5):2585-2594.

-Lengemann FW and Allen NN. Development of rumen function in the dairy calf. II. Effect of diet upon characteristics of the rumen flora and fauna of young calves. 1959 *J. Dairy Sci.*, 42 (7):1171-1181.

-Lesmeister KE and Heinrichs AJ. 2004. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 87:3439-3450

-Lesmeister KE, Tozer PR and Heinrichs AJ. 2004. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. *J. Dairy Sci.* 87:1336-1344.

-Lis A, Barra F, Peralta C, Rejf P, Beltramino F. 2003. Un nuevo alimento para terneros: ensayo comparativo del desarrollo ruminal. *Sitio Argentino de Producción Animal*. [http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/destete/62-alimento.pdf](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/destete/62-alimento.pdf)

- Lyford SJ. 1993. Crecimiento y desarrollo de aparato digestivo de los rumiantes. En: El Rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. Church CD Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. p. 47–68.
- McDowell, EM, and Trump BF. 1976. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. Arch. Pathol. Lab. Med. 100:405–414.
- McGavin MD and Morrill JL. 1976. Dissection Technique for Examination of the Bovine Ruminoreticulum J. Anim. Sci. 42:535-538.
- McGillard AD, Jacobson NL and Sutton JD. 1965. Physiological development of the ruminant stomach. Physiology of Digestion in the Ruminant. R. W. p 39-50.
- Mirzaei M, Khorvash M, Ghorbani GR, Kazemi-Bonchenari M, Riasi A, Nabipour A and van den Borne JJGC. 2015. Effects of supplementation level and particle size of alfalfa hay on growth characteristics and rumen development in dairy calves. J. Anim Phys and Anim Nutr. 99(3): 553-564.
- Murphy T, Fluharty F, Loerc S. 1994. The influence of intake level and corn processing on digestibility and ruminal metabolism in steers fed all-concentrate diets. J. Anim. Sci. 72:1608-1615.
- Naeem A, Drackley JK, Stamey J, Looor JJ. 2012. Role of metabolic and cellular proliferation genes in ruminal development in response to enhanced plane of nutrition in neonatal Holstein calves. J. of Dairy Sci. 95(4):1807-1820.
- Nocek J.E., Herbein J.H., Polan C.E., 1980. Influence of ration physical form, ruminal degradable nitrogen and age on rumen epithelial propionate and acetate transport and some enzymatic activities. J. Nutr. 110:2355-2366.
- Orskov ER and Ryle M. 1998. Energy nutrition in ruminants. London, UK. Elsevier Science Publishers Ltd. p. 104.
- Orskov ER. 1988. Nutrición proteica de los rumiantes. 1ª Ed. Zaragoza, España. Acribia.
- Owens FN, Goetsch AL. 1986. Digesta passage and microbial protein synthesis. En: Control of digestion and metabolism in ruminants. Milligan LP, Grovum WL y Dobson A. Englamood Cliffs, New Jersey, Eds. Reston Book, Prentice- Hall. p. 196-226.
- Phillips CJC. 2004. The effects of forage provision and group size on the behavior of calves. J. Dairy Sci. 87:1380-1388.

- Porter, J. C., R. G. Warner, and A. F. Kertz. 2007. Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *Prof. Anim. Sci.* 23:395-400.
- Quigley J y Mills D. 2006. Desarrollo Ruminal en Becerras. 22 Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. Disponible en: <http://www.calfnotes.com/>
- Roth BA, NM, Gygax L, Hillmann E. 2009. Influence of weaning method on health status and rumen development in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92:(2) 645-656.
- Roy JHB. 1980. The digestive system of the calf. En: *The calf*. 4ª ed. London UK, Butterworths. p. 200-219.
- Sakata, T.; K. Kitosaka; Y. Shiomura; H. Tamate. 1980. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adults sheeps. *Br. J. Nutr.* 44:325-331.
- Sander EG, Warner RG, Harrison HN, and Loosli JK. 1959. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *J. Dairy Sci.* 42:1600-1605.
- Schwarze MG. 1970. Compendio de Anatomía Veterinaria. Tomo VI. Embriología, Zaragoza, Acribia. p.171-175.
- Serbester U, Çakmakçi C, Göncü S, Görgülü M. 2014. Effect of feeding starter containing butyrate salt on pre- and post-weaning performance of early or normally weaned calves. *Revue Méd. Vét.*, 165, 1-2, 44-48.
- Shen Z, Seyfert H, Lührke B, Schneider F, Zitnan R, Chudy A, Kuhla S, Hammon HM, Blum JB, Martens H, Hagemeister H and Voigt J. 2004. An Energy-Rich Diet Causes Rumen Papillae Proliferation Associated with More IGF Type 1 Receptors and Increased Plasma IGF-1 Concentrations in Young Goats. *J. Nutr.* 134:11-17.
- Steele MA, Garcia F, Lowerison M, Gordon K, Metcalf JA, Hurtig M. 2014. Three-dimensional imaging of rumen tissue for morphometric analysis using micro-computed tomography. *J. Dairy Sc.* 97:(12) 7691-7696.
- Suárez B, Van Reenen C, Stockhofe N, Dijkstra J, Gerrits W. 2007. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *J. Dairy Sci.* 90:2390-2403.
- Sutton JD, Mcgilliard D and Jacobson L. 1963. Functional development of rumen mucosa. I. Absorptive Ability *Journal of Dairy Science*, 46(5): 426-436.

- Swan, GE and Grenewald, HB. 2000. Morphological changes associated with the development of the rumino-reticulum in growing lambs fed different rations. *Onderstepaart Journal of Veterinary Research*, 67: 105-114.
- Tamate H, McGilliard AD, Jacobson NL and Getty R. 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *J. Dairy Sci.* 45:408-420.
- Thompson GB, Kintner LD and Pfander WH. 1958. Some effects of ration preparation on alterations of the rumen mucous membrane. *J. Anim. Sci.* 17:1220-1224.
- Wanat P, Górká P, Kowalski ZM. 2015. *Short communication*: Effect of inclusion rate of microencapsulated sodium butyrate in starter mixture for dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98(4):2682-2686.
- Wardrop ID. 1961. Some preliminary observations on the histological development of the fore-stomachs of the lamb. *J. Agric. Sci.* 57:335-341.
- Warner ED. 1958. The organogenesis and early histogenesis of the bovine stomach. *Am. J. Anatomy*, 102:(1) 33-63.
- Warner RG, Flatt WP, Loosli JK. 1956. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *J. Agric. Food Chem.* 4:788-792.
- Warner RG, Flatt WP. 1965. En: *Physiology of Digestion in the Ruminant*. Washington Butterworths. p. 24.
- Warner RG. 1991. Nutritional factors affecting the development of a functional ruminant: A historical perspective. *Proc. Cornell. Nutr. Conf.* 1-12. Ithaca, NY.
- Wattiaux M. 1997. Alimentando terneras y novillas. In *Crianza de terneras y novillas*. University of Wisconsin, Madison, USA. 33-44.
- Zitnan R, Voigt J, Schönhusen U, Wegner J, Kokardova M, Hagemeister H, Levkut M, Kuhla S, Sommer A. 1998. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. *Arch. Anim. Nutr.* 51:279-291.
- Zitnan R, Kuhla S, Sanftleben P, Bilska A, Schneider F, Zupcanova M, Voigt J. 2005. Diet induced ruminal papillae development in neonatal calves not correlating with rumen butyrate. *Vet. Med. Czech.* 50 (11): 472-479.

## **Abreviaturas**

AGV: Ácidos grasos volátiles.

AP: Ancho de papilas.

CE: Compartimentos estomacales.

DP: Densidad de papilas.

EP: Espesor de pared ruminal.

G: gramos

Kg: Kilogramo.

LP: Largo de papilas.

Mcal: Megacalorías.

mcg: Microgramos.

mg: Miligramos.

ppm: Partes por millón

UI: Unidades internacionales.

## Anexo I- Sustituto Lacteo. Composición Nutricional.

<b>Sustituto Lácteo. Composición centesimal del producto por Kg.</b>	
Proteína bruta (mínimo)	21 %
Extracto etéreo (mínimo)	13,5 %
Minerales totales (máximo)	8 %
Humedad	5 %
Fibra cruda (máxima)	1,3 %
Calcio (min/max)	0,8-1,2 %
Fósforo (min/max)	0,5-0,75 %
Magnesio (mg/Kg)	0,09 %
Sodio (mg/Kg)	0,32 %
Hierro (mg/Kg)	100000
Manganeso (mg/Kg)	40000
Zinc (mg/Kg)	40000
Cobre (mg/Kg)	10200
Iodo (mg/Kg)	0,508
Selenio (mg/Kg)	0,305
Cobalto (mg/Kg)	0,11
Vitamina E (UI/Kg)	45,7
Vitamina A (UI/Kg)	24000
Vitamina D3 (UI/Kg)	4800
Pantotenato de calcio (mg/Kg)	13000
Nicotinamida (mg/Kg)	10000
Vitamina B1 (mg/Kg)	6600
Vitamina B2 (mg/Kg)	6600
Vitamina B6 (mg/Kg)	6600
Vitamina B12 (mcg/Kg)	71000
Vitamina K3 (mg/Kg)	2000
Ácido fólico (mg/Kg)	0,50
Biotina (mg/Kg)	0,102

### Información adicional:

Cenizas (máx).....	9%
Extracto libre de nitrógeno .....	48,7%
Humedad (máx).....	5%
Lactosa .....	46%
Antioxidante .....	125 ppm
Aromatizante .....	300 ppm
Colorante.....	150 ppm

**Anexo II-** Preiniciador terneros. Composición centesimal e ingredientes.

<b>Preiniciador Ternero</b>	
Código: 1.22.01 Versión: 1	
Materia Seca: 91.84 %	
<b>NUTRIENTES</b>	
Antioxidante (mg/Kg)	200.35
H de C no estructurales (%)	31.85
ácido linoleico (%)	2.01
Almidón	34.43
Arginina (%)	1.18
Azufre (%)	0.03
Calcio (%)	1.01
Cenizas (%)	6.86
Cistina (%)	0.37
Cloro (%)	0.19
Cobre (mg/Kg)	59.80
Energía Metabólica (MCal/Kg)	3.50
FD Ácido (%)	1.38
FD Neutro (%)	3.10
Fibra cruda (%)	2.84
fosforo total (%)	0.64
Grasa (%)	8.04
Hierro (mg/Kg)	10.78
Lactosa (%)	4.20
Lisina (%)	1.19
Magnesio (%)	0.14
Metionina (%)	0.31
Manganeso (%)	89.60
Proteína cruda (%)	24.00
Selenio (mg/Kg)	54.38
Sodio (%)	0.52
TAAZ (%)	0.62
Treonina (%)	0.72
Triptófano (%)	0.28
Vitamina A (IU/Kg)	7796.17
Vitamina B 12 (mg/Kg)	7.65
Vitamina B1 (mg/Kg)	0.71
Vitamina B2 (mg/Kg)	0.71
Vitamina B6 (mg/Kg)	0.71
Vitamina D (IU/Kg)	1619.34
Vitamina K (mg/Kg)	0.22
Vitamina E (mg/Kg)	38.66
Yodo (mg/Kg)	1.15
Zinc (mg/Kg)	192.64

**Ingredientes:** maíz extrusado, soja extrusada, harina soja alta proteína, leche en polvo, núcleo vitaminas hidrosolubles y liposolubles, núcleo macro y microminerales, saborizantes, aromatizantes, aditivos (antifúngico, antioxidante), levaduras, monensina.

\*Fórmula proporcionada por la empresa proveedora del alimento.

**Anexo III- Iniciador terneros. Composición centesimal e ingredientes.**

<b>Ternero iniciador 18%</b>	
Código: 1.24.01 Versión: 3	
Materia Seca: <b>86.96 %</b>	
<b>Nutrientes</b>	
Cobalto (mg/Kg)	27.28
Selenio (mg/Kg)	0.49
Zinc (mg/Kg)	77.88
Calcio (%)	0.80
Cistina (%)	0.24
Cloro (%)	0.36
Cobre (mg/Kg)	21.72
Energía Metabolica (MCal/Kg)	2.84
FD Acido (%)	7.43
FD Neutro (%)	20.27
Fosforo total (%)	0.55
Hierro (mg/Kg)	83.46
Lisina (%)	0.90
Magnesio (%)	0.28
Manganeso (mg/Kg)	79.26
Metionina (%)	0.28
Potasio (%)	0.98
Proteina cruda (%)	18.89
Sodio (%)	0.28
TAAZ (%)	0.59
Vitamina A (IU/Kg)	3093.38
Vitamina D (IU/Kg)	618.68
vitamina e (IU/Kg)	20.62
Yodo (mg/Kg)	0.56
Grasa (%)	3.71
H de C no estructurales (%)	46.39

**Ingredientes:** maíz, harina de soja alta proteína, pellet de trigo, germen de maíz, núcleo vitaminas- microminerales, aditivos, conchilla, sal, aromatizantes, saborizantes.

\*Fórmula proporcionada por la empresa proveedora del alimento.