

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



**Universidad de El Salvador**

*Hacia la libertad por la cultura*

**Efecto de la alimentación con pre iniciadores comerciales en el desarrollo de papilas  
ruminales de terneros en Hacienda San Pedro, Valle de Zapotitán, La Libertad**

**POR:**

**BR. JOCELYN ANABEL RIVERA CARDOZA**

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**

**LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, DICIEMBRE DE 2022**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR:**

**M. Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO**

**SECRETARIO GENERAL:**

**ING. FRANCISCO ALARCÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**DECANO:**

**DR. FRANCISCO LARA ASCENCIO**

**SECRETARIO:**

**ING. AGR. BALMORE MARTÍNEZ SIERRA**

**JEFE DE DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA:**

**F. \_\_\_\_\_**

**ING. M. Sc. BLANCA EUGENIA TORRES DE ORTIZ**

**DOCENTES DIRECTORES:**

F. \_\_\_\_\_

**ING. AGR. LUDWING VLADIMIR LEYTON BARRIENTOS**

F. \_\_\_\_\_

**MVZ GERMAN CAMPOS**

**COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADO:**

F. \_\_\_\_\_

**ING. AGR. CARLOS ENRIQUE RUANO IRAHETA**

## RESUMEN:

En la industria de la ganadería lechera las terneras de reemplazo representan la oportunidad para mejorar la genética e incrementar el ingreso económico del productor. El objetivo de criar terneras de reemplazo desde el nacimiento hasta el destete es reducir los problemas de salud y acelerar el crecimiento con el fin de alcanzar la madurez reproductiva. Todo esto se logra estimulando el sistema digestivo subdesarrollado de la ternera mediante una dieta eficiente que ayude a la transición de monogástrico a rumiante, reemplazando la leche por el concentrado, reduciendo la mano de obra y aumentando la rentabilidad. El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la alimentación con concentrados peletizados pre iniciadores comerciales en el desarrollo de papilas ruminales de terneros. La investigación se llevó a cabo en la Ganadería San Pedro, ubicada en el Valle de Zapotitán, La Libertad, con una duración de un año y medio en todas sus etapas, diecinueve semanas en su fase de campo dando inicio en el mes de abril de 2019 y finalizando en el mes de septiembre de 2019. Tras la declaración de pandemia a causa del brote y propagación mundial del SARS-CoV-2 en marzo de 2020, el estudio se retomó continuando con su fase de laboratorio a partir de noviembre de 2020 hasta octubre de 2021. Se utilizaron 36 terneros recién nacidos con pesos entre 15 kg  $\pm$ 10, entre ellos 27 hembras y 9 machos de raza Jersey y/o cruce F1 Holstein x Jersey, alimentados por 60 días *ad libitum*, con 3 tipos de concentrados pre-iniciadores de marcas comerciales nacionales, desde el inicio del ensayo hasta el destete. El modelo estadístico utilizado fue un diseño factorial 3x2 en donde se probaron 3 tratamientos divididos en 3 grupos de 12 terneros de raza Jersey y cruce F1 (Holstein + Jersey), 9 hembras y 3 machos por grupo, donde un grupo se alimentó con concentrado comercial A (T0= Testigo, A + Sustituto de leche), el segundo grupo con concentrado comercial B (T1: Concentrado comercial B + Sustituto de leche), y el tercer grupo con concentrado comercial C (T2: Concentrado comercial C + Sustituto de leche); registrando parámetros biométricos semanales de peso, altura de cruz y cadera de cada uno de los terneros. Terminado el periodo de 60 días, se procedió al sacrificio de los terneros machos y se recolectaron sus estómagos para su observación y estudio del grosor y ancho de las papilas ruminales, en el laboratorio de Patología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador (CENSALUD). En conclusión, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,05$ ) en altura y ancho de papilas ruminales con el uso de diferentes alimentos pre iniciadores comerciales en este estudio. Sin embargo, en el análisis histológico se observaron diferencias morfológicas desde el color del epitelio ruminal hasta la conformación de los estratos del epitelio, evidenciando degeneración hidrópica del estrato granuloso en los tratamientos B y C. En el tratamiento control A se observó un encortamiento de las papilas, eliminando su morfología característica de hoja, así como un ligero engrosamiento del estrato córneo.

*Palabras clave: Monogástrico, rumiante, papilas ruminales, sustituto de leche, epitelio, degeneración hidrópica.*

## ABSTRACT

In the dairy industry, replacement calves represent the opportunity to improve genetics and increase the economic income of the producer. The goal of raising replacement calves from birth to weaning is to reduce health problems and accelerate growth in order to reach reproductive maturity. All this is achieved by stimulating the underdeveloped digestive system of the calf through an efficient diet that helps the transition from monogastric to ruminant, replacing milk with concentrate, reducing labor and increasing profitability. The objective of this research was to evaluate the effects of feeding commercial pre-starter pelleted concentrates on the development of ruminal papillae in calves. The research was carried out in the San Pedro Livestock Farm, located in the Zapotitán Valley, La Libertad, with a duration of one and a half years in all its stages, nineteen weeks in its field phase beginning in the month of April 2019 and ending in September 2019. After the declaration of a pandemic due to the outbreak and global spread of SARS-CoV-2 in March 2020, the study was resumed, continuing with its laboratory phase from November 2020. until October 2021. 36 newborn calves weighing between 15 kg  $\pm$ 10 were used, including 27 females and 9 males of the Jersey breed and/or F1 Holstein x Jersey cross, fed for 60 days ad libitum, with 3 types of brand pre-starter concentrates. national commercials, from the beginning of the trial until weaning. The statistical model used was a 3x2 factorial design where 3 treatments were tested divided into 3 groups of 12 Jersey calves and F1 cross (Holstein + Jersey), 9 females and 3 males per group, where one group was fed with commercial concentrate A (T0= Control, A + Milk substitute), the second group with commercial concentrate B (T1: Commercial concentrate B + Milk substitute), and the third group with commercial concentrate C (T2: Commercial concentrate C + Milk substitute ); recording weekly biometric parameters of weight, withers height and hip of each one of the calves. At the end of the 60-day period, the male calves were sacrificed, and their stomachs were collected for observation and study of the thickness and width of the ruminal papillae at the Pathology Laboratory of the Center for Research and Development in Health of the University of El Salvador (CENSALUD). In conclusion, no statistically significant differences ( $P>0.05$ ) were found in height and width of rumen papillae with the use of different commercial pre-starter feeds in this study. However, in the histological analysis, morphological differences were observed, from the color of the ruminal epithelium to the conformation of the epithelial layers, evidencing hydropic degeneration of the granular layer in treatments B and C. In control treatment A, a shortening of the papillae was observed, eliminating its characteristic leaf morphology, as well as a slight thickening of the stratum corneum.

*Keywords: Monogastric, ruminant, ruminal papillae, milk replacer, epithelium, hydropic degeneration.*

## **AGRADECIMIENTOS:**

Expreso mis más sinceros agradecimientos por este logro alcanzado a mi familia, amigos, por su apoyo incondicional.

A mi hermanita linda, Andrea, por el amor y las risas, que nunca nos falten.

A mis asesores de tesis: Ing. Agr. Msc. Ludwin Leyton, M.V. German Campos, por el interés, dedicación y apoyo proporcionado a fin de orientarme en el trabajo de investigación.

A los señores Hill, de Hacienda San Pedro, por haber financiado la fase de campo de la investigación y por la oportunidad aprender mucho de su ganadería, utilizar las instalaciones, equipo, materiales. A sus trabajadores por su carisma, enseñanzas y apoyo siempre a disposición. A Arya, por hacerme los días más felices con los paseos por la hacienda.

A las autoridades del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). A la científica Michelle Cornejo y al Lic. Stanley Rodríguez por su valiosa amistad, y haberme permitido aprender mucho de ellos, utilizar las instalaciones, equipo, materiales y reactivos del Laboratorio de Patología para poder realizar esta investigación.

A el Lic. Luis Castellanos por su tiempo y asesoría en mi investigación. Al M.V.Z. Ramón Oviedo por su apoyo y amistad, al Ing. Ever Martínez por su apoyo en mi investigación y al Ing. Carlos Ruano por toda su ayuda.

***Dedicatoria:***

***En memoria de Salvador Cardoza †***  
*Aprendí a gastar la vida para ganar libertad.*

## ÍNDICE GENERAL

|   |     |
|---|-----|
| RESUMEN .....   | v   |
| AGRADECIMIENTOS.....  | vi  |
| DEDICATORIA .....   | vii |
| 1. INTRODUCCIÓN.....  | 1   |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....  | 2   |
| 2.1 Estructura digestiva del rumiante .....   | 2   |
| 2.2 Estructura digestiva del bovino adulto .....  | 3   |
| 2.3. Sistema Digestivo del Ternero.....   | 5   |
| 2.4. Desarrollo morfológico del rumen.....  | 6   |
| 2.5. Colonización microbiana del rumen .....  | 8   |
| 2.6. Retículo-rumen rudimentario .....  | 8   |
| 2.6. Líquido en el rumen .....  | 10  |
| 2.7. Movimiento muscular - salida de material del rumen.....                              | 10  |
| 2.8. Requerimientos nutricionales en terneras de reemplazo .....                          | 12  |
| 2.9. Principales Nutrientes para el Desarrollo de Terneras .....                          | 13  |
| 2.9.1. Calostro .....   | 14  |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 18  |
| 3.1. Ubicación y duración.....  | 18  |
| 3.3. Metodología de campo .....   | 20  |
| 3.3.1. Toma de muestra .....  | 21  |
| 3.4. Metodología de laboratorio .....   | 22  |
| 3.4.1. Procesamiento histológico .....  | 22  |
| 3.5. Metodología Estadística.....   | 23  |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 25  |
| 4.1. Comparaciones de ganancia de peso (kg), altura de cruz y cadera inicial y final..... | 25  |
| 4.3. Resultados ANOVA para ganancia de peso, altura de cruz y cadera.....                 | 27  |
| 4.4. Efecto interactivo entre composición racial y grupo de tratamiento.....              | 27  |
| 4.5. Desarrollo ruminal .....   | 28  |
| 4.5.1. ANOVA para efecto de tratamiento sobre desarrollo de papilas ruminales.....        | 28  |
| 4.5.2. Comparación de desarrollo ruminal por composición racial .....                     | 30  |
| 4.5.3. Diferencias morfológicas del epitelio ruminal según su tratamiento. ....           | 32  |
| 5. CONCLUSIONES.....  | 35  |
| 6. RECOMENDACIONES .....  | 35  |
| 7. BIBLIOGRAFÍA.....  | 36  |
| 8. ANEXOS .....   | i   |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 1. Capacidades relativas de las divisiones del estómago del ternero .....             | 6  |
| Cuadro 2. Requerimientos diarios de hembras en crecimiento según NRC.....                    | 13 |
| Cuadro 3. Composición de la leche y el calostro.....   | 15 |
| Cuadro 4. Concentración de nutrientes recomendados para sustituto de leche. ....             | 17 |
| Cuadro 5. Ejemplo de mezcla de concentrado y composición para terneros jóvenes. ....         | 18 |
| Cuadro 6. Composición nutricional de concentrados en estudio. ....                           | 20 |
| Cuadro 8. Promedios de ganancia de peso por tratamiento. ....                                | 25 |
| Cuadro 9. Promedios de altura de cruz por tratamiento.....                                   | 25 |
| Cuadro 10. Promedios de altura de cadera por tratamiento.....                                | 26 |
| Cuadro 11. Estadísticos descriptivos de peso, altura de cruz y cadera inicial y final. ....  | 26 |
| Cuadro 12. Efecto interactivo entre grupos A, B y C para peso, altura de cruz y cadera. .... | 28 |
| Cuadro 13. Resultados prueba t de Student para longitud y ancho de papilas ruminales.....    | 30 |
| Cuadro 14. Estadísticos descriptivos .....   | 31 |
| Cuadro A.1. ANOVA para efecto de tratamiento sobre desarrollo de papilas ruminales.....      | i  |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. El estómago del bovino (vista lateral izquierda).....   | 3  |
| Figura 2. El estómago del bovino (vista lateral derecha).....   | 4  |
| Figura 3. Superficie izquierda y derecha.....   | 4  |
| Figura 4. Tamaños relativos de los compartimientos del estómago bovino en diferentes edades. ....       | 5  |
| Figura 5. Comparación entre rumen de ternero y bovino adulto. ....                                      | 6  |
| Figura 6. La estructura del epitelio escamoso estratificado del revestimiento epitelial del rumen. .... | 7  |
| Figura 7. Etapas de desarrollo en el epitelio del rumen. ....   | 9  |
| Figura 8. Secuencia de contracción en el reticulorumen. (Klein, 2013).....                              | 11 |
| Figura 9. Cantidades de calostro de buena calidad requeridas en función de la raza .....                | 15 |
| Figura 10. Efectos de las cantidades de calostro proporcionado.....                                     | 16 |
| Cuadro 4. Concentración de nutrientes recomendados para sustituto de leche. ....                        | 17 |
| Figura 12. Ubicación geográfica de Ciudad Arce. ....  | 19 |
| Figura 13. Instalaciones de Hacienda San Pedro.....   | 19 |
| Figura 14. A) Área de terneras. B) Ternera recién nacida en su jaula. ....                              | 21 |
| Figura 15. Ejemplo de un rumen abierto procedimentalmente.....  | 22 |

|  |      |
|--|------|
| Figura 16. Adaptaciones físicas a la superficie luminal del epitelio ruminal.....    | 33   |
| Figura 17. Diferenciación microscópica del epitelio ruminal.....                     | 34   |
| Figura A-1 Instalaciones .....   | ii   |
| Figura A-2 Concentrado pre iniciador peletizado.....                                 | ii   |
| Figura A-3 Nacimiento de ternero .....   | iii  |
| Figura A-4 Pesaje .....  | iii  |
| Figura A-5 Identificación con arete.....   | iv   |
| Figura A-6 Curación de ombligo.....  | iv   |
| Figura A-7 Necropsia y disección de estómago.....                                    | v    |
| Figura A-8 Limpieza y tallado de muestra.....  | v    |
| Figura A-9 Disección de muestra de tejido ruminal en cassette e identificación ..... | vi   |
| Figura A-10 Procesamiento de muestras de tejido ruminal.....                         | vii  |
| Figura A-11 Bloques de parafina.....   | vii  |
| Figura A-12 Micrótomos de rotación .....   | viii |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|   |      |
|---|------|
| ANEXO1. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE MUESTRAS ..... | viii |
|---|------|

## 1. INTRODUCCIÓN

El ternero es funcionalmente un monogástrico. Al nacer, los cuatro compartimentos del estómago, excepto el abomaso, no son funcionales, no están desarrollados, son de tamaño pequeño y desproporcionados para el sistema digestivo adulto (Tamate *et al.* 2010) y ocupa aproximadamente el 25% del volumen de todo el estómago (SATO *et al.* 2010). El rumen solo comienza a crecer a las dos o tres semanas de edad y el crecimiento continuará aproximadamente hasta los 6 meses de edad. En estas primeras semanas de vida, la leche pasa por alto el rumen, el retículo y el omaso. Durante este período, el rumen, retículo y omaso no funcionales y no desarrollados no desempeñan ningún papel en la digestión. Son la inoculación y el establecimiento del ecosistema microbiano anaeróbico, el inicio de la ingesta de alimento sólido, los procesos de fermentación y los mecanismos de absorción acompañantes necesarios para desencadenar el desarrollo del rumen (Baldwin, 2010).

Lograr que las terneras lleguen a la pubertad en el menor tiempo posible, contribuye a que la edad al primer parto sea menor, y la producción comience más temprano en su vida. Al aumentar el aporte de energía y proteínas en la cría acelerada, la ternera tiene un mayor desarrollo corporal y se aprecia una reducción en los costos de cría, al compensar con un mayor aumento de peso al momento del desleche, menor edad a la pubertad y un mayor desarrollo del parénquima mamario. A través de los años, diversos estudios han identificado que el desarrollo del rumen parece estar muy afectado por la dieta y los cambios en la dieta (Brownlee, 2017) y se han utilizado diversas estrategias para acelerar el desarrollo de papilas ruminales, entre ellas: agregados de ácidos grasos volátiles (AGV), bacterias suplementarias, horarios de alimentación alterados, fuentes adicionales de nutrientes y cambios en el tamaño de las partículas (Lesmeister *et al.* 2010), (Muscato *et al.* 2002). Si el rumen está bien desarrollado podrá producir AGV a partir de forraje y concentrado y la energía se utilizará para el desarrollo de otros órganos y sistemas en la ternera.

Es por ello que el objetivo principal de esta investigación fue el de comparar si la composición de la dieta sólida de concentrados comerciales en este estudio propicia un proceso de fermentación óptimo para el desarrollo de la microbiota anaeróbica y por consiguiente la producción de AGVs que den paso al desarrollo adecuado del rumen: si la cantidad, calidad y tamaño de las papilas ruminales aumentan considerablemente y de estudiar los factores responsables de iniciar el crecimiento celular y la maduración de los tejidos no funcionales del rumen y del desarrollo y la función del rumen en la cría neonatal.

# 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 2.1 Estructura digestiva del rumiante

El sistema digestivo de los rumiantes califica de manera única a los animales como el ganado para utilizar de manera eficiente alimentos con alto contenido de fibra, incluidos los forrajes. La anatomía del sistema digestivo de los rumiantes incluye la boca, la lengua, las glándulas salivales (que producen saliva para amortiguar el pH del rumen), el esófago, el estómago de cuatro compartimentos (rumen, retículo, omaso y abomaso), páncreas, vesícula biliar, intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego, colon y recto). (Church, 1988)

Un rumiante usa su boca y lengua para recolectar forrajes durante el pastoreo o para consumir los alimentos recolectados. El ganado recolecta forrajes durante el pastoreo envolviendo sus lenguas alrededor de las plantas y luego tirando para rasgar el forraje para su consumo. En promedio, el ganado toma de 25,000 a más de 40,000 bocados prensiles para cosechar forraje mientras pasta cada día. Por lo general, pasan más de un tercio de su tiempo pastando. El techo de la boca de los rumiantes es un paladar duro / blando sin incisivos. Los incisivos de la mandíbula inferior actúan contra esta dura almohadilla dental. Los incisivos selectores de césped / forraje son anchos con una corona en forma de pala, mientras que los selectores de concentrados son más estrechos y tienen forma de cincel. Los premolares y los molares coinciden entre el maxilar superior y el inferior y estos trituran y muelen el material vegetal durante la masticación y la rumia iniciales. Los rumiantes comen rápidamente, tragando gran parte de su alimento sin masticarlo lo suficiente. (Church, 1988)

La saliva ayuda a masticar y tragar, contiene enzimas para la descomposición de la grasa (lipasa salival) y almidón (amilasa salival) y participa en el reciclaje de nitrógeno al rumen. La función más importante de la saliva es amortiguar los niveles de pH en el retículo y el rumen. Una vaca madura produce hasta 50 litros de saliva por día, pero esto varía, dependiendo de la cantidad de tiempo que pase masticando el alimento, la masticación estimula la producción de saliva. El forraje y el alimento se mezclan con saliva que contiene sodio, potasio, fosfato, bicarbonato y urea cuando se consume, para formar un bolo. Ese bolo luego pasa de la boca al retículo a través del esófago y llega al retículo. (Parish, *et al.* 2017)

El esófago funciona bidireccionalmente en los rumiantes, lo que les permite regurgitar su bolo alimenticio para masticar más, si es necesario. El proceso de rumiar o "rumia" es donde el forraje y otros alimentos son obligados a regresar a la boca para masticarlos y mezclarlos con la saliva. Este bolo alimenticio se vuelve a tragar y se pasa al retículo. Luego, la porción sólida se mueve lentamente hacia el rumen para la fermentación, mientras que la mayor parte de la porción líquida se mueve rápidamente desde el reticulorumen al omaso y luego al abomaso. La porción sólida que queda en el rumen permanece típicamente hasta 48 horas y forma una capa densa en el rumen, donde los microbios pueden usar los alimentos fibrosos para producir precursores de energía. (Parish, *et al.* 2017)

Los verdaderos rumiantes, como el ganado vacuno, ovino, caprino, venado y antílope, tienen un estómago con cuatro compartimentos: rumen, retículo, omaso y abomaso. El estómago de los rumiantes ocupa casi el 75 por ciento de la cavidad abdominal, llenando casi todo el lado izquierdo y extendiéndose significativamente hacia el lado derecho. El tamaño relativo de los cuatro compartimentos es el siguiente: el rumen y el retículo comprenden el 84 por ciento del volumen del estómago total, el omaso el 12 por ciento y el abomaso el 4 por ciento. El rumen es el compartimento estomacal más grande, con capacidad para 40 galones en una vaca madura. (Church, 1988)

El retículo tiene una capacidad aproximada de 5 galones en la vaca madura. Por lo general, el rumen y el retículo se consideran un solo órgano porque tienen funciones similares y están separados solo por un pequeño pliegue muscular de tejido. Se les conoce colectivamente como reticulorumen.

El omaso y el abomaso contienen hasta 15 y 7 galones, respectivamente, en la vaca madura. El reticulorumen alberga una población de microorganismos que incluyen bacterias, protozoos y hongos. Estos microbios fermentan y descomponen las paredes de las células vegetales en sus fracciones de carbohidratos y producen ácidos grasos volátiles (AGV), como acetato (utilizado para la síntesis de grasas), propionato (utilizado para la síntesis de glucosa) y butirato a partir de estos carbohidratos. Posteriormente, el animal usa estos AGV para obtener energía. (Parish, *et al.* 2017)

## 1.2 Estructura digestiva del bovino adulto

El estómago del rumiante se compone de cuatro compartimientos: (1) rumen (panza), (2) retículo (panal), (3) omaso (libro) y (4) abomaso (estómago verdadero) (Figura 3). Los tres primeros compartimientos también se conocen como pre estómagos, ya que preceden al llamado estómago verdadero.

Los pre-estómagos están recubiertos de epitelio escamoso estratificado y constituyen la región no glandular. El rumen ocupa una parte prominente de las vísceras en el lado izquierdo del animal (Figura 1 y 2) (Reece 2017).

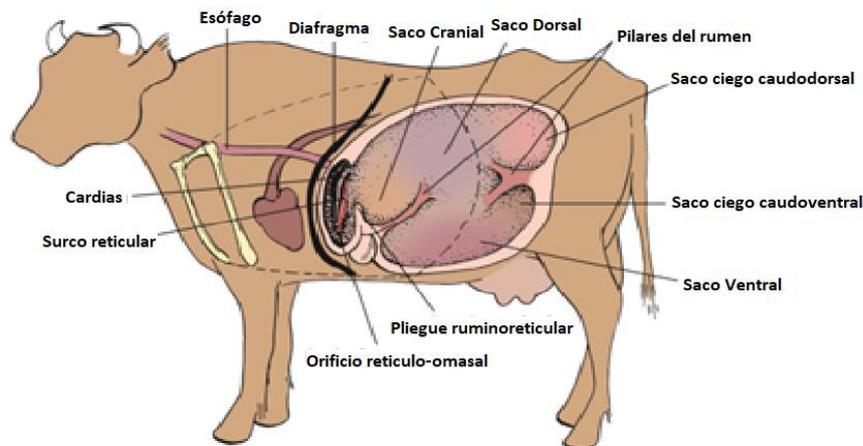


Figura 1. El estómago del bovino (vista lateral izquierda). El rumen y el retículo (que se muestran) son dos de los tres compartimientos del pre estómago que preceden al estómago verdadero (abomaso). El orificio retículo-omasal es el pasaje al tercer compartimiento conocido como omaso. El rumen está dividido en varios sacos por pilares musculares. La contracción del pilar es esencial para el movimiento del contenido ruminal. La línea discontinua ilustra la extensión de la caja torácica. Fuente: W. Reece (2017).

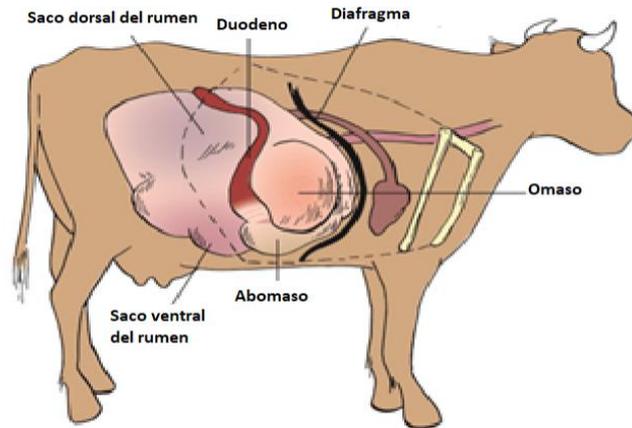


Figura 2. El estómago del bovino (vista lateral derecha). El omaso es el tercer compartimento del pre estómago, que tiene un canal omasal corto que conecta el orificio retículo-omasal con el orificio omaso-abomasal. La línea discontinua ilustra la extensión de la caja torácica. Fuente: W. Reece (2017).

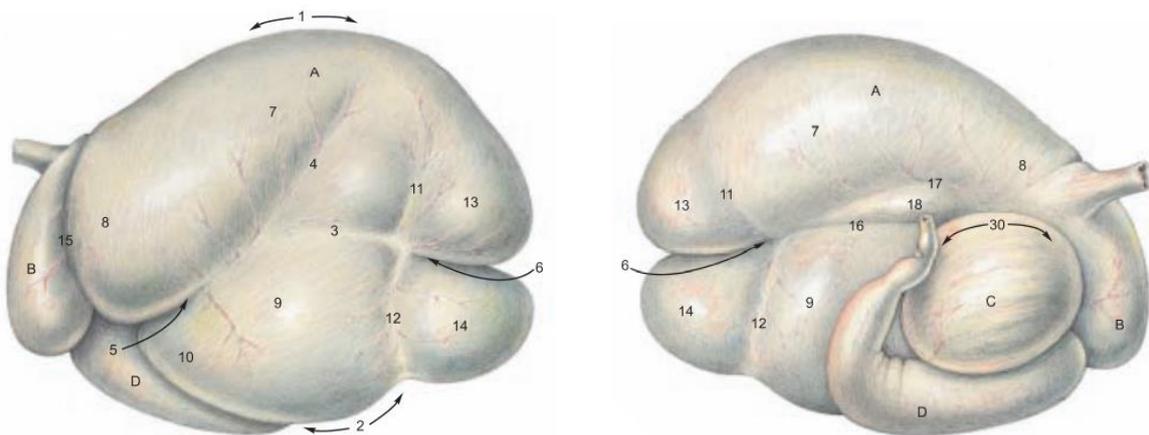


Figura 3. Superficie izquierda y derecha. A) Rumen: 1 curvatura dorsal, 2 curvatura ventral, 3 surco longitudinal izq., 4 surco accesorio izq., 5 surco craneal, 6 surco caudal, 7 surco dorsal, 8 atrio, 9 saco ventral, 10 cavidad del saco ventral del rumen, 11 surco coronario dorsal, 12 surco coronario ventral, 13 saco ciego caudodorsal, 14 saco ciego caudoventral, 15 surco ruminoreticular, 16 surco longitudinal derecho, 17 surco accesorio derecho, 18 insula, 19 orificio intraruminal, 20 pilares, 21 papilas. (Budras *et al.* 2011)

En el rumiante adulto, el rumen es el compartimento más grande. Está separado del retículo mucho más pequeño por el pliegue rumino-reticular. El alimento ingresa al rumen a través de la abertura cardíaca del esófago y se deposita en el saco craneal (aurícula) del rumen. La siguiente contracción del saco craneal transfiere el contenido al retículo, desde donde pueden ser "bombeados" por contracciones del retículo a: (1) la abertura cardíaca para la regurgitación, (2) el omaso a través del orificio retículo-omasal para la transferencia al abomaso o para una mayor digestión y absorción por las muchas capas del omaso, o (3) más partes caudales del rumen. El desarrollo del pre estómago está asociado con la ingesta de forraje y carece en terneros que se alimentan solo de leche. (Budras *et al.*, 2011)

Los diversos pilares del rumen son pliegues musculares que, cuando se contraen, pueden mover y mezclar grandes volúmenes de contenido ruminal. Uno o dos ciclos de contracción ruminal ocurren cada minuto. Se pueden sentir cuando la mano se coloca en la fosa paralumbar izquierda (depresión craneal a los ganchos pélvicos o tubérculos coxales, caudal a las costillas y ventral a las vértebras lumbares).

Las funciones de los compartimentos estomacales de los rumiantes se pueden resumir de la siguiente manera:

1. El rumen permite remojar y fermentar los alimentos fibrosos a granel y, debido a su motilidad, el contenido se mezcla continuamente.
2. El retículo sirve como una bomba que hace que el líquido fluya dentro y fuera del rumen. El flujo de líquido dirige la ingesta hacia el rumen, regula su paso del rumen al omaso, suministra humedad al contenido del rumen e inunda el cardias antes de la regurgitación.
3. El omaso proporciona fermentación y absorción continuas (absorción mejorada por una gran superficie luminal relacionada con las capas u hojas) y la regulación de la propulsión hacia adelante entre el retículo y el abomaso.
4. El abomaso proporciona verdaderas funciones estomacales. La digestión de forrajes y concentrados degradados comienza para los residuos de fermentación que aún no han sido absorbidos. Además, los microbios de la fermentación están preparados para su propia digestión.

El uso de microbios para la nutrición de su huésped es una ventaja que los rumiantes tienen sobre los herbívoros no rumiantes. (Budras *et al.* 2011)

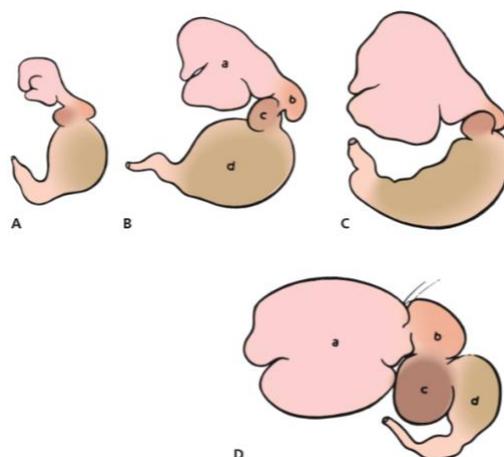


Figura 4. Tamaños relativos de los compartimentos del estómago bovino en diferentes edades. A. Tres días de edad. B. Cuatro semanas de edad. C. Tres meses de edad. D. Bovino adulto. a, Rumen; b, retículo; c, omaso; d, abomaso. Fuente: Reece W. (2017).

### 2.3. Sistema Digestivo del Ternero

Los terneros recién nacidos son pre-rumiantes. Tienen los mismos cuatro compartimentos que un adulto, pero el rumen es significativamente más pequeño (Figura 4). En el ternero, la parte más grande del tracto digestivo es el abomaso (cuarto estómago), que representa casi el 70% del tracto digestivo como se describe en el Cuadro 1 (también en Figuras 5). En este punto, los sistemas

metabólicos digestivos inmaduros funcionan de manera similar a los de un animal monogástrico joven, y el ternero depende de la leche o del sustituto de la leche como una fuente de carbohidratos y proteínas fácilmente digerible (TEAGASC, 2017).

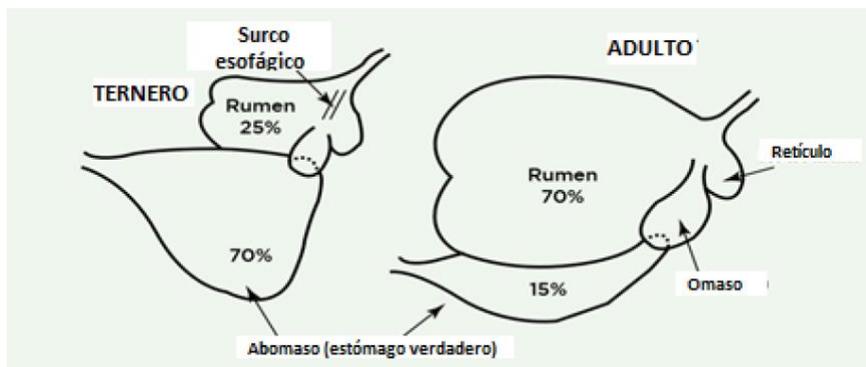


Figura 5. Comparación entre rumen de ternero y bovino adulto. Fuente: TEAGASC (2017).

**Cuadro 1. Capacidades relativas de las divisiones del estómago del ternero en función de la edad, expresadas como porcentaje de la capacidad gástrica total.**

| Edad      | Retículo-rumen % | Omaso % | Abomaso % |
|-----------|------------------|---------|-----------|
| Neonato   | 40               | 4       | 56        |
| 3 semanas | 48               | 4       | 36        |
| 7 semanas | 66               | 4       | 23        |
| Adulto    | 85-90            | 3-5     | 8-9       |

Fuente: Relling y Mattioli (2002).

El acto de succión por parte del ternero hace que se forme un pliegue de músculo en la pared del rumen, llamado surco reticular o esofágico. A medida que la ternera succiona, el surco esofágico funciona como un conducto para que la leche evite las regiones no glandulares del estómago del rumiante y pase directamente al abomaso glandular. El surco gástrico puede subdividirse en surcos reticulares, omasales y abomasales. El surco reticular transfiere la leche desde la abertura cardíaca a la abertura retículo-omasal, desde donde se transporta al abomaso a través de los surcos omasal y abomasal. El cierre del surco gástrico es un reflejo iniciado cuando se estimulan los receptores en la boca y la faringe. El reflejo pierde su capacidad de respuesta con la edad. Aunque se ha demostrado que ciertos productos químicos provocan el cierre del surco reticular en rumiantes adultos, no se ha descrito ninguna función en el adulto. (TEAGASC, 2017)

#### 2.4. Desarrollo morfológico del rumen

El epitelio ruminal proporciona varias funciones fisiológicamente vitales que incluyen: absorción, transporte, metabolismo de ácidos grasos volátiles y protección. El epitelio ruminal es un epitelio escamoso estratificado que consta de 4 estratos: estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso y estrato córneo (Figura 6). Las capas celulares varían dentro de cada estrato y varían marcadamente

dependiendo de la dieta, etapa de desarrollo ruminal, y patrón de alimentación. Las células del estrato basal, adyacentes a la lámina basal, contienen mitocondrias completamente funcionales y otros orgánulos, y son las células del rumen que contribuyen más significativamente a las propiedades metabólicas del tejido (es decir, cetogénesis). Las enzimas cetogénicas se encuentran principalmente dentro de las mitocondrias del epitelio ruminal. En consecuencia, las células basales son probablemente las más importantes de la capa ruminal en relación con el metabolismo energético de todo el animal. (Baldwin, 2017).

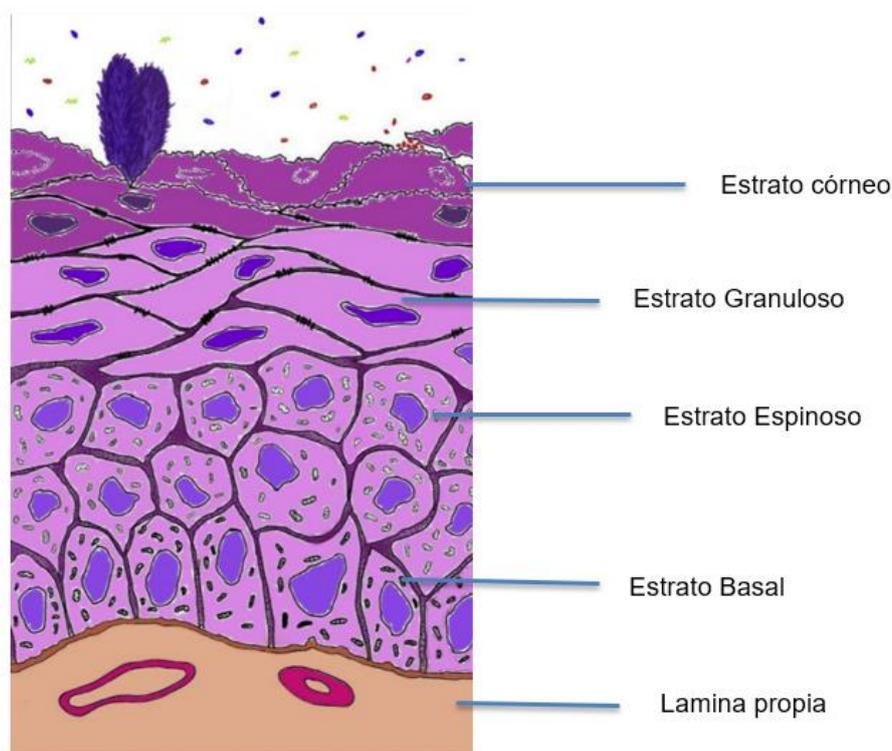


Figura 6. La estructura del epitelio escamoso estratificado del revestimiento epitelial del rumen. (Baldwin, 2017)

El estrato espinoso y el estrato granuloso son las capas celulares intermedias y no están separadas por una división distinta. A medida que las células migran a través de estas capas intermedias, contienen progresivamente menos mitocondrias y adquieren una apariencia menos uniforme. En el estrato granuloso, las células han establecido uniones estrechas (desmosomas) que mantienen la integridad de los gradientes de concentración de metabolitos a través de la pared ruminal. Las células en el estrato córneo, los estratos celulares más expuestos, son altamente cornificadas, y presumiblemente funcionan como una barrera defensiva contra el entorno físico del rumen. La integridad desmosómica del estrato córneo está degenerada y existen grandes brechas entre las células individuales. La composición dietética y, por lo tanto, ambiente ruminal, afecta en gran medida el número de capas celulares presentes en el estrato córneo. Por ejemplo, las raciones de producción con alto contenido de concentrado disminuyen el pH, aumenta las relaciones propionato/acetato y aumenta las proporciones molares de butirato, lo que puede resultar en un grosor de 15 capas de células en el estrato córneo.

En contraste, los animales que se mantienen con una dieta predominantemente de fibra a menudo tienen un estrato córneo que consta de tan solo 4 capas de células. Aunque el régimen de alimentación (es decir, cómo y cuándo se presenta el alimento) ha sido implicado como afectando el estrato córneo estas adaptaciones son más probablemente atribuibles a las alteraciones posteriores en el ambiente ruminal. (Baldwin, 2017).

La alimentación con dietas altamente fermentables para animales o con dietas granuladas o la infusión de butirato puede causar una modificaciones morfológica en las papilas ruminales (Govil *et al.* 2017).

## **2.5. Colonización microbiana del rumen**

La colonización microbiana del rumen del animal recién nacido representa un paso clave en el desarrollo de la funcionalidad del rumen. El rumen maduro alberga una población microbiana compleja, con bacterias dominantes seguidas de protozoos y hongos, pero los terneros recién nacidos tienen rumen estéril (Anderson *et al.* 1987).

Los rumiantes jóvenes adquieren bacterias del rumen principalmente de la dieta y el contacto entre ellos. Sin embargo, para un día de edad, se puede encontrar una gran concentración de bacterias, principalmente bacterias aeróbicas, o que usan oxígeno. (TEAGASC, 2017).

La microbiota ruminal es necesaria para el desarrollo fisiológico adecuado del rumen, para la capacidad del animal para digerir y convertir la masa vegetal en productos alimenticios. Es sensible a las modificaciones dietéticas, así como a los cambios fisiológicos en el huésped. La colonización microbiana del rumen neonatal inicia una cascada de cambios de crecimiento y desarrollo en el animal huésped que finalmente permite que el animal funcione como un verdadero rumiante. La alimentación temprana con alimento seco induce el desarrollo microbiano temprano, lo que resulta en una mayor actividad metabólica ruminal y mayores concentraciones totales de AGV en el contenido del rumen. Los agentes promotores del crecimiento para las papilas ruminales no son la microbiota ruminal sola o la alimentación seca sola. Más bien, es el butirato del producto final de la fermentación el responsable del crecimiento de las papilas ruminales. Los ácidos acéticos y propiónicos se absorben a través de la pared del rumen y se convierten en metabolitos que el becerro usa como fuentes de energía. El ácido butírico no se absorbe a través de la pared del rumen y, en cambio, se convierte en una fuente de energía utilizada por las células en la pared del rumen para un desarrollo eficaz del rumen. A medida que aumenta la ingesta de alimento seco, la cantidad y el tipo de bacterias cambian de aerobios a anaerobios y anaerobios facultativos (Drackley, 2003). Esto resulta en una pérdida de microbios aeróbicos y causa el desarrollo de microbios anaeróbicos con un aumento en la ingesta de alimento seco. La producción de AGV disminuye el pH del rumen y establece un entorno de crecimiento ideal para las bacterias, especialmente para las bacterias que digieren el almidón y producen ácidos propiónicos y butíricos. Muchos metanógenos (productores de metano), proteolíticos (degradadores de proteínas) y celulolíticos (degradadores de celulosa) se establecen (Govil *et al.* 2017).

## **2.6. Retículo-rumen rudimentario**

El retículo-rumen de los terneros lecheros tiene un crecimiento más rápido antes de las 8 semanas de edad y el tamaño y madurez probablemente se alcanzan a las 12 semanas (Figura 7). Al nacer, la pared del rumen es delgada y ligeramente transparente y el volumen retículo-rumen es mínimo (Warner *et al.* 1956). Los animales rumiantes requieren un rumen desarrollado física y funcionalmente para satisfacer las demandas de un deseo innato de consumir forrajes y alimentos secos. Sin embargo, el rumen neonatal no se desarrollará si no se proporcionan los requisitos de la dieta para el desarrollo del rumen (Govil *et al.* 2017).

La proliferación y el crecimiento de las células epiteliales escamosas causan un aumento en la longitud y el ancho de las papilas y el grosor de la pared interior del rumen (Church, 1988).

Durante la transición de un pre-rumiante a un animal rumiante, el crecimiento y el desarrollo del área superficial absorbente ruminal (papilas) es esencial para permitir la absorción y utilización de los productos finales de la digestión, específicamente los ácidos grasos volátiles del rumen (Warner *et al.* 1956). Los efectos estimulantes de diferentes ácidos grasos volátiles no son iguales, siendo el butirato el más estimulante, seguido del propionato. La baja actividad de la enzima acetil-CoA sintetasa parece limitar el metabolismo epitelial del acetato del rumen, lo que limita la capacidad del acetato para estimular el desarrollo epitelial. El metabolismo del butirato por el epitelio parece aumentar concomitantemente con la disminución del pH del rumen y el aumento de las concentraciones de butirato (Baldwin, 2000). Una presencia continua de ácidos grasos volátiles mantiene el crecimiento, el tamaño y la función de las papilas del rumen. Por lo tanto, es probable que las dietas compuestas de leche, concentrados o forrajes afecten la velocidad y el alcance del crecimiento epitelial del rumen de manera diferente.



Figura 7. Etapas de desarrollo en el epitelio del rumen. A) Aspecto exterior e interior de un rumen de terneras de 4 semanas. El ternero fue alimentado con una dieta de leche solamente. B) Aspecto exterior e interior de un rumen de terneras de 8 semanas. El ternero fue alimentado con una dieta de leche y luego grano. La foto del lado izquierdo muestra el excelente desarrollo de las papilas y la coloración oscura saludable asociada con una alimentación adecuada de los terneros. C) Aspecto exterior e interior de un rumen de terneras de 12 semanas. El ternero fue alimentado con una dieta de leche, heno y grano. A esta edad, el rumen debe desarrollarse en tamaño, pero también las papilas interiores deben desarrollarse correctamente como las de la foto del lado izquierdo. La coloración oscura es causada por un aumento de tejido (mucosa) y vascularización. Fuente: Heinrichs (2005).

## 2.6. Líquido en el rumen

Las bacterias del rumen deben vivir en un entorno acuático. Sin suficiente agua, las bacterias no pueden crecer y el desarrollo ruminal se desacelera. El agua en el licor del rumen proviene principalmente de la ingesta de agua libre. Si se ofrece agua a los terneros desde una edad temprana, esto no suele ser un problema, desafortunadamente, muchos productores no les proporcionan agua ad libitum a sus terneros hasta que alcanzan las 4 semanas de edad, lo que puede retrasar la ingesta de iniciador en varias semanas. El agua puede aumentar el peso corporal del animal, la ingesta de iniciador y reducir el desgaste físico por estrés calórico en épocas con altas temperaturas. Las dietas ricas en sal, bicarbonato de sodio o proteínas tienden a estimular el consumo de agua. Las dietas ricas en forraje también pueden aumentar las necesidades de agua al aumentar la pérdida de agua en las heces y la orina. (USDA-NAHMS, 1993).

El flujo de agua tiene efectos importantes en la dinámica del rumen. Para pequeñas partículas y material soluble para salir del rumen, el líquido debe lavar constantemente todas las secciones del rumen e ir moviéndose a través del orificio retículo-omasal. Esto significa que el agua debe fluir constantemente a través de la masa de material sólido. En efecto, el retículo-rumen funciona como un colador gigante o tamiz, manteniendo la masa de fermentación de materia particulada mientras el agua fluye a través de él y lava las partículas pequeñas y el material soluble. Por lo tanto, la tasa de tránsito de agua debe ser considerablemente mayor que la tasa de tránsito de partículas a través del rumen. (Klein, 2013)

Casi toda el agua que ingresa al rumen lo hace a través del esófago, por flujo salival, bebida o alimentos succulentos. Por lo tanto, la tasa de dilución depende de las tasas de salivación y bebida. La tasa de salivación está influenciada por el tiempo de masticación y el tipo de alimentación; los alimentos como los forrajes secos de tallo largo, que requieren tasas de masticación relativamente altas, estimulan altas tasas tanto de flujo salival como de dilución. La salivación ocurre durante la rumia, así como durante la masticación inicial; por lo tanto, aquellos alimentos que estimulan altas tasas de rumia, como los forrajes, también estimulan altas tasas de dilución. Por el contrario, los alimentos que no estimulan la rumia (p. ej., concentrados) da como resultado tasas de dilución relativamente bajas. La tasa de bebida está influenciada por (1) la tasa de alimentación ingesta y (2) el contenido de sal o electrolitos de la dieta. Por lo tanto, altas tasas de ingesta o dietas con alto contenido de electrolitos estimulan altas tasas de dilución. Debido a que las altas concentraciones de microbios suprimen la división celular microbiana, el crecimiento de microbios es estimulado por altas tasas de dilución. Las altas tasas de crecimiento son nutricionalmente deseables porque una mayor parte de la energía disponible para los microbios se utiliza para el crecimiento en lugar de mantenimiento, como ocurre en poblaciones microbianas más antiguas y relativamente estables. Por lo tanto, las altas tasas de dilución generalmente aumentan los valores de ATP, siempre que haya suficiente proteína disponible para apoyar el crecimiento celular. (Klein, 2013)

## 2.7. Movimiento muscular - salida de material del rumen

Los alimentos que entran en el rumen deben poder salir. Por lo tanto, el desarrollo de la actividad del rumen, como las contracciones, la presión y la regurgitación, es necesario. Este movimiento muscular también ayuda a mezclar los alimentos. Cuando nace el ternero, el rumen tiene poca actividad muscular, pocas contracciones y no regurgitación. A medida que aumenta la ingesta de alimento seco del becerro, comienzan las contracciones del rumen. Si los terneros se alimentan con leche, heno e iniciador poco después del nacimiento, las contracciones normales del rumen se pueden detectar desde las tres semanas de edad. Por el contrario, si los terneros solo se alimentan con

leche, las contracciones normales del rumen pueden no medirse durante períodos prolongados (TEAGASC, 2017).

Los divertículos estomacales (DE) poseen una actividad motora controlada. Este control lo realiza un centro nervioso ubicado en el núcleo vagal, en dorsal del tallo cerebral (bulbo raquídeo). Este centro recibe información de receptores ubicados en los DE, encargados de controlar los parámetros ruminales más importantes. Estos incluyen, **a) Receptores de estiramiento:** Informan sobre el tamaño o grado de distensión del rumen. Consisten en terminaciones nerviosas ramificadas en la pared retículo-ruminal que se estimulan al distenderse y ocasionan un aumento de las contracciones ruminales y de la rumia. Esta respuesta tiene como fin estimular el mezclado, la disgregación del contenido y especialmente la progresión de éste hacia el abomaso. **b) Receptores de tensión:** Ubicados especialmente en los pilares, captan la resistencia para introducirse en el estrato sólido del contenido ruminal e informan sobre su consistencia. Esta depende de la dieta, de modo que cuando el rumiante consume principalmente material fibroso, como pasto seco por ejemplo, se forma un grueso estrato sólido y de alta resistencia al mezclado, que estimula estos receptores ocasionando un aumento de la motilidad retículo-ruminal y de la rumia. **c) Receptores de pH:** La continua producción de AGV hace que el pH ruminal sea normalmente ácido. Dentro del rango fisiológico (5,5 a 6,9) a medida que el pH desciende se incrementa la motilidad ruminal, lo cual favorece el mezclado y por lo tanto la absorción de los AGV, que al abandonar el retículo-rumen permiten que el pH vuelva a elevarse. Sin embargo, cuando el pH abandona el rango normal la depresión motora es grave, con atonía ruminal a pH superior a 7 e inferior a 5. (Relling *et al.* 2002)

Más importante que saber la secuencia exacta de contracciones, es comprender la influencia que este patrón tiene en el flujo de ingesta a través de la panza del rumiante. A continuación, se muestra la secuencia en la siguiente imagen:

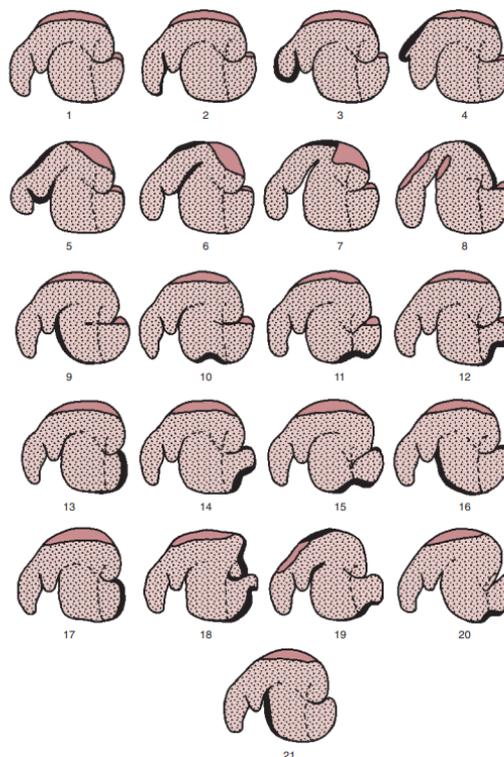


Figura 8. Secuencia de contracción en el reticulorumen. (Klein, 2013)

Estos dibujos se derivaron tomando imágenes directamente de radiografías. Las regiones abiertas representan el casquete gaseoso del rumen, mientras que la región punteada representa la ingesta. Las líneas gruesas indican partes de la pared que se están contrayendo activamente. Dibujos 1 a 16 representan la secuencia de eventos en una contracción primaria en una oveja alimentada normalmente. Dibujos 17 a 21 representan la secuencia de eventos en una contracción secundaria o de eructo. 1, etapa de reposo. 2, Inicio de secuencia con elevación del pliegue retículo-ruminal. 3, Fin de la primera fase de contracción reticular. 4, Fin de la segunda fase de contracción reticular; obsérvese la dilatación del saco craneal. 5 a 7, Contracción del saco craneal seguida de contracción del pilar craneal y el saco dorsal. 8, Contracción del saco ciego caudal-dorsal y del pilar caudal, causando desplazamiento del casquete gaseoso hacia el retículo, debajo del pilar craneal y hacia el saco ciego caudal-ventral. 9, Contracción de pilar longitudinal y rumen ventral craneal; en ovejas anoréxicas, la secuencia frecuentemente cesa en este punto, y la ocurrencia de los pasos restantes en la secuencia varía según el grado de llenado del retículo-rumen. 10 a 12, Onda de contracción que migra caudalmente hacia el saco ciego caudal-ventral, asociada con un Desplazamiento ventral del pilar caudal. 13, Contracción del polo del saco ciego caudal-ventral desplazando tapa de gas alrededor del pilar caudal. 14 a 16, Migración craneal de la contracción si no ocurre la secuencia de contracción secundaria. 17, cuando una contracción secundaria sigue a una primaria, la contracción terminal del saco ciego caudal-ventral puede mantenerse durante un período prolongado o puede repetirse simultáneamente con una segunda contracción del pilar caudal. 18, La contracción del pilar caudal y el saco ciego dorsal comienzan a empujar el casquete de gas cranealmente; la contracción comienza a moverse cranealmente a través del saco ciego caudal-ventral. 19, la contracción se ha movido rápidamente a lo largo del rumen dorsal y el pilar craneal se han movido por segunda vez; el eructo, si ocurre, ocurre en este punto. 20 y 21, La contracción migra cranealmente hacia el rumen ventral, provocando la contracción de los pilares coronarios ventrales y el segundo desplazamiento ventral del pilar caudal; El ciclo termina con una contracción del rumen ventral craneal. (Klein, 2013)

## 2.8. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES EN TERNERAS DE REEMPLAZO

Respecto a los requerimientos nutricionales de terneras, son reconocidas tres fases de desarrollo relacionadas a la función digestiva:

- 1) **Fase de alimentación líquida.** Todos o esencialmente todos los requerimientos nutricionales se alcanzan a través de la leche o sustituto de leche. La calidad de este alimento es preservada por medio del surco esofágico funcional, que eyecta el alimento líquido directamente hacia el abomaso y por consiguiente evade la síntesis microbiana en el retículo-rumen.
- 2) **Fase de transición.** La dieta líquida e iniciador contribuyen a alcanzar los requerimientos nutricionales del ternero.
- 3) **Fase rumiante.** El ternero obtiene nutrientes de alimento sólido, principalmente a través de la fermentación microbiana en el retículo-rumen.

La fase de alimentación líquida empieza luego del nacimiento de la ternera con la ingesta de **calostro**, secreción del primer ordeño recolectada de la ubre después del parto, de aspecto espeso, cremoso, amarillo, posee efectos laxantes que estimulan el buen funcionamiento del tracto digestivo.(TEAGASC, 2017)

## 2.9. Principales Nutrientes para el Desarrollo de Terneras

La proteína es un nutriente de gran importancia para las terneras ya que suministra los aminoácidos necesarios para la síntesis de la proteína del cuerpo y es también una fuente importante de nitrógeno para los microorganismos del rumen. Una cantidad inadecuada de este nutriente en la dieta disminuirá el desempeño de los animales y la resistencia a las enfermedades. Por lo tanto, establecer adecuadamente los requerimientos proteicos de las terneras, ayudará a los productores a proveer dietas que llenen las demandas para un óptimo desarrollo y buena salud de los animales (Elizondo, 2013).

Las necesidades nutricionales se llenan suministrando una ración adecuada que contenga proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales, siempre que el animal tenga una buena función digestiva y el apetito adecuado.

No llenar los requerimientos provoca que se presenten problemas nutricionales, que traen como consecuencia desequilibrios orgánicos e impiden que el animal tenga un buen desempeño productivo (INATEC, 2008). A continuación, en el Cuadro 2 se presentan los requerimientos diarios de hembras en crecimiento.

**Cuadro 2. Requerimientos diarios de hembras en crecimiento según NRC.**

| Razas grandes  |              |                           |                           |                    |            |             |
|----------------|--------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|------------|-------------|
| Peso vivo (kg) | Ganancia (g) | Consumo materia seca (kg) | Energía Digestible (Mcal) | Proteína Cruda (g) | Calcio (g) | Fósforo (g) |
| 100            | 600          | 2.63                      | 8.13                      | 421                | 17         | 9           |
| 100            | 700          | 2.82                      | 8.72                      | 454                | 18         | 9           |
| 100            | 800          | 3.02                      | 9.32                      | 483                | 18         | 10          |
| 150            | 600          | 3.51                      | 10.61                     | 562                | 19         | 11          |
| 150            | 700          | 3.75                      | 11.33                     | 600                | 19         | 12          |
| 150            | 800          | 3.99                      | 12.07                     | 639                | 20         | 12          |
| 200            | 600          | 4.39                      | 12.99                     | 631                | 21         | 14          |
| 200            | 700          | 4.68                      | 13.84                     | 686                | 22         | 14          |
| 200            | 800          | 4.97                      | 14.71                     | 741                | 22         | 15          |

| Razas pequeñas |              |                           |                           |                    |            |             |
|----------------|--------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|------------|-------------|
| Peso vivo (kg) | Ganancia (g) | Consumo materia seca (kg) | Energía Digestible (Mcal) | Proteína Cruda (g) | Calcio (g) | Fósforo (g) |
| 100            | 400          | 2.41                      | 7.35                      | 386                | 15         | 8           |
| 100            | 500          | 2.64                      | 8.03                      | 422                | 16         | 8           |
| 100            | 600          | 2.86                      | 8.71                      | 458                | 17         | 9           |
| 150            | 400          | 3.31                      | 9.78                      | 512                | 17         | 10          |
| 150            | 500          | 3.89                      | 10.63                     | 567                | 18         | 11          |
| 150            | 600          | 4.24                      | 11.50                     | 622                | 19         | 11          |
| 200            | 400          | 4.60                      | 12.16                     | 513                | 19         | 13          |
| 200            | 500          | 4.96                      | 13.19                     | 562                | 20         | 13          |
| 200            | 600          | 4.96                      | 14.23                     | 611                | 20         | 14          |

Fuente: National Academies Press (2001).

### 2.9.1. Calostro

El calostro se deberá suministrar a un nivel del 10% del peso corporal al nacimiento e inmediatamente después del parto (Figura 10), con el fin de garantizar una eficiente utilización de las inmunoglobulinas que están presentes en este alimento (Campabadal, 2000). El calostro es la primera y más importante alimentación en la industria láctea de terneras. Da a la ternera recién nacida la principal fuente de nutrientes y las inmunoglobulinas que ayudan a reducir el riesgo de enfermedad precoz y posible muerte (USDA, 2003).

El calostro es la prioridad número uno para el recién nacido ya que puede ser la diferencia entre la vida o la muerte; la diferencia entre un animal productivo o uno menos productivo y es un factor económico importante en la finca (Elizondo, 2009). Las terneras nacen con poca o ninguna inmunidad natural resistente a las enfermedades e infecciones (ya que su sangre no lo contienen en el momento del nacimiento).

Por lo tanto, la inmunidad que adquiere las terneras a través de calostro contribuye a mejorar las posibilidades de supervivencia del animal (USDA, 2003). El calostro debe ser alimentado dentro de una hora de nacimiento al menos 2 litros de calostro limpio. Antes de que el ternero llegue a las 8 horas de edad, otros 2 litros de calostro deben ser alimentado. Los terneros nacen con muy poca inmunidad y se basan en 23 el calostro para obtener la inmunidad necesaria. Los anticuerpos del calostro son absorbidos a través de la pared del estómago directamente en el torrente sanguíneo.

El revestimiento del estómago comienza a perder capacidad de absorción de este poco después del nacimiento y termina a las 8 horas de edad. La investigación ha demostrado que el 25% de los terneros que se quedan con su madre durante este período de ocho horas no se nutren del calostro. Otro 25% no recibe un volumen adecuado de transmitir los anticuerpos (USAID, 2006). El calostro ingerido a las 12 horas de vida o después tienen un valor prácticamente nulo como proveedor de

inmunidad; de modo que es mejor concentrar este esfuerzo en administrar el calostro lo más pronto posible después del nacimiento. La permeabilidad intestinal es de 100% al momento de nacimiento, pero disminuye paulatinamente, pero rápidamente a las 6 horas puede ser ya de 50%, de 25% a las 12 y de 5% a las 18 horas (Martínez, 1995).

**Cuadro 3. Composición de la leche y el calostro. Incluye los porcentajes de anticuerpos indicados en la siguiente línea**

| Componente               | Número de ordeño |                     |       |      |      | Leche entera |
|--------------------------|------------------|---------------------|-------|------|------|--------------|
|                          | 1                | 2                   | 3     | 4    | 5    |              |
|                          | Calos-<br>tro    | Leche de transición |       |      |      |              |
| Sólidos totales, %       | 23.9             | 17.9                | 14.1  | 13.9 | 13.6 | 12.5         |
| Grasa, %                 | 6.7              | 5.4                 | 3.9   | 3.7  | 3.5  | 3.2          |
| Proteína, % <sup>1</sup> | 14.0             | 8.4                 | 5.1   | 4.2  | 4.1  | 3.2          |
| Anticuerpos, %           | 6.0              | 4.2                 | 2.4   | 0.2  | 0.1  | 0.09         |
| Lactosa, %               | 2.7              | 3.9                 | 4.4   | 4.6  | 4.7  | 4.9          |
| Minerales, %             | 1.11             | 0.95                | 0.87  | 0.82 | 0.81 | 0.74         |
| Vitamina A, ug/dl        | 295.0            | --                  | 113.0 | --   | 74.0 | 34.0         |

Fuente: Wattiaux (2015).

Además de su alto valor nutritivo (Figura 9) ésta posee anticuerpos necesarios para proteger al recién nacido de muchas infecciones que pueden causar diarreas y la muerte. La concentración de anticuerpos en el calostro es en promedio 6% (6g/100g de calostro), pero puede variar entre el 2% al 23%. En contraste, la concentración de anticuerpos en la leche es solo 0.1%.

| Raza: <sup>1</sup>        | Pequeña |      | Mediana |      | Grande |      |
|---------------------------|---------|------|---------|------|--------|------|
| Peso corporal, kg         | 25      | 30   | 35      | 40   | 45     | 50   |
| Calostro, <sup>2</sup> kg | 1.25    | 1.50 | 1.75    | 2.00 | 2.25   | 2.50 |

Figura 9. Cantidades de calostro de buena calidad requeridas en función de la raza del ternero y peso al nacimiento. Raza pequeña= Jersey; Raza mediana= Ayshire y Guernsey; Raza grande= Holstein y Brown Swiss. Cantidad de calostro ofrecido en cada tiempo de alimentación (4 al 5% del peso corporal) Fuente: Wattiaux (2015).

Es de suma importancia la cantidad de calostro y el tiempo de alimentación al nacimiento, ya que determinan si el ternero sobrevivirá. Inmediatamente después del nacimiento la absorción de anticuerpos es en promedio 20% y declina rápidamente luego de una hora de nacido. Debe ser ofrecido a temperatura de 39°C. En 24 horas el ternero pierde su habilidad para absorber anticuerpos intactos (Figura 11), es por ello que se recomienda utilizar un tubo esofágico para alimentar inmediatamente a terneros que nazcan débiles o se rehúsen a alimentarse directamente de la madre o la pacha.

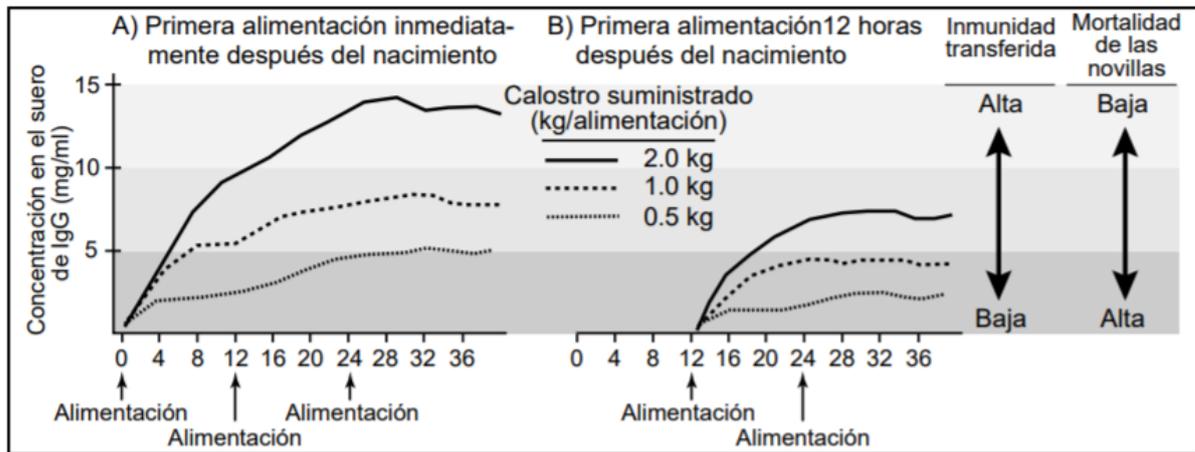


Figura 10. Efectos de las cantidades de calostro proporcionado y el tiempo de alimentación en relación con el nacimiento en la transferencia de inmunoglobulina G (IgG) desde el calostro a la sangre del ternero. Fuente: Wattiaux, 2015.

La cantidad de calostro ingerida por un ternero es controlada fácilmente una pacha equipada con un biberón, el equipo debe ser limpiado y desinfectado después de cada uso para minimizar el crecimiento bacteriano y el riesgo de transferir patógenos.

**2.9.1.1. Ingesta de leche y digestión.** La leche es digerida principalmente por ácidos y enzimas producidas en el abomaso. Cuando la leche entera entra al abomaso forma un cuajo que resulta de la coagulación de la proteína de la leche, o caseína, bajo la acción de las enzimas renina y pepsina, y bajo la acción del ácido hidroclicórico. La grasa de la leche, agua y minerales también quedan atrapados en el mismo cuajo que es retenido en el abomaso para su digestión. Otros componentes de la leche, principalmente proteínas del suero, lactosa y la mayoría de los minerales se separan del cuajo y pasan al intestino delgado rápidamente (aproximadamente 200 ml/h). La lactosa es digerida de inmediato y, a diferencia de la caseína y la grasa, proporciona energía inmediata al ternero (Wattiaux, 2015).

En cuanto a la cantidad de leche, una buena regla general es alimentar 1 kg de leche por día por cada 10-12 kg del peso corporal al nacer. En otras palabras, un ternero debe recibir del 8 al 10% de su peso corporal al nacer en leche todos los días (2.5 kg de leche para un ternero de 25 kg, 3.5 kg de leche para un ternero de 35 kg, etc.). Las terneras deben ser alimentadas con la misma cantidad de leche hasta ser destetadas. A medida que las terneras crecen, pueden proporcionarse mayores cantidades de leche, sin embargo, al limitar el consumo de leche, las terneras son estimuladas a consumir alimento sólido a temprana edad. Preferentemente, la leche debe ser ofrecida en dos tiempos iguales al día, cada uno del 4 al 5% del peso corporal. Cuando la cantidad de leche requerida al día es ofrecida en un solo tiempo, la capacidad del abomaso es excedida y el exceso de leche fluye hacia el rumen en donde puede causar malestar digestivo, incrementando las posibilidades de diarreas y otros problemas de salud a las terneras. La temperatura de la leche debe ser de 39°C, pero temperaturas más bajas también son aceptables para terneros de mayor edad (25-30°C) (Wattiaux, 2015b).

Se recomienda que al inicio se alimente a la ternera con biberón y así evitar problemas digestivos. Mientras tanto se debe enseñar a las terneras a poder beber de una cubeta durante los primeros días de nacidas ya que este método requiere de menor trabajo de limpieza. Esto se logra ofreciendo agua en las cubetas.

**2.9.1.2. Tipos de leches para la alimentación de terneras.** Se puede proporcionar **leche entera** hasta el destete luego del calostro y la fase de transición. Cantidades controladas de leche entera suplementado con un buen iniciador a base de granos es una excelente combinación para las terneras. Los terneros pueden recibir **sustituto de leche** a los 4-6 días de edad. Los sustitutos de leche usualmente contienen menos grasa y por consiguiente menos energía (75% a 86%) que la leche entera con base a materia seca. Las terneras alimentadas con sustituto de leche ganan ligeramente menos condición corporal por día que aquellas alimentadas con leche entera. La proteína en estos sustitutos de leche debe de ser por lo menos al 22% (Figura 12). Cuando se usa este tipo de leche, se deben de seguir las indicaciones de su dilución al pie de la letra, la mayoría de los sustitutos deben ser diluidos utilizando una parte de leche por siete partes de agua para obtener un producto con un contenido sólido similar al de la leche entera (12.5%) (Wattiaux, 2015b).

**2.9.1.3. Introduciendo alimentos sólidos a la dieta.**

Cuando el alimento sólido es ingerido, el suco esofágico va perdiendo gradualmente su función, la población de bacterias se va estableciendo en el rumen y empieza el desarrollo de la pared ruminal. Un concentrado iniciador debería ser ofrecido a partir de los 4 días de edad y continuar hasta los cuatro meses de edad, seis a ocho semanas pos destete (Figura 13). La ternera va a ingerir cantidades muy pequeñas de comida sólida sus primeras dos semanas de vida, sin embargo, deben de ser estimuladas a ingerirlo. A medida que va incrementando la ingesta de concentrado iniciador, la leche puede ser ofrecida solamente una vez al día la semana previa al destete. Eventualmente las novillas comienzan a ser capaces de utilizar alimento fibroso debido a la microbiota ruminal que los sintetiza. Se puede decir que el rumen es funcional cuando una novilla joven empieza a rumiar entre los dos y cuatro meses de edad. Se recomienda que el destete sea no después de las ocho semanas de edad, debido a los costos que implica seguir la dieta líquida, además, la ganancia de peso se incrementa exponencialmente al empezar una dieta sólida. Es importante recalcar que las necesidades nutricionales del ternero y su desarrollo ruminal serán cubiertas con la alimentación de un concentrado iniciador completo que con el forraje, especialmente antes del destete (Wattiaux, 2015).

**Cuadro 4. Concentración de nutrientes recomendados para sustituto de leche.**

| Nutriente                         | Concentr.         |
|-----------------------------------|-------------------|
| Energía Metabolizable, Mcal/kg    | 3.78              |
| Proteína cruda, %                 | 22.0              |
| Extracto etéreo (lípidos), min. % | 10.0 <sup>1</sup> |
| <b>Macro-minerales</b>            |                   |
| Calcio - Ca, %                    | 0.70              |
| Fósforo - P, %                    | 0.60              |
| Magnesio - Mg, %                  | 0.07              |
| Potasio - K, %                    | 0.65              |
| Sodio - Na, %                     | 0.10              |
| Cloro - Cl, %                     | 0.20              |
| Azufre - S, %                     | 0.29              |
| <b>Micro-minerales</b>            |                   |
| Hierro - Fe, ppm (o mg/kg)        | 100.0             |
| Cobalto - Co, ppm                 | 0.10              |
| Cobre - Cu, ppm                   | 10.0              |
| Manganeso - Mn, ppm               | 40.0              |
| Zinc - Zn, ppm                    | 40.0              |
| Iodo - I, ppm                     | 0.25              |
| Selenio - Se, ppm                 | 0.30              |
| <b>Vitaminas</b>                  |                   |
| Vitamina A, IU <sup>2</sup> /kg   | 3800.0            |
| Vitamina D, IU/kg                 | 600.0             |
| Vitamina E, IU/kg                 | 40.0 <sup>3</sup> |

<sup>1</sup> En clima cálido, debe ser al menos del 15%; en clima frío, 20%. <sup>2</sup> IU= Unidades Internacionales. <sup>3</sup> De preferencia 200 IU/kg para aumentar la función del sistema inmune Fuente: Wattiaux (2015).

**Cuadro 5. Ejemplo de mezcla de concentrado y composición para terneros jóvenes.**

| INGREDIENTES                      | INICIADOR EN GRANO <sup>1</sup>                |       |       |       | INICIADOR COMPLETO <sup>2</sup> |       |       |       |
|-----------------------------------|--|-------|-------|-------|---------------------------------|-------|-------|-------|
|                                   | 1  | 2     | 3     | 4     | 1                               | 2     | 3     | 4     |
|                                   | ..... CANTIDAD (kg como es) .....              |       |       |       |                                 |       |       |       |
| Alfalfa en pellets                | --   | --    | --    | --    | 18.9                            | 17.0  | 18.8  | 16.0  |
| Maíz en grano                     | 35.0   | 30.0  | 50.0  | 50.0  | 24.0                            | 22.0  | --    | 15.0  |
| Maíz (grano + mlarlo)             | --   | --    | --    | --    | --                              | 22.0  | 35.0  | 10.0  |
| Avena                             | 35.0   | 13.0  | --    | --    | 35.0                            | --    | 22.0  | 10.0  |
| Germen de trigo                   | --   | 10.0  | 10.0  | --    | --                              | --    | --    | --    |
| Pulpa de remolacha                | --   | --    | --    | --    | --                              | 15.0  | --    | 10.0  |
| Gluten de maíz                    | --   | --    | --    | 20.0  | --                              | --    | --    | 10.0  |
| Granos de destilería              | --   | --    | 10.0  | --    | --                              | --    | --    | 10.0  |
| Linaza                            | --   | 10.0  | 10.0  | 10.0  | --                              | --    | --    | --    |
| Suplemento con 44% PC             | 22.7   | 10.0  | 12.8  | 12.9  | 15.0                            | 17.0  | 17.0  | 12.0  |
| Suero deshidratado                | --   | 10.0  | --    | --    | --                              | --    | --    | --    |
| Melaza                            | 5.0  | 5.0   | 5.0   | 5.0   | 5.0                             | 5.0   | 5.0   | 5.0   |
| Minerales, 23% Ca y 18% P         | 0.6  | --    | --    | --    | 1.1                             | 1.2   | 1.2   | 1.0   |
| Piedra caliza o CaCO <sub>3</sub> | 1.4  | 1.7   | 1.9   | 1.8   | 0.7                             | 0.5   | 0.7   | 0.7   |
| Premezcla de minerales traza      | 0.25   | 0.25  | 0.25  | 0.25  | 0.3                             | 0.3   | 0.3   | 0.3   |
| Total                             | 100.0  | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0                           | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| <b>NUTRIENTES</b>                 | ..... COMPOSICION (Base de materia seca) ..... |       |       |       |                                 |       |       |       |
| Energía                           |  |       |       |       |                                 |       |       |       |
| TND <sup>3</sup> , %              | 80.3   | 79.5  | 81.8  | 82.7  | 75.6                            | 76.1  | 75.1  | 77.4  |
| Energía neta de mant., Mcal/kg    | 1.96   | 1.94  | 2.00  | 2.02  | 1.80                            | 1.83  | 1.80  | 1.87  |
| Energía neta de crec., Mcal/kg    | 1.32   | 1.30  | 1.36  | 1.39  | 1.19                            | 1.21  | 1.19  | 1.23  |
| Proteína cruda, %                 | 19.9   | 19.6  | 20.2  | 20.7  | 18.4                            | 18.5  | 18.5  | 19.4  |
| Fibra ácido detergente, %         | 8.6  | 8.3   | 7.6   | 6.7   | 14.2                            | 16.6  | 15.4  | 16.1  |
| Fibra neutro detergente, %        | 18.0   | 20.4  | 18.6  | 17.6  | 24.3                            | 27.6  | 26.2  | 30.1  |
| Calcio, %                         | 0.89   | 0.95  | 0.94  | 0.95  | 0.82                            | 0.84  | 0.85  | 0.85  |
| Fósforo, %                        | 0.51   | 0.59  | 0.52  | 0.51  | 0.51                            | 0.51  | 0.52  | 0.52  |
| Minerales traza, %                | 0.28   | 0.28  | 0.28  | 0.28  | 0.34                            | 0.34  | 0.34  | 0.34  |

<sup>1</sup> Iniciador a base de granos debe ser mezclado con forraje y heno de buena calidad. <sup>2</sup> Un alimento iniciador completo puede ser proporcionado sin adicionar fibra a la dieta ya que éste posee altos niveles de fibra. <sup>3</sup> TND= Nutrientes Digestibles Totales = % de proteína cruda digestible + % de fibra cruda digestible + % de extracto libre de nitrógeno digestible + (2.25 x % de extracto etéreo digestible) Fuente: Wattiaux (2015).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación y duración

Este estudio se realizó en la hacienda San Pedro, ubicado en Ciudad Arce a 47 km de San Salvador, al oeste del departamento de La Libertad, con una altitud de 460 m.s.n.m. y coordenadas geográficas de 13°45'25" N 89°21'14" W (Figura 12), posee una temperatura promedio de 21.0- 33.0°C y humedad relativa de 78.08% en promedio (SNET, 2007).

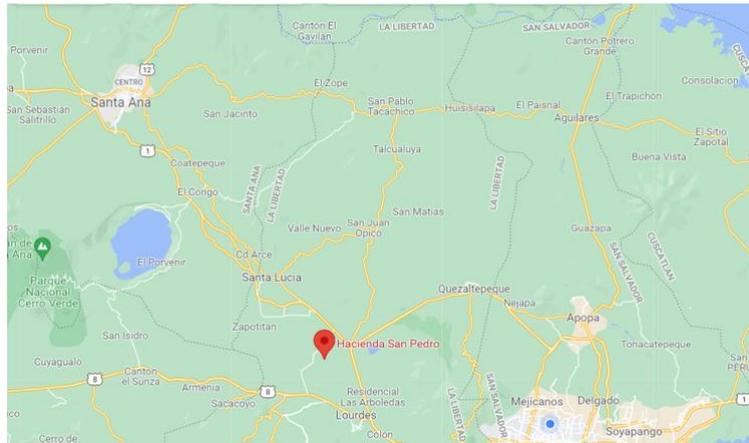


Figura 12. Ubicación geográfica de Ciudad Arce.



Figura 13. Instalaciones de Hacienda San Pedro. A) Área terneras de reemplazo. B) Novillas en gestación. C) Vacas en ordeño.

La propiedad es de fácil acceso y cuenta con un número igual o superior a 200 animales en un sistema de producción intensivo con un manejo estabulado (Figura 13), utilizan el programa VAMPP Bovino para llevar el registro productivo, reproductivo y sanitario del hato.

### 3.2. Descripción del estudio

El estudio tuvo un periodo de diecinueve semanas en su fase de campo dando inicio en el mes de abril de 2019 y finalizando en el mes de septiembre de 2019. Tras la declaración de pandemia a causa del brote y propagación mundial del SARS-CoV-2 en marzo de 2020, el estudio se retomó

continuando con su fase de laboratorio a partir de noviembre de 2020 hasta octubre de 2021. En la investigación se evaluó el efecto que posee la alimentación con concentrados para fase de pre inicio sobre el desarrollo del tejido ruminal en terneros lactantes. Se utilizaron tres diferentes marcas comerciales de alimentos pre iniciadores para terneros y un sustituto de leche, su composición nutricional se describe a continuación en los Cuadros 6 y 7:

**Cuadro 6. Composición nutricional de concentrados en estudio.**

| CONSTITUYENTE | CONCENTRADO CONTROL (A) | CONCENTRADO B | CONCENTRADO C |
|---------------|-------------------------|---------------|---------------|
| Proteína      | 21%                     | 20%           | 21 %          |
| Grasa         | 4.0%                    | 3.5%          | 4.8 %         |
| Fibra         | 6%                      | 7%            | 3%            |
| Humedad       | 12%                     | 14%           | 11%           |
| Ceniza        | 5.0%                    | 6.5%          | 5.50%         |
| Calcio        | 0.80%                   | 0.95%         | 0.80%         |
| Fósforo       | 0.55%                   | 0.5%          | 0.47%         |
| Sal           | 0.5%                    | 0.75%         | 0.5%          |

**Cuadro 7. Composición nutricional de sustituto de leche.**

| Proteína bruta<br>%    | Ceniza bruta<br>%       | Humedad<br>%         | Aceites y grasas<br>brutas<br>% | Fibra bruta<br>% |
|------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------------------|------------------|
| 22.0                   | 7.5                     | < 5.0                | 20.0                            | 0.30             |
| Aditivos               |                         |                      |                                 |                  |
| Vitamina A<br>U.I / kg | Vitamina D3<br>U.I / kg | Vitamina C<br>mg/ kg | Vitamina E<br>mg/ kg            | Cobre<br>mg/ kg  |
| 50.000                 | 10.000                  | 300                  | 60                              | 7                |

### 3.3. Metodología de campo

#### Selección de las unidades experimentales:

Los animales se agregaron al experimento a medida iban naciendo. Tras su nacimiento, cada ternero fue separado de la vaca, su ombligo fue curado con yodo, se tomó el peso al nacimiento y posteriormente fue alimentado con calostro y alojado en su jaula individual en el área de terneras en donde finalmente se asignaba al azar a uno de los tratamientos que conformaron el estudio (CONTROL A, B o C), tomando en cuenta 9 hembras y 3 machos por tratamiento.

En la fase de campo se proporcionaron 3 concentrados comerciales (CONTROL A, B, C) a 36 terneros de la raza Jersey y cruce F1, 12 terneros asignados para cada grupo (un grupo para cada tipo de concentrado). El estudio se realizó con 63.8% raza Jersey y 36.2% cruce F1, 9 hembras y 3 machos recién nacidos por grupo.

Cada uno de ellos fue alojado en jaulas individuales en una zona de la hacienda designada únicamente para terneros en fase de pre destete, en terreno plano y de tierra. La alimentación líquida empezó desde el nacimiento, el ternero fue apartado de la vaca y se alimentó con calostro en biberón dentro de las primeras 3 horas de vida. El segundo día se alimentó con leche de transición y el tercero con sustituto de leche, 2 veces al día en horario de 5:00 hrs y 17:00 hrs, suministrado al 8% del peso vivo; la dieta sólida se ofreció a partir del tercer o cuarto día de vida del ternero, siendo concentrado pre iniciador y agua ad libitum, el agua es ofrecida ad libitum desde el primer día, ambos en cubetas. Cada ternera fue identificada con un arete amarillo en su oreja izquierda, con código y fecha de nacimiento.



Figura 14. A) Área de terneras. B) Ternera recién nacida en su jaula.

Se evaluó de forma visual el color, tamaño de cada concentrado pre iniciador peletizado ofrecido a los terneros; se realizaron las mediciones de los parámetros de ganancia de peso en kg con báscula y arnés, altura a la cruz (cm) y altura a la cadera (cm) con cinta métrica, todo esto semanalmente, durante 60 días; para su evaluación ruminal, se realizó eutanasia solamente a los 9 terneros machos al cumplir 60 días de edad.

### 3.3.1. Toma de muestra

El procedimiento utilizado para medir el desarrollo ruminal fue el establecido por Lesmeister *et al.* (2004, 2010) tal como se muestra en la Figura 15, donde el retículo-rumen se abrió en un plano más o menos simétrico a la derecha e izquierda, separadas por una porción del rumen que se mantuvo intacta. Posteriormente, para el muestreo de las papilas, el rumen se separó 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 craneo-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 caudo-ventral.

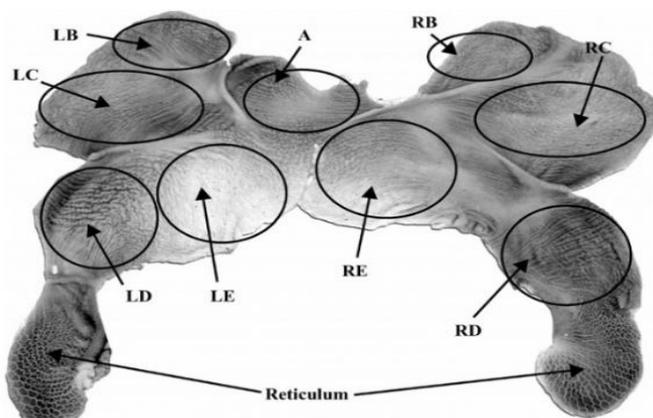


Figura 15. Ejemplo de un rumen abierto procedimentalmente que representa las áreas físicas del rumen muestreadas y las etiquetas correspondientes. (A) porción caudal del saco ciego ventral caudal; (RB) lado derecho y (LB) saco dorsal caudal del lado izquierdo; (RC) lado derecho y (LC) lado izquierdo del saco dorsal craneal; (RD) lado derecho y (LD) lado izquierdo del saco ventral craneal; y (RE) lado derecho y (LE) parte ventral del lado izquierdo del saco ciego ventral caudal. Fuente: (Lesmeister et al. 2010).

Se tomaron 3 muestras de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de tejido de cada una de las cinco zonas por ternero (15 muestras por rumen). Estas fueron fijadas en solución de formaldehído diluido al 10% para las mediciones posteriores.

### 3.4. Metodología de laboratorio

Se evaluaron los parámetros de longitud, ancho, color y morfología con ayuda de estereoscopio y microscopio, las mediciones computarizadas fueron realizadas utilizando el software ScopePhoto® versión 2010; todo esto en el periodo noviembre de 2020 a octubre de 2021. Se realizaron los análisis bromatológicos a los concentrados ofrecidos para evaluar su composición nutricional, en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

El análisis histológico de las muestras de tejido ruminal fue realizado en el laboratorio de CENSALUD. Dicho análisis fue adaptado al Protocolo Estandarizado de cortes histológicos de órganos en ratón de laboratorio, implementado en el Laboratorio de Patología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador (CENSALUD) (Cornejo, 2018).

#### 3.4.1. Procesamiento histológico

Para la evaluación histológica se obtuvieron muestras de rumen, evaluándose la longitud y el ancho de las papilas y el espesor del epitelio (mm). De las 36 unidades de muestreo en este estudio (27 terneras y 9 terneros), se sacrificaron solamente los machos (9 en total) en la Hacienda San Pedro, y se recolectaron los tractos digestivos. Después de extraer el contenido del tracto digestivo, se tomaron las muestras para el examen histológico de diferentes partes del rumen, incluidas las

porciones caudal y ventral del saco ciego ventrocaudal, las partes craneal y caudal del saco dorsal y la parte craneal del saco ventral (Lesmeister *et al.* 2010).

Las muestras se limpiaron con agua desmineralizada y se fijaron en formaldehído al 10% y fueron procesadas con técnicas histológicas de rutina. Los cortes obtenidos fueron coloreados con hematoxilina y eosina. Para el análisis descriptivo de los cortes se utilizó un microscopio con ocular graduado y objetivo 4x.

Para la obtención de láminas para su observación y análisis histológico, se realizaron una serie de pasos para obtener muestras de tejido útiles; los cuales se detallan en los anexos.

### 3. 5. Metodología Estadística

Las variables han sido evaluadas con un Diseño Factorial 3x2 (3 dietas, 2 razas o encastes). En la fase de campo se usaron 6 tratamientos, cada animal representa una unidad experimental, teniendo un total de 36 UE, 27 hembras y 9 machos; en un periodo de 8 semanas. En la fase de laboratorio, se emplearon las variables de longitud de papilas y ancho de papilas junto con la diferenciación del desarrollo morfológico papilar entre tratamientos. Las diferencias se consideraron significativas a una probabilidad mayor o igual al  $\alpha \geq 0,05$ . Se utilizó el programa estadístico SPSS.

Las observaciones pueden describirse con el modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varrho_{ijk}$$

$$i = 1, \dots, a; j = 1, \dots, b; k = 1, \dots, n$$

Donde:

$\mu$  = efecto promedio global

$\tau_i$  = efecto del i-ésimo nivel del factor A

$\beta_j$  = efecto del j-ésimo nivel del factor B

$\gamma_{ij}$  = es el efecto de la interacción entre A y B

$\varrho_{ijk}$  = componente del error aleatorio que tiene una distribución normal con media cero y varianza.

Las hipótesis que se prueban son:

$$H01: \gamma_{ij} = 0 \forall i, j$$

$$H02: \tau_i + \bar{Y}_{i.} = 0 \forall i$$

$$H03: \beta_j + \bar{Y}_{.j} = 0 \forall j$$

#### 3.5.1. Factores y parámetros a evaluar en la medición de campo:

Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente manera:

T1 = Concentrado comercial A + Leche de fórmula x Raza 1

T2 = Concentrado comercial A + Leche de fórmula x Cruce 1

T3 = Concentrado comercial B + Leche de fórmula x Raza 1  
T4 = Concentrado comercial B + Leche de fórmula x Cruce 1  
T5 = Concentrado comercial C + Leche de fórmula x Raza 1  
T6 = Concentrado comercial C + Leche de fórmula x Cruce 1

### **3.5.2. Parámetros evaluados**

Terneros raza Jersey y cruce F1 Holstein x Jersey:

Raza 1: Jersey y 3 dietas, Cruce 1: F1 Holstein x Jersey y 3 dietas.

### **3.5.3. Factores en estudio**

Ganancia de peso (kg), altura a la cruz (cm), altura a la cadera (cm)

### **3.5.4. Factores y parámetros evaluados en la medición de laboratorio:**

#### **3.5.4.1. Factores de estudio**

(Análisis macroscópico y microscópico de muestras de) papilas ruminales de las diferentes partes del rumen:

- (A) porción caudal del saco ciego ventral caudal
- (RC) lado derecho del saco dorsal craneal
- (LC) lado izquierdo del saco dorsal craneal
- (RE) parte ventral del lado derecho del saco ciego ventral caudal
- (LE) parte ventral del lado izquierdo del saco ciego ventral caudal

#### **3.5.4.2. Parámetros evaluados (variables en estudio)**

- Ancho de papila (mm)
- Largo de papila (mm)
- Diferenciación celular de papilas ruminales

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Comparaciones de ganancia de peso (kg), altura de cruz y cadera inicial y final según tratamiento, composición racial y sexo del animal (Cuadros 8, 9, 10, 11).

**Cuadro 8. Promedios de ganancia de peso por tratamiento.**

| VARIABLE                         | TRATAMIENTO          | MUESTRA | PROMEDIO (kg) |
|----------------------------------|----------------------|---------|---------------|
| Peso tiempo 1<br>(peso al nacer) | Grupo Control        | 12      | 25.08         |
|                                  | Grupo Experimental A | 12      | 24.36         |
|                                  | Grupo Experimental B | 12      | 26.09         |
|                                  | Total                | 36      | 25.18         |
| Peso tiempo 2<br>(peso 7 días)   | Grupo Control        | 12      | 25.43         |
|                                  | Grupo Experimental A | 12      | 25.45         |
|                                  | Grupo Experimental B | 12      | 27.57         |
|                                  | Total                | 36      | 26.15         |
| Peso tiempo 3<br>(peso 60 días)  | Grupo Control        | 12      | 39.88         |
|                                  | Grupo Experimental A | 12      | 40.50         |
|                                  | Grupo Experimental B | 12      | 40.75         |
|                                  | Total                | 36      | 40.38         |

**Cuadro 9. Promedios de altura de cruz por tratamiento.**

| VARIABLE                                   | TRATAMIENTO          | MUESTRA | PROMEDIO (cm) |
|--|----------------------|---------|---------------|
| Altura de cruz tiempo 1<br>(peso al nacer) | Grupo Control A      | 12      | 69.01         |
|  | Grupo Experimental B | 12      | 68.53         |
|  | Grupo Experimental C | 12      | 69.55         |
|  | Total                | 36      | 69.03         |
| Altura de cruz tiempo 2<br>(peso 7 días)   | Grupo Control A      | 12      | 68.45         |
|  | Grupo Experimental B | 12      | 69.82         |
|  | Grupo Experimental C | 12      | 70.71         |
|  | Total                | 36      | 69.66         |
| Altura de Cruz tiempo 3 (60 días)          | Grupo Control A      | 12      | 75.64         |
|  | Grupo Experimental B | 12      | 77.23         |
|  | Grupo Experimental C | 12      | 77.00         |
|  | Total                | 36      | 76.62         |

**Cuadro 10. Promedios de altura de cadera por tratamiento.**

| VARIABLE                                | TRATAMIENTO          | MUESTRA | PROMEDIO<br>(cm) |
|---|----------------------|---------|------------------|
| Altura de cadera tiempo 1<br>(al nacer) | Grupo Control A      | 12      | 71.78            |
|   | Grupo Experimental B | 12      | 71.45            |
|   | Grupo Experimental C | 12      | 72.20            |
|   | Total                | 36      | 71.81            |
| Altura de cadera tiempo 2<br>(7 días)   | Grupo Control A      | 12      | 71.22            |
|   | Grupo Experimental B | 12      | 72.48            |
|   | Grupo Experimental C | 12      | 73.35            |
|   | Total                | 36      | 72.35            |
| Altura de cadera tiempo 3<br>(60 días)  | Grupo Control A      | 12      | 78.31            |
|   | Grupo Experimental B | 12      | 79.45            |
|   | Grupo Experimental C | 12      | 79.27            |
|   | Total                | 36      | 79.01            |

**Cuadro 11. Estadísticos descriptivos de peso, altura de cruz y cadera inicial y final.**

|                      | Peso<br>(kg)<br>tiempo<br>1 | Peso<br>(kg)<br>tiempo<br>2 | Peso<br>(kg)<br>tiempo<br>3 | Altura de<br>cruz (cm)<br>tiempo 1 | Altura de<br>cruz (cm)<br>tiempo 2 | Altura de<br>cruz (cm)<br>tiempo 3 | Altura de<br>cadera<br>(cm)<br>tiempo 1 | Altura de<br>cadera<br>(cm)<br>tiempo 2 | Altura de<br>cadera<br>(cm)<br>tiempo 3 |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|---|---|
| Promedio             | 25.18                       | 26.15                       | 40.38                       | 69.03                              | 69.66                              | 76.62                              | 71.81                                   | 72.35                                   | 79.01                                   |
| Desviación<br>típica | 5.10                        | 4.85                        | 5.79                        | 3.38                               | 3.65                               | 3.27                               | 3.38                                    | 3.91                                    | 3.66                                    |

\*Correspondiendo "Peso tiempo 1" como peso al nacer, "Peso tiempo 2" como peso en la primera semana del tratamiento, y "Peso tiempo 3" peso final en la octava semana de tratamiento; asimismo para altura de cadera y de cruz.

#### 4.2. Comparaciones por sexo

1. El valor de la prueba  $t$  de Student para muestras independientes en el tiempo 1 (peso al nacer) fue de  $t(34) = -1.115$ ,  $p = 0.273$ . Al mismo tiempo, el valor de la prueba  $t$  de Student para muestras independientes en el tiempo 2 (7 días) fue de  $t(34) = -1.428$ ,  $p = 0.110$ .

En virtud del resultado obtenido se establece que no hay diferencias estadísticamente significativas en el peso de los animales en el tiempo 1 (peso al nacer) y tiempo 2 (7 días).

2. El valor de la prueba  $t$  de Student para muestras independientes en el tiempo 3 (60 días) fue de  $t(34) = -1.176$ ,  $p = 0.013$ .

En virtud del resultado obtenido se puede establecer que sí hay diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras en el tiempo 3. Siendo los machos los que presentan mayor peso.

#### **4.3. Resultados ANOVA para ganancia de peso, altura de cruz y cadera**

Se corrió la prueba ANOVA Unifactorial Intersujetos para las variables peso al nacer (1), peso en tiempo 2 (7 días), tiempo 3 (60 días), altura de cruz al nacer, y tiempo 1 y 2; y altura de cadera al nacer y en tiempo 1 y 2. Esta prueba mide la diferencia del efecto del tratamiento (alimentación) en el grupo experimental A y B, comparándolos entre sí y con el grupo control.

En este sentido, se encontró que estadísticamente no hay diferencias significativas entre ninguno de los tiempos en estudio y las variables de peso, altura de cruz y cadera.

Estudios como el de Coverdale (2004) y Castro & Elizondo (2014) evidencian que la alimentación y su presentación no son un factor determinante sobre la variable ganancia de peso, correspondiente a un factor netamente de composición racial. Para altura de cruz y cadera los mismos estudios de Castro & Elizondo (2014) al igual que en el realizado por Khan *et al.* (2011), no presentaron diferencias significativas en altura de cruz y de cadera.

#### **4.4. Efecto interactivo entre composición racial y grupo de tratamiento en peso, altura de cruz y cadera.**

De acuerdo a la prueba ANOVA con diseño 3X2 (tres grupos por dos valores en composición racial) se analizaron los efectos interactivos y por separado de la composición racial y los grupos experimentales B, C y el grupo control A.

En ese sentido, los valores de la prueba indican que la composición racial es un factor que muestra diferencias estadísticamente significativas en los valores finales (60 días) en las medidas de peso, altura de cruz y cadera en todos los grupos ( $p < 0.05$ ) así como se ha documentado anteriormente por Swanson *et al.* (1958) en donde en su estudio se observó que debido a la composición racial de los animales hay variación en los pesos "...los pesos se alcanzaron a una edad promedio de 50,2 días para Jersey y 43,6 días para Holstein..". Sin embargo, no se encontraron diferencias en las medidas según el tratamiento aplicado en los grupos B y C versus el grupo control A ( $p > 0.05$ ). Los valores completos de las pruebas se muestran en el Cuadro 12.

**Cuadro 12. Efecto interactivo entre grupos A, B y C para peso, altura de cruz y cadera.**

| Origen                          | Variable dependiente         | Tipo III de<br>suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F      | Sig.  | Eta parcial<br>al cuadrado |
|---------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|----|---------------------|--------|-------|----------------------------|
| Comparación por<br>raza         | Peso tiempo 3                | 366.566                             | 1  | 366.566             | 14.265 | 0.001 | 0.322                      |
|                                 | Altura de cruz<br>tiempo 3   | 123.597                             | 1  | 123.597             | 15.948 | 0.000 | 0.347                      |
|                                 | Altura de cadera<br>tiempo 3 | 173.493                             | 1  | 173.493             | 18.293 | 0.000 | 0.379                      |
| Comparaciones<br>por grupo      | Peso tiempo 3                | 15.478                              | 2  | 7.739               | 0.301  | 0.742 | 0.020                      |
|                                 | Altura de Cruz<br>tiempo 3   | 9.438                               | 2  | 4.719               | 0.609  | 0.551 | 0.039                      |
|                                 | Altura de cadera<br>tiempo 3 | 3.424                               | 2  | 1.712               | 0.181  | 0.836 | 0.012                      |
| Interacción<br>raza<br>vs grupo | Peso tiempo 3                | 41.820                              | 2  | 20.910              | 0.814  | 0.453 | 0.051                      |
|                                 | Altura de Cruz<br>tiempo 3   | 3.581                               | 2  | 1.791               | 0.231  | 0.795 | 0.015                      |
|                                 | Altura de cadera<br>tiempo 3 | 3.783                               | 2  | 1.891               | .199   | .820  | .013                       |

Tal como se observa en el Cuadro 11, la composición racial es un predictor de las diferencias de tamaño en los animales cruce F1 y raza Jersey, siendo los primeros más grandes en el peso, altura de cruz y cadera al final del tiempo de experimentación (56 días). El peso corporal va incrementando con la edad, con esto, se observó que la alimentación no tuvo un efecto que generara variación en las variables dependientes de ganancia de peso, altura de cruz y cadera.

#### 4.5. Desarrollo ruminal

##### 4.5.1. ANOVA para efecto de tratamiento sobre desarrollo de papilas ruminales

A continuación, se presentan los resultados de la prueba ANOVA Unifactorial Intersujetos, para las variables de altura y ancho de papilas ruminales. Esta prueba mide la diferencia del efecto del tratamiento (alimentación) en el grupo experimental A y B, comparándolos entre sí y con el grupo control (ver Cuadro A.1. en Anexos).

En este sentido, se encontró el siguiente resultado:

La longitud papilar en **zona A** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 1.51$ ,  $p = 0.509$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.78$ ,  $DT = 0.146$ ; Grupo A  $X = 0.85$ ,  $DT = 0.10$ ; Grupo B = 0.91,  $DT = 0.11$ ).

La longitud papilar en **zona RE** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 1.38$ ,  $p = 0.28$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.73$ ,  $DT = 0.14$ ; Grupo A  $X = 0.72$ ,  $DT = 0.03$ ; Grupo B = 0.89,  $DT = 0.25$ )

La longitud papilar en **zona LE** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 0.71$ ,  $p = 0.43$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.80$ ,  $DT = 0.23$ ; Grupo A  $X = 0.89$ ,  $DT = 0.01$ ; Grupo B = 0.97,  $DT = 0.36$ )

La longitud papilar en **zona RC** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 0.68$ ,  $p = 0.53$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.46$ ,  $DT = 0.23$ ; Grupo A  $X = 0.37$ ,  $DT = 0.15$ ; Grupo B = 0.53,  $DT = 0.89$ )

La longitud papilar en **zona LC** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 2.36$ ,  $p = 0.17$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.34$ ,  $DT = 0.15$ ; Grupo A  $X = 0.65$ ,  $DT = 0.25$ ; Grupo B = 0.52,  $DT = 0.73$ ).

Asimismo, el **ancho** de las papilas ruminales en **zona A** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 0.59$ ,  $p = 0.46$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.33$ ,  $DT = 0.08$ ; Grupo A  $X = 0.43$ ,  $DT = 0.13$ ; Grupo B = 0.41,  $DT = 0.14$ ).

El **ancho** de las papilas ruminales en **zona RE** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 1.17$ ,  $p = 0.31$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.32$ ,  $DT = 0.05$ ; Grupo A  $X = 0.42$ ,  $DT = 0.01$ ; Grupo B = 0.40,  $DT = 0.15$ ).

El **ancho** de las papilas ruminales en **zona LE** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 0.26$ ,  $p = 0.62$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.38$ ,  $DT = 0.20$ ; Grupo A  $X = 0.41$ ,  $DT = 0.02$ ; Grupo B = 0.44,  $DT = 0.14$ ).

El **ancho** de las papilas ruminales en **zona RC** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 0.05$ ,  $p = 0.81$ . En virtud de que el valor  $p$  es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.26$ ,  $DT = 0.07$ ; Grupo A  $X = 0.27$ ,  $DT = 0.01$ ; Grupo B = 0.27,  $DT = 0.06$ ).

Así mismo, el **ancho** de las papilas ruminales en **zona LC** no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio:  $F(2) = 1.42$ ,  $p = 0.27$ . En virtud de que el valor p es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. (Grupo Control  $X = 0.23$ ,  $DT = 0.09$ ; Grupo A  $X = 0.35$ ,  $DT = 0.07$ ; Grupo B  $X = 0.31$ ,  $DT = 0.08$ ).

Estudios realizados en Costa Rica (Castro, 2014) se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a longitud de papilas, (considerada la variable más representativa para determinar diferencias entre tratamientos) pero con la variante en la presentación física de las dietas ofrecidas a los terneros en ese estudio, “ *los animales que consumieron el alimento extrusado presentaron una menor longitud de las papilas y un menor grosor de la pared ruminal, al compararse con aquellos que consumieron el alimento en harina*”; con lo cual se puede evidenciar que, a diferencia de este estudio en donde los preiniciadores tuvieron la misma presentación de peletizado, aun siendo de diferentes casas comerciales, la presentación es un factor determinante.

En otros estudios realizados en Estados Unidos (Beharka et al, 1998), se evaluaron dietas que contenían el mismo valor nutricional pero eran diferentes en su forma física, evidenciando que “... *la alteración de la forma física del alimento puede tener una influencia sustancial en la función ruminal, digestibilidad y consumo*...”. La forma física de los alimentos en estudio es igual en todos los tratamientos, otro factor a considerar que posiblemente influyó en no evidenciar diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo de papilas ruminales en este estudio.

#### 4.5.2. Comparación de desarrollo ruminal por composición racial

El valor de la prueba t de Student para muestras independientes en todas las zonas de medida (A, RC, LC, RE y LE) fue  $p > 0.05$ , por lo que no se evidencian diferencias estadísticamente significativas según la composición racial de los animales. Para mayor detalle, en el Cuadro 13 se presentan los valores de las pruebas t con sus valores correspondientes.

**Cuadro 13. Resultados prueba t de Student para longitud y ancho de papilas ruminales.**

|                              |                                | F     | Sig.  | t      | gl    | Sig.<br>(bilateral) |
|------------------------------|--------------------------------|-------|-------|--------|-------|---------------------|
| Promedio de Longitud Zona A  | Se asumen varianzas iguales    | 0.361 | 0.567 | -0.832 | 7     | 0.433               |
|                              | No se asumen varianzas iguales |       |       | -.733  | 3.069 | 0.515               |
| Promedio de Ancho Zona A     | Se asumen varianzas iguales    | 1.281 | 0.295 | -1.003 | 7     | 0.349               |
|                              | No se asumen varianzas iguales |       |       | -1.163 | 6.046 | 0.289               |
| Promedio de Longitud Zona RE | Se asumen varianzas iguales    | 0.704 | 0.429 | 0.673  | 7     | 0.523               |
|                              | No se asumen varianzas iguales |       |       | 0.583  | 2.970 | 0.601               |
| Promedio de Ancho Zona RE    | Se asumen varianzas iguales    | 0.023 | 0.883 | -0.816 | 7     | 0.441               |
|                              | No se asumen varianzas iguales |       |       | -0.842 | 4.446 | 0.442               |
|                              | Se asumen varianzas iguales    | 0.174 | 0.689 | -0.596 | 7     | 0.570               |

|           |                              |                                |        |       |        |       |       |
|-----------|------------------------------|--------------------------------|--------|-------|--------|-------|-------|
| No<br>fue | Promedio de Longitud Zona LE | No se asumen varianzas iguales |        |       | -0.558 | 3.493 | 0.611 |
|           | Promedio de Ancho Zona LE    | Se asumen varianzas iguales    | 0.487  | 0.508 | -0.855 | 7     | 0.421 |
|           |                              | No se asumen varianzas iguales |        |       | -0.742 | 2.976 | 0.512 |
|           | Promedio de Longitud Zona RC | Se asumen varianzas iguales    | 5.154  | 0.057 | 0.896  | 7     | 0.400 |
|           |                              | No se asumen varianzas iguales |        |       | 0.683  | 2.398 | 0.555 |
|           | Promedio de Ancho Zona RC    | Se asumen varianzas iguales    | 12.432 | 0.010 | 0.619  | 7     | 0.556 |
|           |                              | No se asumen varianzas iguales |        |       | 0.431  | 2.140 | 0.706 |
|           | Promedio de Longitud Zona LC | Se asumen varianzas iguales    | 0.010  | 0.924 | -1.207 | 7     | 0.267 |
|           |                              | No se asumen varianzas iguales |        |       | -1.140 | 3.559 | 0.325 |
|           | Promedio de Ancho Zona LC    | Se asumen varianzas iguales    | 3.377  | 0.109 | -0.971 | 7     | 0.364 |
|           |                              | No se asumen varianzas iguales |        |       | -0.758 | 2.483 | 0.514 |

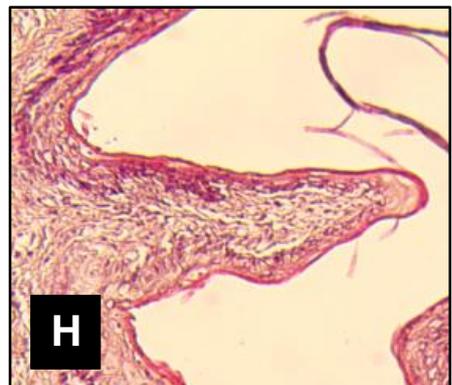
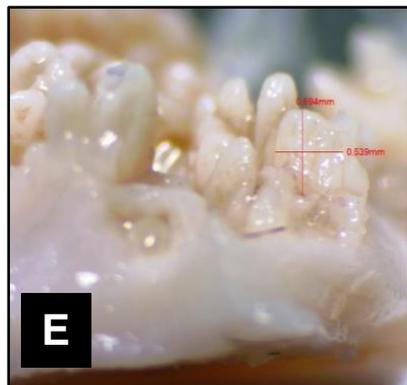
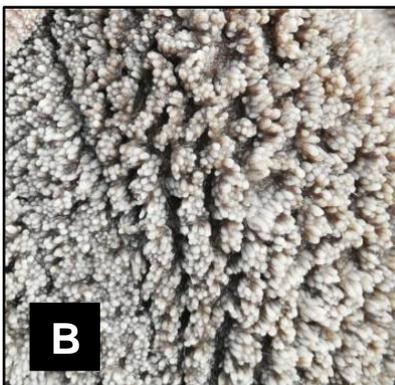
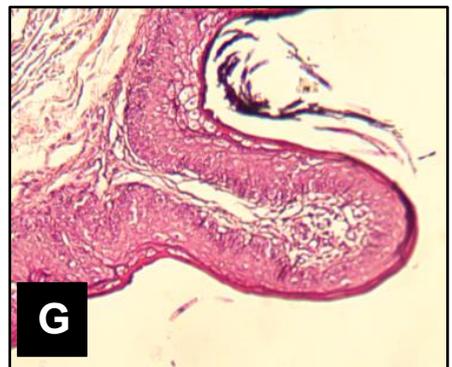
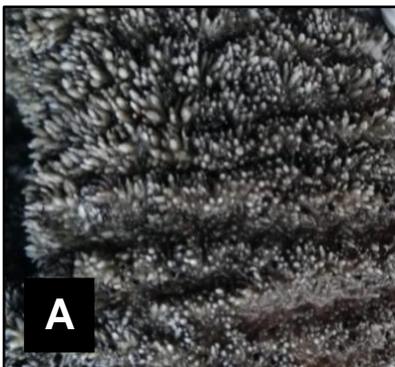
posible analizar de forma estadística el efecto interactivo entre la composición racial, a causa de una población muy pequeña, sin embargo, se puede describir en el Cuadro 14:

**Cuadro 14. Estadísticos descriptivos**

|                              | Raza   | N | Media (mm) | Desv. Desviación | Desv. Error promedio |
|------------------------------|--------|---|------------|------------------|----------------------|
| Promedio de Longitud Zona A  | Jersey | 3 | 0.80       | 0.15             | 0.086                |
|                              | F1     | 6 | 0.87       | 0.10             | 0.043                |
| Promedio de Ancho Zona A     | Jersey | 3 | 0.33       | 0.08             | 0.048                |
|                              | F1     | 6 | 0.42       | 0.12             | 0.052                |
| Promedio de Longitud Zona RE | Jersey | 3 | 0.83       | 0.22             | 0.131                |
|                              | F1     | 6 | 0.75       | 0.15             | 0.063                |
| Promedio de Ancho Zona RE    | Jersey | 3 | 0.34       | 0.09             | 0.053                |
|                              | F1     | 6 | 0.40       | 0.10             | 0.041                |
| Promedio de Longitud Zona LE | Jersey | 3 | 0.82       | 0.26             | 0.153                |
|                              | F1     | 6 | 0.92       | 0.22             | 0.091                |

|                      |        |   |      |      |       |
|----------------------|--------|---|------|------|-------|
| Promedio de Ancho    | Jersey | 3 | 0.36 | 0.16 | 0.096 |
| Zona LE              | F1     | 6 | 0.44 | 0.11 | 0.046 |
| Promedio de Longitud | Jersey | 3 | 0.52 | 0.25 | 0.145 |
| Zona RC              | F1     | 6 | 0.42 | 0.11 | 0.045 |
| Promedio de Ancho    | Jersey | 3 | 0.28 | 0.08 | 0.051 |
| Zona RC              | F1     | 6 | 0.26 | 0.02 | 0.009 |
| Promedio de Long     | Jersey | 3 | 0.39 | 0.21 | 0.125 |
| Zona LC              | F1     | 6 | 0.56 | 0.18 | 0.076 |
| Promedio de Ancho    | Jersey | 3 | 0.26 | 0.13 | 0.077 |
| Zona LC              | F1     | 6 | 0.32 | 0.06 | 0.026 |

#### 4.5.3. Diferencias morfológicas del epitelio ruminal según su tratamiento.



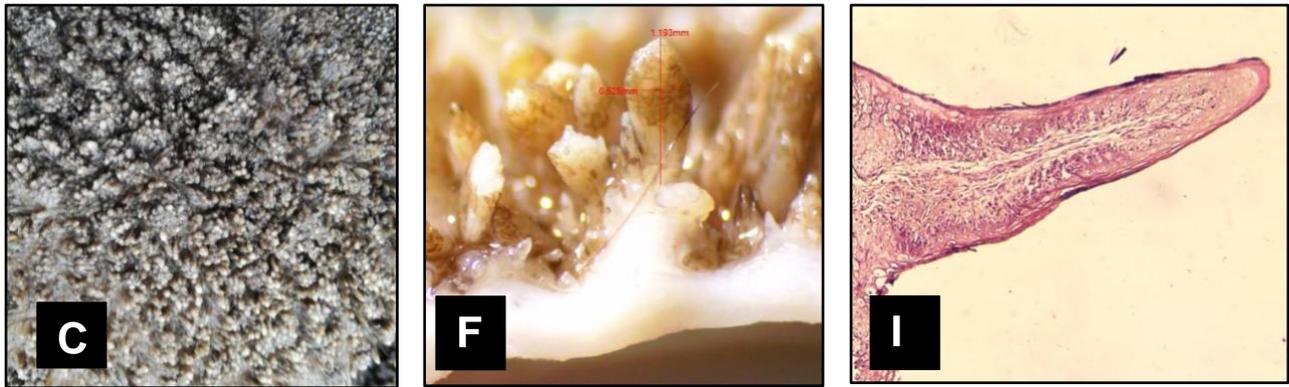


Figura 16. Adaptaciones físicas a la superficie luminal del epitelio ruminal expuestos a los diferentes tratamientos: tratamiento control A (A/ D/ G), concentrado comercial B (B/ E/ H) , concentrado comercial C (C/ F/ I).; a los 60 días de edad en terneros machos.

En cuanto a las adaptaciones físicas del epitelio ruminal (Figura 16), tomando en cuenta las características de diferenciación y desarrollo de las papilas, según (Heinrichs, 2005) “ *la coloración oscura es considerada saludable y está asociada con una alimentación adecuada de los terneros a base de leche, granos y heno* “.

En este experimento, los terneros alimentados con el tratamiento control A y tratamiento con concentrado comercial C, presentaron estas adaptaciones físicas en el epitelio ruminal.

Para tratamiento control A: El estrato córneo y granuloso presentan mayor grosor, según (Baldwin & Connor, 2017) esto puede estar asociado a varios factores como un pH más ácido, alta concentración de AGVs debido a más actividad de la microbiota en el lumen, o un ambiente más “abrasivo” que estimula la cornificación. En cuanto al estrato basal, es considerado el más importante debido a que es ahí donde sucede la absorción de nutrientes y en este experimento se puede evidenciar bastante desarrollada. El estrato espinoso muestra relativamente menos capas.

Para tratamiento con concentrado B: se evidencia que tanto el estrato córneo como el granuloso presentan menos capas y los estratos espinoso y basal están altamente desarrollados, pero sin un orden normal en cada uno de los estratos (sin diferenciación aparente). Pudiéndose indagar en que en el lumen hubo menor interacción microbiana y por consiguiente baja concentración de AGVs y subsecuentemente la necesidad de poder captar cualquier mínima cantidad de estos para su metabolismo.

Para tratamiento con concentrado C: El estrato córneo y granuloso muestran pocas capas. Tanto el estrato espinoso como el basal se ven altamente desarrollados y su diferenciación es apreciable con una densidad celular bastante alta, pudiendo evidenciar una buena metabolización y absorción de nutrientes.

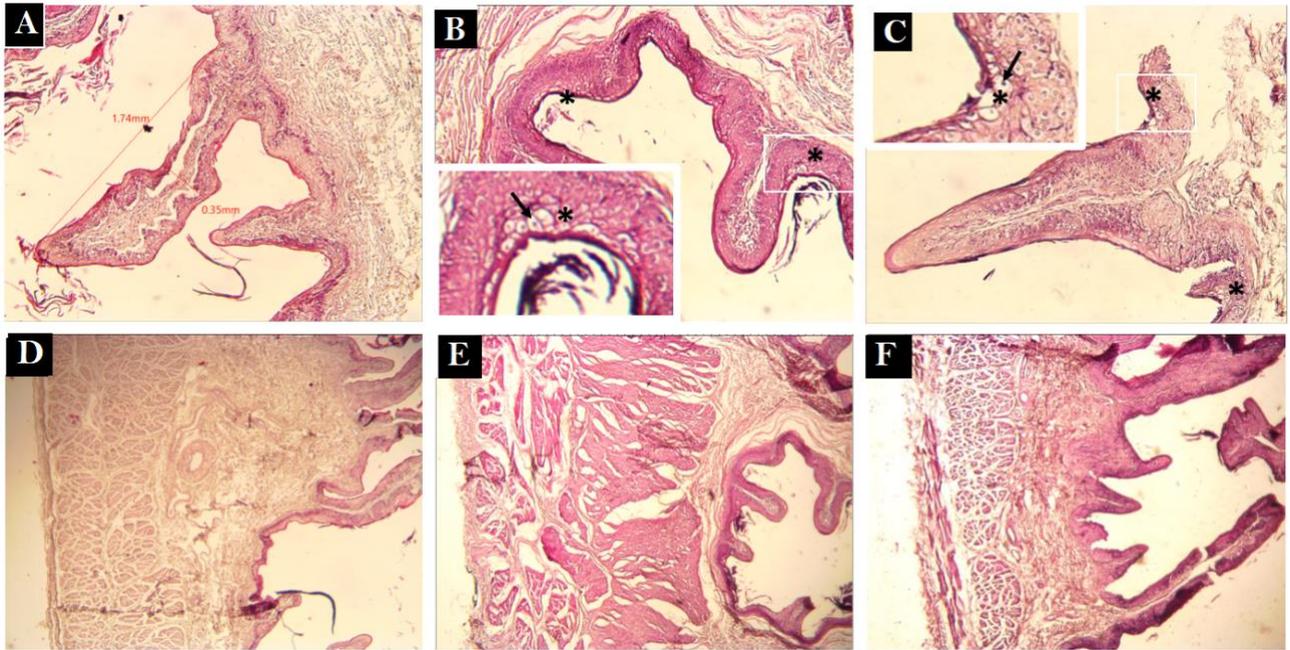


Figura 17. Diferenciación microscópica del epitelio ruminal. Saco craneodorsal del rumen. A-D) Animal B1LE. B-E) Animal A4LC. C-F) Animal C2LE. Microfotografías en línea superior vistas en objetivo 10X. Microfotografías en línea inferior vistas em objetivo 5x. Coloración de hematoxilina y eosina.

Se observan papilas ruminales bien preservadas, presentando estructura histológica característica. Las papilas están revestidas por epitelio escamoso estratificado queratinizado.

En la Figura 17, en los literales B y C se observa que el epitelio posee frecuentes áreas multifocales de discreta degeneración hidrópica, donde las células más superficiales del estrato córneo presentan citoplasma vacuolizado (\*) y presencia del núcleo (paraqueratosis) (flecha), lo que puede indicar la presencia de un ambiente desfavorable para el epitelio, que puede ser afectado principalmente por el pH del contenido ruminal, así como la ausencia de fibra en la dieta. Además, en la muestra A4LC se observa un encortamiento de las papilas, eliminando su morfología característica de hoja, así como un ligero engrosamiento del estrato córneo y de la pared muscular.

## **5. CONCLUSIONES**

Los alimentos concentrados preiniciadores utilizados para la fase pre destete no mostraron diferencias estadísticas significativas en cuanto a ganancia de peso, altura a la cruz y cadera, esto debido a que las materias primas, composición nutricional y presentación física de los mismos fue muy similar.

El cruce Holstein-Jersey presentó valores con significancia estadística mayor en cuanto a pesos y altura de cruz y cadera, siendo este un efecto estrictamente vinculado a la composición racial y no a la influencia de los concentrados evaluados en el experimento.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) en altura y ancho de papilas ruminales, sin embargo, de manera descriptiva se observaron diferencias morfológicas desde el color del epitelio ruminal hasta la conformación de los estratos del epitelio, evidenciando la presencia de un ambiente desfavorable para el epitelio, que puede ser afectado principalmente por el pH del contenido ruminal, así como la ausencia de fibra en la dieta (parámetros que no fueron de estudio en esta investigación). Además, en la muestra A4LC se observa un encortamiento de las papilas, eliminando su morfología característica de hoja, así como un ligero engrosamiento del estrato córneo (paraqueratosis) y de la pared muscular.

## **6. RECOMENDACIONES**

Utilizar concentrados preiniciadores como promotores de desarrollo ruminal considerando que las variaciones en su presentación física puede ser un factor que influya en el desarrollo papilar y crecimiento de las terneras.

Realizar estudios que incluyan adición de otras fuentes de nutrientes a la dieta, medición de parámetros como pH ruminal al momento del sacrificio.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, K. L.; Nagaraja, T. G.; Morrill, J. L.; Avery, T. B.; Galitzer, S. J.; Boyer, J. E. 1987. Ruminant microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.2527/jas1987.6441215x>
- Baldwin, R.; Connor, E. 2017. Rumen Function and Development. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 33(3): 427–439. (en línea) Consultado en noviembre de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.001>
- Baldwin, R. L.; McLeod K. R.; Klotz, J. L.; Heitmann, R. N. 2010. Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. *Journal of Dairy Science*, 87(3): 55–E65. (en línea) Consultado en octubre de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(04\)70061-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(04)70061-2)
- Baldwin VI, R. L.; McLeod, K. R. 2000. Effects of diet forage: Concentrate ratio and metabolizable energy intake on isolated rumen epithelial cell metabolism in vitro. *Journal of Animal Science*, 78(3): 771–783. (en línea) Consultado en agosto de 2021.
- Beharka, A. A.; Nagaraja, T. G.; Morrill, J. L.; Kennedy, G. A.; Klemm, R. D. 1998. Effects of Form of the Diet on Anatomical, Microbial, and Fermentative Development of the Rumen of Neonatal Calves. *Journal of Dairy Science*, 81(7): 1946–1955. (en línea) Consultado en octubre de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75768-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75768-6)
- Brownlee, A. 2017. The Development of Rumen Papillae in Cattle Fed on Different Diets. *British Veterinary Journal*. p. 112. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.1016/s0007-1935\(17\)46456-6](https://doi.org/10.1016/s0007-1935(17)46456-6)
- Budras, K. D.; Habel, R. E.; Mülling, C. K. W.; Greenough, P. R.; Jahrmärker, G.; Richter, R.; Starke, D. 2011. Bovine Anatomy. p. 71. (en línea) Consultado en noviembre de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1201/9783842683594>
- Castro, P.; Jorge, E. 2014. Crecimiento y desarrollo ruminal en terneros alimentados con iniciador sometido a diferentes procesos. *Agronomía Mesoamericana*, 23(2): P 343–352. (en línea) Consultado en marzo de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.15517/am.v23i2.6534>
- Church, D. C. 1988. *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. 17(1): 9–14. (en línea) Consultado en mayo de 2021. Disponible en <https://eprints.nwisrl.ars.usda.gov/id/eprint/770/1/606.pdf>
- Coverdale, J. A.; Tyler, H. D.; Quigley, J. D.; & Brumm, J. A. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal of Dairy Science*, 87(8): 2554–2562. (en línea) Consultado en junio de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73380-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73380-9)
- Drackley, J. K. 2003. *Update on Intensified Feeding Programs for Milk-fed Calves*. (en línea) Consultado en marzo de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.15517/am.v23i2.6534>
- Elizondo-Salazar, J. A. 2013. Requerimientos de proteína para terneras de lechería Protein requirements for dairy calves. *Nutrición Animal Tropical*. p. 40–50. (en línea) Consultado en mayo de 2021. Disponible en <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/12299>
- Govil, K.; Yadav, D.; Patil, A.; Nayak, S.; Baghel, R.; Yadav, P.; Thakur, D. 2017. Feeding management for early rumen development in calves. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3): 1132–1139. (en línea) Consultado en marzo de 2021. Disponible en <http://www.entomoljournal.com/archives/?year=2017&vol=5&issue=3&part=P&ArticleId=1934>

- Heinrichs, J. 2005. *Rumen Development in the Dairy Calf Take Home Messages*. 17. p.179–187. (en línea) Consultado en agosto de 2021. Disponible en [https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcds\\_archive/Archive/2005/Manuscripts/Heinrichs.pdf](https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcds_archive/Archive/2005/Manuscripts/Heinrichs.pdf)
- INATEC. 2008. Manual Del Protagonista Nutrición Animal. *Inatec*. p.140. (en línea) Consultado en julio de 2021. Disponible en [https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual\\_de\\_Nutricion\\_Animal.pdf](https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Nutricion_Animal.pdf)
- Khan, M. A.; Weary, D. M.; Von Keyserlingk, M. A. G. 2011. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *Journal of Dairy Science*, 94(7): 3547–3553. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3871>
- Klein, B. 2013. *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. 5ta Edición. St. Louis: Elsevier. p. 320-340.
- Lesmeister, K. E.; Tozer, P. R.; & Heinrichs, A. J. 2010. Development and Analysis of a Rumen Tissue Sampling Procedure. *Journal of Dairy Science*, 87(5): 1336–1344. (en línea) Consultado en agosto de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(04\)73283-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(04)73283-x)
- Muscato, T.; Tedeschi, L.; Russell, J. B. 2002. The effect of ruminal fluid preparations on the growth and health of newborn, milk-fed dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 85(3): 648–656. (en línea) Consultado en octubre de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74119-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74119-2)
- National Academies Press. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture and Natural Resources National Research Council NATIONAL ACADEMY PRESS*. (en línea) Consultado en octubre de 2021. Disponible en <http://www.nap.edu>.
- Parish, J, A.; Rivera, D, J.; Boland, H, T. 2017. Understanding the Ruminant Animal Digestive System Ruminant. *Mississippi State University*. p. 1–7. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300140503>
- Reece, W. 2017. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. 5ta Edición. Ames, Iowa, USA. p. 380-386.
- Relling, A.; Mattioli, G. 2002. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. *Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata*. p.1–72. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en [https://ecaths1.s3.amazonaws.com/catbioquimicavet/fisio\\_dig\\_rumiantes.pdf](https://ecaths1.s3.amazonaws.com/catbioquimicavet/fisio_dig_rumiantes.pdf)
- Sato, T.; Hidaka, K.; Mishima, T.; Nibe, K.; Kitahara, G.; Hidaka, Y.; Kamimura, S. 2010. Effect of Sugar Supplementation on Rumen Protozoa Profile and Papillae Development in Retarded Growth Calves. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72(11): 1471–1474. (en línea) Consultado en noviembre de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0399>
- Swanson, E. W.; & Harris, J. D. 1958. Development of Rumination in the Young Calf. *Journal of Dairy Science*, 41(12): 1768–1776. (en línea) Consultado en septiembre de 2021. Disponible en [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)91161-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)91161-5)
- Tamate, H.; McGilliard, A. D.; Jacobson, N. L.; Getty, R. 2010. Effect of Various Dietaries on the Anatomical Development of the Stomach in the Calf. *Journal of Dairy Science*, 45(3): 408–420. (en línea) Consultado en marzo de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.3168/jds.s0022->

- TEAGASC. 2017. Development of the Calf Digestive System. *TEAGASC Calf Rearing Manual*. Section 4. (en línea) Consultado abril de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.05.015>
- USDA-NAHMS. 1993. Dairy Herd Management Practices Focusing on Preweaned Heifer Calves. *Technical Bulletin 1991-1992. National Animal Health Monitoring System: National Dairy Heifer*. (en línea) Consultado en noviembre de 2021. Disponible en <https://ideas.repec.org/p/ags/unahmp/32754.html>
- Warner, R. G.; Flatt, W. P.; Loosli, J. K. 1956. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (en línea) Consultado en abril de 2021. Disponible en <https://doi.org/10.1021/jf60067a003>
- Wattiaux, M. (2015a). Heifer Raising - Birth to weaning, 28) Importance of colostrum feeding. *Dairy Essential*. p. 109–112. (en línea) Consultado en junio de 2021. Disponible en [https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de\\_28.en.pdf](https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de_28.en.pdf)
- Wattiaux, M. (2015b). Heifer raising - Birth to weaning, 29) Feeding milk and milk replacers. *Dairy Essential*. p. 113–116. (en línea) Consultado en abril de 2021. Disponible en [https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de\\_29.en.pdf](https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de_29.en.pdf)
- Wattiaux, M.; Bran, W. (2015). Heifer Raising - Birth to weaning 30) Feeding hay, concentrates and water. *Dairy Essential*. p. 117–120. (en línea) Consultado en junio de 2021. Disponible en [https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de\\_30.en.pdf](https://kb.wisc.edu/images/group226/52745/de_30.en.pdf)



## ANEXOS

**Cuadro A.1. ANOVA para efecto de tratamiento sobre desarrollo de papilas ruminales**

|                                 |                  |                    |            | Suma de<br>cuadrados | gl   | Media<br>cuadrática | F         | Sig. |  |
|---------------------------------|------------------|--------------------|------------|----------------------|------|---------------------|-----------|------|--|
| Promedio<br>de Ancho<br>Zona A  | Entre grupos     | (Combinado)        |            | .017                 | 2    | .009                | .559      | .599 |  |
|                                 |                  | Término lineal     | Contraste  | .009                 | 1    | .009                | .599      | .468 |  |
|                                 |                  |                    | Desviación | .008                 | 1    | .008                | .520      | .498 |  |
|                                 |                  | Término cuadrático | Contraste  | .008                 | 1    | .008                | .520      | .498 |  |
|                                 | Dentro de grupos |                    |            |                      | .094 | 6                   | .016      |      |  |
|                                 | Total            |                    |            |                      | .111 | 8                   |           |      |  |
| Promedio<br>de Ancho<br>Zona RE | Entre grupos     | (Combinado)        |            | .019                 | 2    | .009                | 1.01<br>0 | .419 |  |
|                                 |                  | Término lineal     | Contraste  | .011                 | 1    | .011                | 1.17<br>8 | .319 |  |
|                                 |                  |                    | Desviación | .008                 | 1    | .008                | .842      | .394 |  |
|                                 |                  | Término cuadrático | Contraste  | .008                 | 1    | .008                | .842      | .394 |  |
|                                 | Dentro de grupos |                    |            |                      | .056 | 6                   | .009      |      |  |
|                                 | Total            |                    |            |                      | .075 | 8                   |           |      |  |
| Promedio<br>de Ancho<br>Zona LE | Entre grupos     | (Combinado)        |            | .006                 | 2    | .003                | .132      | .879 |  |
|                                 |                  | Término lineal     | Contraste  | .006                 | 1    | .006                | .264      | .625 |  |
|                                 |                  |                    | Desviación | .000                 | 1    | .000                | .000      | .991 |  |
|                                 |                  | Término cuadrático | Contraste  | .000                 | 1    | .000                | .000      | .991 |  |
|                                 | Dentro de grupos |                    |            |                      | .127 | 6                   | .021      |      |  |
|                                 | Total            |                    |            |                      | .132 | 8                   |           |      |  |
| Promedio<br>de Ancho<br>Zona RC | Entre grupos     | (Combinado)        |            | .000                 | 2    | .000                | .038      | .963 |  |
|                                 |                  | Término lineal     | Contraste  | .000                 | 1    | .000                | .058      | .818 |  |
|                                 |                  |                    | Desviación | .000                 | 1    | .000                | .018      | .898 |  |
|                                 |                  | Término cuadrático | Contraste  | .000                 | 1    | .000                | .018      | .898 |  |
|                                 | Dentro de grupos |                    |            |                      | .019 | 6                   | .003      |      |  |
|                                 | Total            |                    |            |                      | .020 | 8                   |           |      |  |
| Promedio<br>de Ancho<br>Zona LC | Entre grupos     | (Combinado)        |            | .023                 | 2    | .011                | 1.61<br>6 | .274 |  |
|                                 |                  | Término lineal     | Contraste  | .010                 | 1    | .010                | 1.42<br>5 | .278 |  |
|                                 |                  |                    | Desviación | .013                 | 1    | .013                | 1.80<br>7 | .227 |  |

|  |                  |                    |           |      |   |      |      |      |
|--|------------------|--------------------|-----------|------|---|------|------|------|
|  |                  | Término cuadrático | Contraste | .013 | 1 | .013 | 1.80 | .227 |
|  |                  |                    |           |      |   |      | 7    |      |
|  | Dentro de grupos |                    |           | .042 | 6 | .007 |      |      |
|  | Total            |                    |           | .065 | 8 |      |      |      |



**Figura A-1 Instalaciones**



**Figura A-2 Concentrado pre iniciador peletizado**



**Figura A-3 Nacimiento de ternero**



**Figura A-4 Pesaje**



**Figura A-5 Identificación con arete**



**Figura A-6 Curación de ombligo**



**Figura A-7 Necropsia y disección de estómago**



**Figura A-8 Limpieza y tallado de muestra**



**Figura A-9** Disección de muestra de tejido ruminal en cassette e identificación



Figura A-10 Procesamiento de muestras de tejido ruminal

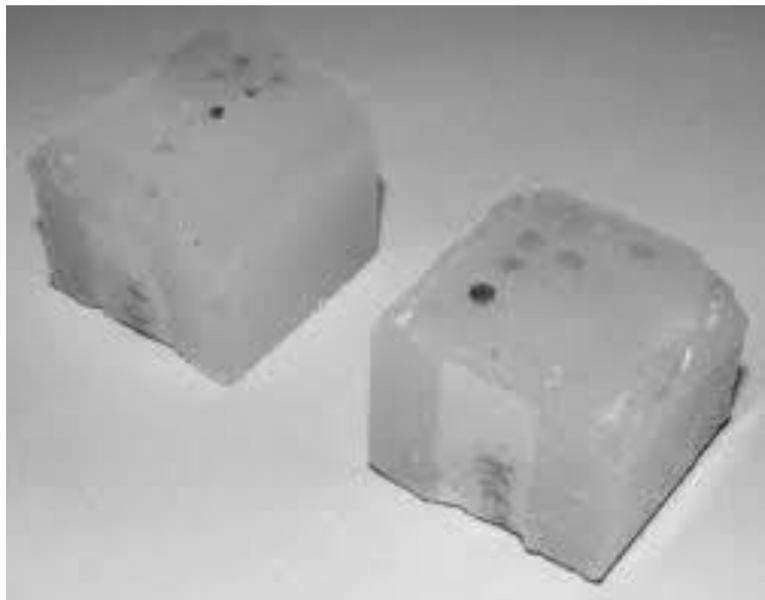


Figura A-11 Bloques de parafina



Figura A-12 Micrótopo de rotación

## ANEXO 1. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE MUESTRAS (Cornejo, 2018)

1. **Obtención de la muestra.** Se obtuvo a partir de la disección del rumen de terneros; colocados en líquido fijador (formalina al 10%) hasta el momento del procesamiento.
2. **Fijación.** Consiste en interrumpir los procesos de degradación que aparecen tras la muerte celular, tratando de conservar la arquitectura y composición celular lo más próxima posible a como se encontraba en el organismo vivo, en este caso, con formalina al 10%.
3. **Deshidratación.** Tiene como finalidad la eliminación completa del agua del espécimen para que se pueda embeber en medios de inclusión no hidrosolubles.

### Pasos:

1. Sumergir las muestras en Etanol 70 (1) \*por 35 minutos.
  2. Sumergir las muestras en Etanol 80 (2) \* por 35 minutos.
  3. Sumergir las muestras en Etanol 95+ Metanol 5 (3) \* por 35 minutos.
  4. Sumergir las muestras en Etanol absoluto (4) por 35 minutos.
4. **Aclaramiento.** Proceso por el cual se consiguió la sustitución del agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión que se utilizó. Permitió que el alcohol fuese reemplazado por un líquido que disuelve la parafina con la cual el tejido fue impregnado.

### Pasos:

1. Sumergir las muestras en Xilol (1) \* por 15 minutos.

2. Sumergir las muestras en Xilol (2) \* por 15 minutos.
5. Infiltración o impregnación en parafina. Proceso que consiste en infiltrar completamente la muestra histopatológica con el medio que se va a utilizar para la imbibición del tejido. Su objetivo es proporcionar a la pieza anatómica, homogeneidad y dureza suficiente para la obtención de muestras de secciones de calidad muy finas. Durante este proceso se introdujeron las muestras en parafina líquida para que ocupe el lugar del xilol.

**Pasos:**

1. Sumergir las muestras en Parafina (1) \* por 40 minutos.
2. Sumergir las muestras en Parafina (2) \* por 40 minutos.
3. Sumergir las muestras en Parafina (3) \* por 40 minutos.
6. **Inclusión en parafina y confección de bloques.** Proceso que consiste en la obtención de un bloque sólido de tejido, más medio de inclusión (parafina), que permite realizar cortes finos de tejido. Se seleccionó la muestra de tejido, se colocó en los moldes de aluminio en forma de “L”, se añadió parafina derretida hasta cubrir el tejido en su totalidad; se colocó el código de la muestra en la parte superior de la parafina para mantener identificada la muestra.

Luego de esperar alrededor de 2 a 3 minutos mientras se enfría la parafina; se colocó el bloque en la placa fría a -3 °C por unos 15 minutos hasta asegurar que la parafina endureciera.

7. **Corte.** Se utilizó un micrótopo; es el instrumento adecuado para obtener cortes finos de material biológico incluido en parafina. La finalidad es obtener muestras de tejido de grosor muy fino. Previo a iniciar el corte de los tejidos se realizó el retallado del bloque de parafina que contenía la muestra de tejido; esto con el fin de eliminar los excedentes de parafina que no contienen tejido (las esquinas del bloque) a formar una pirámide truncada y luego se realizó el desbastado del bloque que consiste en realizar cortes del bloque en el micrótopo; pero de un mayor grosor que el deseado de las muestras, generalmente se realizan cortes a 10 micras, para asegurar que al momento del corte, la porción de tejido esté completa. El se realizó en el micrótopo con un grosos de 5 micras. Cuando se obtuvo una tira completa de secciones de tejido; se colocó la muestra de tejido cortado en una lámina de vidrio; se agregó alcohol al 70% para extender el tejido y llevar al baño de flotación. Se pescó el tejido con el portaobjetos en que quedó montado definitivamente y codificado.
8. **Desparafinado.** Se realiza para que se produzca una correcta penetración de los colorantes; por lo cual se debe extraer previamente el medio de inclusión de los cortes de tejido incluido en la parafina. Se sumergieron los portaobjetos que contenían las muestras, en 3 baños de xilol (2 minutos cada uno); luego se colocaron los portaobjetos en la estufa por 10 minutos a 60°C.
9. **Tinción.** Permite estudiar y conocer las características físicas de los tejidos y las relaciones entre las células que los constituyen; de manera general se realiza con eosina-hematoxilina. El fundamento de cualquier método de tinción radica en la propiedad que poseen todos los tejidos para incorporar y fijar de modo

variable diversas sustancias coloreadas llamadas colorantes. Se utilizó hematoxilina para colorear núcleos y eosina para colorear citoplasmas.

Rehidratación: Se realiza para rehidratar el tejido, previo a la tinción. Se realizaron baños sucesivos de alcohol etílico. \*La numeración de los alcoholes y xilol, hace referencia al orden en que deben ir sumergidas las muestras; no a la concentración de los alcoholes ni el xilol, pues todos son alcoholes absolutos y el xilol se utiliza puro.

**Pasos:**

1. Sumergir las muestras en Xilol (1) \* por 5 minutos.
2. Sumergir las muestras en Xilol (2) \* por 5 minutos.
3. Sumergir las muestras en Metanol (1) \* por 5 minutos.
4. Sumergir las muestras en Metano (2) \* por 5 minutos.
5. Lavar con Agua de chorro.
6. Sumergir las muestras en Hematoxilina de 2 a 8 minutos (según maduración de hematoxilina).
7. Lavar con agua de chorro.
8. Sumergir las muestras en Bicarbonato de sodio o litio 3 veces.
9. Lavar con agua de chorro.
10. Sumergir las muestras en Eosina por 15 seg a 1 minuto (según maduración de eosina).
11. Lavar con agua de chorro.
12. Escurrir y dejar secar en estufa por 15 minutos.
13. Sumergir las muestras en Etanol (3) \* 3 veces.
14. Sumergir las muestras en Etanol (4) \* 5 veces.
15. Sumergir las muestras en Xilol (3) \* por 1 minuto.
16. Sumergir las muestras en Xilol (4) \* por 1 minuto.

**10. Montaje.** Es el paso final en la preparación de láminas; se debe interponer un medio de montaje entre la porta y cubreobjetos que evite el contacto de la preparación con el aire ambiental. Se utilizó Entellan; colocar de 3 a 5 gotas sobre el portaobjetos; dejar que se extienda hasta cubrir todo el tejido y colocar el cubreobjetos.

**11. Observación de lámina.** Se realiza mediante el uso de microscopio de campo claro. Se colocó el portaobjetos que contenía la muestra de tejido; y se observó de manera gradual desde 4X hasta 10X; con el fin de observar si hay alteraciones en los tejidos, correspondiente a las pruebas realizadas sobre los tejidos de experimentación.