

Universidad de la República
Facultad de Veterinaria

**INTERACCIÓN ENTRE LOS PLANOS DE ALIMENTACIÓN PRE Y POS-
DESLECHE SOBRE EL DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD FERMENTATIVA
RUMINAL EN TERNERAS HOLANDO**

“por”

CORREA LISTA, Florencia.

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Producción Animal.

MODALIDAD: Ensayo Experimental.

MONTEVIDEO

URUGUAY

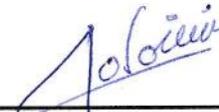
2020

Tg
9.77

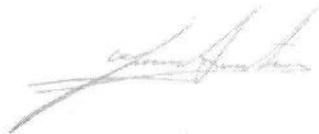
PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:


Maximiliano Pastorini, DMTV., MSc.

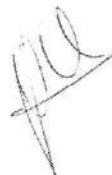
Segundo miembro (Tutor):


Germán Antúnez Tort, DCV., MSc.

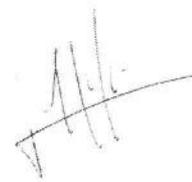
Tercer miembro:


Alejandro La Manna, Ing. Agr., Msc., PhD.

Cuarto miembro (Co-tutora):


Cecilia Cajaville, DMTV., PhD.

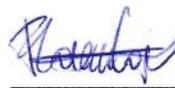
Quinto miembro (Co-tutor):


José Luis Repetto, DMTV., PhD.

Fecha:

22/12/2020

Autora:


Br. Florencia Correa Lista

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 12 (doce) 

S20t27 Juntada comision 1086RSP 2021

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. German Antúnez por acompañarme y guiarme durante este proceso.

A los que estuvieron durante el ensayo, Juan, Martina, Leticia, Cinthya, Laura, Valentina, Bruno, Facundo, Marcos y Maira.

Al personal del Campo Experimental N° 2 de Facultad y los funcionarios del IPAV.

A los profesores de Montevideo, del IPAV, del Área de Extensión y de Paysandú por mi formación profesional y humana.

A los profesionales y técnicos, quienes me enseñaron con motivación y paciencia.

A mis amigos y familiares por estar siempre.

A mi padre por ser mi primer maestro, a mi madre por siempre confiar en mí y a mi hermana por acompañarme en este camino.

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
RESUMEN.....	1
SUMMARY	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Desarrollo ruminal.....	4
2.2. Actividad fermentativa ruminal.....	9
2.2.1. pH.....	9
2.2.2. Metabolismo del nitrógeno en el rumen.....	10
2.2.3. Ácidos grasos volátiles	11
3. HIPÓTESIS	13
4. OBJETIVOS	14
4.1. Objetivo general.....	14
4.2. Objetivos específicos	14
5. MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.1. Diseño experimental.....	15
5.2. Composición química de los alimentos	16
5.3. Mediciones y determinaciones	17
5.4. Análisis estadístico	17
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
6.1. Parámetros ruminales pre-desleche.....	19
6.2. Parámetros ruminales pos-desleche	23
7. CONCLUSIÓN.....	27
8. BIBLIOGRAFÍA.....	28

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Esquema de tratamientos.....	15
Cuadro 2. Composición química de los alimentos.....	16
Cuadro 3. Parámetros ruminales en la semana 7 de vida.....	19
Cuadro 4. Parámetros ruminales en las semanas 9 y 11	24
Figura 1. Evolución del pH ruminal diario en los tratamientos alto (A) y medio (M) en la semana 7 de vida.....	20
Figura 2. Valores de pH ruminal mínimo en las semanas 9 y 11 de vida (pos-desleche).....	26

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la interacción entre la cantidad de lactoreemplazante suministrado en la etapa pre-desleche y el plano de alimentación luego del desleche, sobre la actividad fermentativa ruminal en las etapas pre y pos-desleche. Se utilizaron 32 terneras Holando de menos de una semana de vida. Las mismas fueron bloqueadas por fecha de nacimiento y asignadas al azar a un programa nutricional alto (A) o medio (M) pre-desleche (día 7 a 56 de vida) y un programa nutricional alto (A) o medio (M) pos-desleche (días 57 a 147 de vida). Durante la cría todas las terneras recibieron el mismo sustituto lácteo, en cantidades equivalentes al 20% (alto= A) y 10% (medio= M) del PV inicial. Durante esta etapa se ofreció concentrado iniciador *ad libitum*. Luego del desleche las terneras fueron alimentadas con el mismo concentrado iniciador y forraje picado. La dieta fue formulada para obtener ganancias de peso vivo de 700-800 g/d en los tratamientos AA y MA o 400-500 g/d en los tratamientos AM y MM. Los parámetros estudiados fueron pH, NH₃-N, ácidos grasos volátiles (AGV) y ácido láctico. En la semana 7 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en los valores de NH₃-N y AGV. La media de pH y el pH mínimo diario fueron menores en el tratamiento M (P = 0,036 y P = 0.035 respectivamente). Se detectó un efecto hora en las mediciones de pH y NH₃-N y ácido láctico. La concentración de ácido láctico fue mayor en tratamiento A (P = 0,01). No hubo efecto del tratamiento predesleche ni posdesleche sobre el pH ruminal en las semanas 9 y 11 de vida. Las medias de pH en la semana 9 fueron menores que en la semana 11 para todos los tratamientos (P < 0,01). El pH mínimo fue menor en la semana 9 que en la semana 11 (P < 0,01). Las terneras del tratamiento A predesleche tuvieron mayores valores NH₃-N en el pos-desleche (P < 0,01). Las concentraciones de propiónico (P = 0,02) y AGV (P = 0,04) de las terneras con tratamiento AA y MA fueron mayores que en los tratamientos MM y AM. Concluimos que la cantidad de leche suministrada afecta la actividad fermentativa ruminal pre-desleche, pero tienen limitado impacto en la actividad fermentativa ruminal pos-desleche y no se encontró evidencia que permitan suponer un menor desarrollo digestivo pos-desleche.

SUMMARY

The aim of this study was to analyze the interaction between the quantity of milk replacer supplied in the pre-weaning stage and the feeding plane post-weaning, on ruminal fermentative activity in the pre and post-weaning stages. For this study, 32 less-than-a-week old Holstein calves were used. They were blocked by date of birth and randomly assigned to a high (A) or a medium (M) pre-weaning nutritional program (days 7 to 56 of life) and to a high (A) or medium (M) post-weaning nutritional program (days 57 to 147 of life). During rearing, all calves received the same milk replacer in amounts equivalent to 20% (A) and 10% (M) of the initial BW. During this stage starter concentrate was offered ad libitum. After weaning, the calves were fed the same starter concentrate and chopped hay. The diet was formulated to obtain live weight gains of 700-800 grs/d in the AA and MA treatments or 400-500 grs/d in the MM and AM treatments. The parameters studied were pH, $\text{NH}_3\text{-N}$, VFA, lactic acid. At week 7, no significant differences were found in $\text{NH}_3\text{-N}$ and VFA between treatments. The mean ruminal pH and the minimum daily pH were lower in treatment M ($P = 0,036$ and $P = 0,035$). An hour effect was detected in the measurement of pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ and acid lactic ($P = 0,03$ and $P = 0,05$). Lactic acid concentration was higher in A treatment ($P = 0,01$). There was no effect of pre- or post-weaning treatment on ruminal pH at 9 and 11 weeks of life. The mean pH at week 9 were lower than at week 11 for all treatments ($P < 0,01$). Calves in pre-weaning A treatment had higher $\text{NH}_3\text{-N}$ values in the post-weaning ($P < 0,01$). The propionic ($P = 0,02$) and total VFA ($P = 0,04$) concentration of the calves of AA and MA treatments were higher than MM and AM treatments. We conclude that the amount of milk supplied affects the pre-weaning ruminal fermentative activity, but has a limited impact on the post-weaning ruminal fermentative activity and no evidence was found to suggest a lower post-weaning digestive development.

1. INTRODUCCIÓN

La explotación lechera en Uruguay ocupa aproximadamente un 5% de la superficie ganadera total, destinándose un 70% de la producción al mercado externo (DIEA, 2018). En la última década, según DIEA (2018) aumentó tanto el número total del rodeo lechero (de 710 a 780 miles de cabezas) como el volumen total de leche remitida (de 1473 a 1816 millones de litros). Sin embargo, el área destinada al rubro descendió un 3,6%. Este proceso de intensificación de los sistemas de producción lechera ha generado la necesidad de acortar ciertas etapas de la vida del animal y desarrollar estrategias de alimentación que permitan un desarrollo fisiológico acelerado, sin comprometer la vida productiva (Schäff et al., 2018).

Montoro et al. (2013) sostiene que los terneros con planos de alimentación altos durante la cría no serán capaces de mantener la tasa de crecimiento únicamente con la alimentación sólida ofrecida en la recria. A pesar de esto, Khan et al. (2011) apoyan la teoría de que altos planos de alimentación pre-desleche mejora el desarrollo y el bienestar del animal pre rumiante. Otros beneficios de ofrecer más alimento líquido incluyen: mejora en la salud, mayores ganancias de peso y un mejor desempeño productivo (Díaz et al., 2001; Gelsinger et al., 2016).

La intensificación de la cría supone mayores ganancias de peso y mejor desarrollo fisiológico. Por lo tanto, las vaquillonas podrían ser servidas a los 15 meses, generando una serie de ventajas: disminución del período improductivo de la hembra; aumento del número de lactancias y área de vacas en producción; reducción del intervalo generacional, lo que acelera el progreso genético (Mendoza et al., 2016).

A nivel mundial existen una serie de estudios (Armstrong et al., 2001; Shamay et al., 2005; Chelikani et al., 2009 citados por De Trinidad, 2014) que evalúan la relación entre los planos y calidad de alimentación pre desleche y su impacto a nivel de desarrollo corporal, pubertad, entre otros. Sin embargo, no existen datos que abarquen períodos de alimentación pre desleche y pos desleche en distintos niveles, sus combinaciones y efectos sobre la actividad fermentativa ruminal. El objetivo de este trabajo es establecer cómo afectan las interacciones entre los planos de alimentación, a nivel de actividad fermentativa ruminal, para un correcto desempeño productivo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Desarrollo ruminal

De acuerdo con el NRC (2001) los pre rumiantes deben pasar por tres etapas antes de tener un rumen totalmente funcional: la fase de alimentación líquida (lácteos), la de transición (alimentos líquidos y sólidos) y la fase de rumiante, en la cual solo se alimenta de sólidos.

El proceso de digestión de los terneros recién nacidos se asemeja a los monogástricos, teniendo un estómago funcional -el abomaso- que permite la digestión enzimática de los componentes de la leche. La capacidad del abomaso durante las primeras semanas es de entre 5 y 6 litros, representando el 38% de la capacidad total de los pre-estómagos (Church, 1979).

Las enzimas principales que participan en la digestión enzimática en esta etapa son la lactasa y quimosina, existiendo otras, pero de muy baja acción (Bacha et al., 2015). Al nacimiento, los terneros no poseen microflora ruminal anaerobia, sino que dependen de la actividad enzimática para obtener glucosa a partir de la lactosa de la leche, la cual se absorbe a nivel intestinal. Anatómicamente existe una estructura -la gotera esofágica- que por efecto reflejo conduce la leche directamente al abomaso, evitando que caiga en el rumen (Van Soest, 1994).

Como complemento de la dieta líquida se suele administrar concentrado iniciador con alto contenido de almidón, proteína (entre 18% y 20%), energía y bajo contenido de fibra (Svensson y Hultgren, 2008). En la elaboración de los concentrados iniciadores se utilizan insumos de gran palatabilidad y alto contenido de carbohidratos de fácil digestión como el almidón para estimular el consumo temprano de alimento sólido y promover el desarrollo de los pre-estómagos (Kristensen et al., 2007).

Uno de los factores específicos que actúan en el desarrollo de los pre-estómagos son los ácidos grasos volátiles (AGV). Éstos se producen como resultado de la fermentación microbiana de los carbohidratos y de las proteínas de la dieta (Brownlee, 1956; Warner et al., 1956). Tanto el propionato como el butirato tienen efectos directos en la proliferación y diferenciación del epitelio de distintos órganos gastrointestinales. En particular, el ácido butírico cumple un papel fundamental en el

desarrollo de las papilas ruminales que son las estructuras que permiten aumentar la superficie de absorción de este órgano (Baldwin y McLeod, 2000).

En los sistemas de cría tradicionales, se limita la cantidad de leche ofrecido durante la etapa de cría, de esta forma se fomenta el consumo de concentrado y se reducen los costos de alimentación (Davis y Drackley, 2002). El alimento sólido (concentrados y forraje) es generalmente más económico que el alimento líquido; por lo tanto, una transición rápida reduce los costos de alimentación. Por otra parte, el consumo de concentrados de fácil digestión, aumenta la producción de AGV en el rumen y estimula el desarrollo temprano del rumen (Quigley et al., 2006).

En las últimas dos décadas se ha publicado una gran cantidad de trabajos en los que se reportan los beneficios de suministrar mayor cantidad de leche durante la etapa pre-desleche (Drackley, 2008; Khan et al., 2016; Kertz et al., 2017) a corto, mediano y largo plazo.

Sin embargo, muchos productores se rehúsan a aumentar la oferta de alimento líquido durante la cría, debido a la creencia de que esto disminuiría el consumo de concentrado pre-desleche, y por lo tanto retrasaría el desarrollo ruminal. No existe consenso entre los diferentes autores sobre el efecto que la cantidad de alimento líquido puede tener sobre el desarrollo del rumen y la capacidad de digestión de los alimentos sólidos (concentrados y forraje) luego del desleche (Khan et al., 2016; Kertz et al., 2017).

Montoro et al. (2013) sostiene que los terneros con planos de alimentación altos durante la cría no serán capaces de mantener la tasa de crecimiento únicamente con la alimentación sólida ofrecida en la recria. Autores como Hill et al. (2010) y Quigley et al. (2018) atribuyen este bajo desempeño pos-desleche a un rumen subdesarrollado, debido al escaso aporte de carbohidratos de rápida fermentación durante la etapa de lactante. Siguiendo esta línea de investigación, De Paula et al., 2017 proponen diferentes estrategias de desleche graduales para contrarrestar los posibles efectos negativos durante esta etapa.

El inicio anticipado de la pubertad implica una mayor productividad del animal y, por lo tanto, una reducción en los costos de crianza (Hill et al, 2008). El manejo nutricional y sanitario correcto repercute positivamente en el futuro inmediato, dado

que la mayor eficiencia en la alimentación acorta la vida improductiva del animal (Davis y Drackley, 2002).

La transformación de pre-rumiante a rumiante está condicionada por el desarrollo de las papilas ruminales, lo que se acelera con el consumo elevado de concentrados en detrimento del consumo de alimentos líquidos (Gelsinger et al., 2016). En un meta-análisis, Gelsinger et al. (2016) reporta que el consumo promedio diario de concentrado en la etapa pre-desleche disminuye 88 g MS/día por cada kg de MS proveniente del alimento líquido.

Lesmeister et al. (2004) propone que el principal indicador de desarrollo ruminal es el tamaño de las papilas del epitelio. En este sentido, algunos trabajos reportan que altos planos de alimentación líquida suponen un retraso en el consumo de concentrado, afectando así el desarrollo de las papilas ruminales (Eckert et al., 2015). A pesar de esto, Khan et al. (2011) apoyan la teoría de que esto mejora el desarrollo y el bienestar del animal pre rumiante. Otros beneficios de ofrecer más alimento líquido incluyen: mejora en la salud, mayores ganancias de peso y un mejor desempeño productivo durante la primera lactancia (Diaz et al., 2001; Gelsinger et al., 2016).

Asimismo, la oferta de fibra antes del desleche genera controversia debido a su efecto de saciedad, que conlleva a una disminución en el consumo de concentrado (Montoro et al., 2013). A su vez, la fibra tiene menor contenido de energía y menor digestibilidad que los concentrados, por lo que su suministro no está aconsejado (Khan et al., 2016). Sin embargo, este mismo autor señala que, en la mayoría de los establecimientos, la cría se realiza en sistemas pastoriles con limitado acceso a concentrados. El consumo de fibra durante esta etapa promueve el desarrollo muscular del rumen y es fundamental para estimular la rumia (Beiranvand et al., 2014).

Tanto en condiciones naturales, al pie de la madre, como cuando se le ofrece lacto-reemplazante *ad libitum*, las terneras pueden consumir alrededor del 20% de su peso vivo en leche (Jasper y Weary, 2002; Mendoza et al., 2010, citado por Repetto et al., 2016). Esto favorece el desarrollo digestivo y tiene un impacto positivo en la producción futura del animal (Repetto et al., 2016).

En los sistemas de cría intensiva se suministra mayor cantidad de leche, relegando el consumo de concentrado, lo que retrasa el desarrollo del retículo-rumen. Sin

embargo, este sistema tiene como ventaja que las terneras logran consumir una mayor cantidad de energía y proteína bruta (Almeyda, 2013).

Khan et al. (2007) explican que aquellos terneros que consumen leche o lacto-reemplazante hasta el día 30 a razón de 20% de su peso vivo (razón que luego disminuye a 10%) consumen menos concentrado durante el primer mes; pero durante el segundo mes y después del desleche aumentan significativamente el consumo del mismo. Esto contrasta con los sistemas tradicionales de cría, en donde se les suministra entre 8% y 10% de su peso vivo en leche, cubriendo únicamente los requerimientos nutricionales de mantenimiento con un crecimiento moderado (NRC, 2001). La cría de animales en bajos planos de alimentación líquida, se realiza con el único objetivo de acelerar el pasaje de lactante a rumiante, lo que disminuye los costos de alimentación (Nielsen y Van de Haar, 2012 citado por Repetto et al., 2016).

En Uruguay prevalecen los sistemas tradicionales. De hecho, Schild (2017) en su tesis de maestría sobre la crianza en Uruguay indica que los animales son alimentados a razón de 4,5 lts. diarios de leche o sustituto lácteo en promedio, lo que representa aproximadamente entre 10% a 12% de su peso vivo.

Durante las primeras horas de vida el retículo es colonizado por bacterias, con lo que la densidad de la microflora en la fracción líquida del rumen alcanza concentraciones altas rápidamente. Las bacterias estrictamente anaerobias se vuelven predominantes al segundo día después de nacido (Fonty et al., 1989). Bajo condiciones naturales de alimentación, los terneros son criados por sus madres y empiezan a adquirir bacterias anaerobias de la misma, de sus pares mayores y del medioambiente (por ejemplo, de las pasturas contaminadas). En la cría artificial, la adquisición y el establecimiento del ecosistema ruminal anaerobio depende del tipo de alimento ofrecido, del alojamiento y del manejo. (Fonty et al., 1988; Beharka et al., 1998).

El establecimiento de la microbiota ruminal es necesaria para el desarrollo fisiológico del rumen y para convertir la materia vegetal en productos que van a ser utilizados en el mantenimiento y la producción (Jami et al., 2013). Gracias a la microbiota aerobia y a su consumo de oxígeno durante los primeros días de vida, el medio

ruminal se vuelve anaerobio permitiendo la actividad fermentativa dentro del rumen (Rey et al.,2012).

Una transición lenta de alimentación líquida a sólida permite a los terneros consumir y digerir suficiente alimento sólido para soportar el crecimiento durante y luego del destete. Esta transición requiere el desarrollo físico y metabólico del rumen, coincidiendo con el desarrollo de las glándulas salivales y con varios ajustes fisiológicos del intestino, hígado y a nivel tisular (Baldwin et al., 2004; Khan et al., 2011).

Los primeros microorganismos en establecerse son los lactogénicos, provenientes de pequeños pasajes de leche hacia el rumen. De esta manera, el pH ruminal se vuelve muy ácido para el desarrollo de los protozoos, lo que demora su colonización del rumen (Fonty et al.,1987 citado por Rey et al.,2012). Los lactantes adquieren estos microorganismos del consumo de pasturas o aguas contaminadas por animales adultos.

Existen diferentes especies de bacterias que se pueden clasificar en: celulíticas, amilolíticas, sacarolíticas, lactolíticas, lipolíticas, proteolíticas, metanógenas y ureolíticas. Cada uno de estos grupos presenta distintas características, funciones metabólicas y distintos rangos de pH, pero funcionan con un gran sinergismo dentro del rumen (Li et al., 2012). Jami et al. (2013) demostraron que, durante los primeros días de vida, en el rumen se encuentra una masa heterogénea de bacterias que con el paso del tiempo se vuelve más específica, en respuesta a los alimentos que llegan al rumen.

El animal inicia la rumia lentamente al ir aumentando su capacidad de masticación; a los 2 meses de edad alcanza el tamaño adecuado del bolo para una correcta digestión. El fin de la rumia es obtener el tamaño adecuado de las partículas de alimentos para que sean favorables al ataque microbiano.

La transición de prerumiante a rumiante implica cambiar, como principal suministro de energía, a la leche, absorbida en el intestino, (Baldwin et al., 2004 citado por Eckert et al., 2015) por los ácidos grasos volátiles, absorbidos y metabolizados en el epitelio ruminal (Montoro et al.,2013).

2.2. Actividad fermentativa ruminal

2.2.1. El pH ruminal

El rango fisiológico óptimo para el desarrollo de la microflora ruminal es entre 5,5 y 6,9, siempre condicionado por el tipo de dieta consumida. El pH ruminal depende de los elementos de la dieta y de los microorganismos que los fermenten en ese momento. Kristensen et al. (2007) demuestran que en aquellos animales que consumen más leche, el pH es mayor que en los que consumen menos leche durante las primeras dos semanas, pero no encuentran diferencias luego de ese período.

Como los productos finales de la fermentación, en su mayoría, son ácidos grasos volátiles, la concentración de éstos y su tasa de absorción son los que determinan el pH. En terneros lactantes en los primeros días de vida existe un pH cercano a la neutralidad. A medida que la actividad fermentativa comienza (a partir del día 2) el pH disminuye hasta los 2 meses de vida, donde se vuelve más ácido (con valores de 5,8) en consonancia con el aumento de la concentración de los ácidos grasos volátiles (Rey et al, 2012). El consumo de concentrados disminuye el pH, debiendo ser muy cautelosos a la hora de incluirlos en la dieta, ya que un exceso de éstos puede causar un descenso excesivo del pH y de la motilidad ruminal, así como también sobrecrecimiento y queratinización de las papilas, lo que tiene un efecto negativo en el largo plazo (Montoro et al.,2013). Cooper y Klopfenstein (1996) establecieron 5.6 y 5.2 como los valores de pH debajo de los cuales se considera acidosis subclínica y clínica respectivamente.

El pH ácido del rumen aumenta la tasa de absorción de los ácidos grasos volátiles. De hecho, el butírico se absorbe 3 veces más rápido que el acético (Noble,1998, citado por Bacha, 2015). Rey et al. (2012) señalan que un elemento a tener en cuenta a la hora de medir el pH ruminal es la saliva y su conocido efecto buffer. El consumo de forraje estimula la rumia, lo que aumenta la secreción y pasaje de la saliva al rumen. Esto contribuye a un aumento del pH ruminal, que puede alcanzar valores por encima de 6 (Castells 2013, Kim et al., 2016). Asimismo, y en menor medida, la producción de $\text{NH}_3\text{-N}$ aumenta el pH. Castells et al. (2013). Coverdale et al. (2004) y Suárez et al. (2007) reportan que, a mayor concentración de ácidos grasos volátiles, menor es el pH ruminal, pero esta correlación negativa es menor cuando se adhiere forraje a la dieta.

2.2.2. Metabolismo del nitrógeno en el rumen

Las fuentes de nitrógeno en la dieta incluyen el nitrógeno proteico y el no proteico (NNP). Dentro del primer grupo se encuentra la proteína verdadera y, en el segundo, los componentes de la célula vegetal (amidas, aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, aminas, nucleótidos) y la urea de la saliva. Este NNP es rápidamente usado por la microflora ruminal debido a su gran capacidad de difusión dentro del rumen. Las proteínas de la dieta son degradadas por la microflora ruminal hasta obtener compuestos más simples como péptidos, aminoácidos y amoníaco (NH_3) (Tan y Murphy, 2004).

La microflora ruminal obtiene gran parte del nitrógeno que utiliza gracias a su capacidad de reciclarlo dentro del rumen, en lugar de excretarlo en la orina (Marini et al., 2003). Rey et al. (2012) establecen que a partir del día 2 de vida hasta el día 10 se produce un aumento de $\text{NH}_3\text{-N}$ explicado por la proteólisis del calostro y la leche que pueden haber llegado al rumen, y a la posible descamación epitelial, sumado a la limitada capacidad de absorción por parte de las paredes del rumen. A partir del día 10 la concentración de amoníaco disminuye y se estabiliza, debido a un mayor desarrollo de las papilas y al aumento de la utilización de éste por parte de las bacterias para la síntesis proteica. Una vez que la capacidad de captación del amoníaco por parte de las bacterias se ve saturada, el exceso se absorbe a través de las paredes del rumen y llega, vía sanguínea, al hígado. En el hígado, el amoníaco es transformado en urea, la cual pasa al torrente sanguíneo, y a través de la saliva puede volver al rumen o bien puede ser excreta por la orina (Berends, 2014).

Los terneros alimentados con contenidos altos de nitrógeno en la dieta disminuyen la eficacia con la que éste es utilizado, excretando grandes cantidades en orina y materia fecal (Wilkerson et al., 1997 citado por Chapman, 2017). Terré et al. (2006), explican que la concentración de urea en plasma aumenta cuando se incrementa la relación proteína/energía en la dieta. Por lo tanto, reafirman la idea de que animales con alta proteína cruda en dieta no usan tan eficientemente el nitrógeno dietario como aquellos con baja proteína cruda en dieta. Díaz et al., (2001), sugiere que una dieta con determinados aminoácidos en su composición es más eficiente que la

cantidad de proteína en sí. Así, agregar determinados aminoácidos en la dieta lleva a mayores ganancias diarias de peso y a una mayor retención de nitrógeno.

La capacidad de reciclar urea se ve afectada en animales que son alimentados exclusivamente con lacto-reemplazante, debido al bajo desarrollo de la microflora ruminal (Garret et al. citados por Berends, 2014). Asimismo, a menor relación proteína/energía en la dieta o a mayores valores de urea en plasma, mayor es el pasaje de urea reciclada al rumen (Reynolds y Kristensen, citados por Berends, 2012). En terneros, entre 35% y 40% del nitrógeno es reciclado y el resto excretado en orina, por lo que sus valores en plasma suelen ser altos (2.94 mmol/l y 3.11 mmol/l dependiendo del plano alimenticio) (Terré et al., 2006). Entre 30% a 98% de la urea reciclada puede volver al aparato digestivo para ser hidrolizada por las bacterias y posteriormente ser usada en la síntesis de proteínas, las cuales serán absorbidas en el intestino (Berends et al., 2014).

2.2.3. Ácidos grasos volátiles

La evolución de los rumiantes los ha hecho capaces de transformar alimentos bajos en nutrientes en energía, a través de los procesos de fermentación ruminal (Van Soest citado por Marini et al., 2005). Los microorganismos presentes en el rumen utilizan estos alimentos para generar energía de manera anaerobia, teniendo como productos de desecho ácidos grasos de cadena corta. Estos ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) son la principal fuente energética de los rumiantes.

A partir del día 2 de vida ya es posible medir la producción de acetato y, a partir del día 3, las de propiónico y butírico (Rey et al., 2012). El butírico estimula el desarrollo de las papilas ruminales aumentando la superficie de absorción; el propiónico, por vía sanguínea, llega al hígado donde será precursor de la glucosa; y el acético, junto con el butírico, se convertirán en lípidos (Baldwin y McLeod, 2000). Hasta el día 10 de vida el propiónico es el que se encuentra en mayor proporción (80%) debido al bajo consumo de sólidos (Rey et al., 2012). Según Kristensen et al. (2007), los valores de ácidos grasos volátiles totales alcanzan su máximo en las semanas 3 y 4, y en la semana 2 ya se sitúan en los valores normales de una vaca lechera adulta (83-162 mMol/l). Suarez (2006), citado por Rey et al. (2012), concluye que aquellos terneros que consumen concentrado presentan un mayor desarrollo de las papilas

ruminales que aquellos que no lo consumen. Esto es consecuencia de la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), que aumentan hasta el mes de vida para luego estabilizarse. Chapman et al. (2017) reportan que los terneros deslechados antes de tiempo tuvieron mayor concentración de ácidos grasos volátiles totales en sangre, lo que se explica por el aumento en el consumo de concentrado al restringirles el acceso al alimento líquido.

3. HIPÓTESIS

Las terneras con planos de alimentación líquida alta durante la cría tendrán una menor actividad fermentativa ruminal en la etapa pre-desleche, como consecuencia de un menor consumo de concentrado. Sin embargo, estas diferencias no serán evidentes en las semanas siguientes al desleche.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Analizar la interacción entre la cantidad de lacto-reemplazante suministrado en la etapa pre-desleche y el plano de alimentación pos-desleche, sobre la actividad fermentativa ruminal.

4.2. Objetivos específicos

Evaluar la actividad fermentativa ruminal pre-desleche a través de la medición del pH ruminal y las concentraciones de N-NH₃, AGV y lactato.

Evaluar los efectos de la estrategia de alimentación pre- y pos-desleche sobre la actividad fermentativa ruminal en la etapa pos-desleche.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. El mismo se ubica en el km. 42,8 de la Ruta Nacional N° 1, San José, Uruguay (34° 41'08.0"S; longitud: 56°32'30.7" W).

5.1. Diseño experimental

Se utilizaron 32 terneras Holando de menos de una semana de vida y bien calostradas (proteínas totales en suero $\geq 8.4^\circ$ Brix; Deelen et al., 2014). Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por la Comisión de Experimentación y Uso Animal de la Facultad de Veterinaria de la UdelaR (Protocolo N° 69 CEUA-FVET).

Las terneras fueron bloqueadas por fecha de nacimiento y asignadas al azar a un programa nutricional alto (A) o medio (M) pre-desleche (día 7 a 56 de vida) y un programa nutricional alto (A) o medio (M) pos-desleche (días 57 a 147 de vida). De esta forma quedaron conformadas cuatro combinaciones de tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Esquema de tratamientos.

Etapa	Pre-desleche ¹		Desleche	Pos-desleche ²		
Semanas ³	2 a 6	7	8	9	10	11
Tratamientos	Alta n = 16		Desleche	AA ⁶ n=8		
				AM ⁷ n=8		
	Media n = 16			MA ⁶ n=8		
				MM ⁷ n=8		

¹ En la etapa pre-desleche las terneras recibieron concentrado de inicio ad libitum y sustituto lácteo según cada tratamiento. En el tratamiento "Alta" recibieron una cantidad equivalente al 20% del pe vivo (PV) inicial, mientras que en el tratamiento "Media" recibieron una cantidad equivalente al 10% del PV.

² En la etapa pos-desleche las terneras de cada tratamiento pre-desleche fueron divididas en dos grupos y alimentadas de acuerdo a cada tratamiento. Las terneras de los tratamientos AA y MA se les asignó una cantidad de alimento para lograr ganancias diarias de peso de 750 g/día, mientras que a AM y MM se les asignó una cantidad de alimento para lograr ganancias diarias de peso de 450 g/día.

³ Las muestras de líquido ruminal fueron tomadas en las semanas 7, 9 y 11 del experimento.

En el periodo pre-desleche y durante las semanas 9, 10 y 11 pos-desleche las terneras fueron alojadas individualmente en jaulas de 2,00 m x 1,00 m construidas sobre una base de madera a 20 cm del suelo, dentro de un galpón semicerrado. En

este periodo todas las terneras recibieron el mismo sustituto lácteo (dilución al 12% de MS/Litro) en baldes con tetina (a las 08:00 y 16:00 hs), en cantidades equivalentes al 20% (Alto= A) o 10% (Medio= M) del PV de las terneras al inicio del ensayo. Además del sustituto, todas las terneras tuvieron acceso *ad libitum* al concentrado de inicio desde la primera semana de experimento. Durante la semana 8 se realizó el desleche en forma gradual durante 6 días. En esta semana las terneras tuvieron acceso a 200 g de MS de heno por día. Luego del desleche las terneras fueron alimentadas con el mismo concentrado de inicio y heno picado. En todos los tratamientos fue ofrecido en igual proporción forraje/concentrado (50:50%). Ambos alimentos fueron suministrados en cantidades suficientes para lograr ganancias de PV de 700-800 g/d en los tratamientos AA y MA o 400-500 g/d en los tratamientos AM y MM, según las predicciones del software del NRC (2001) (Cuadro 1).

5.2. Composición química de los alimentos

Las muestras de alimentos fueron analizadas para determinar MS, cenizas, proteína bruta (N x 6,25), y extracto etéreo (métodos 934.01, 942.05, 955.04, y 920.39, respectivamente; AOAC, 2000;). La FND se realizó empleando α -amilasa termoestable y sulfato de sodio. La FAD se realizó en forma no secuencial (Van Soest et al., 1991) y tanto para la FND como para FAD se descontó el contenido de cenizas residuales (Licitra et al., 1996).

Cuadro 2. Composición química de los alimentos.

	Sustituto lácteo	Concentrado	Forraje
MS, %	91,9	92,0	90,8
PB, % MS	24,9	21,0	14,8
EE, % MS	20,1	2,2	1,4
FND, % MS	-	15,1	56,9
FAD, % MS	-	5,0	38,4
Cenizas, % MS	7,9	6,0	10,1
Lactosa ¹ , %MS	45,1	-	-
CNF ² , % MS	47,1	55,7	16,7
EM ^{3,4} , Mcal/kg MS	4,58	3,00	1,97

¹ Lactosa (% MS) = 100 - (EE % - PB % - cenizas % - 2).

² CNF (% MS) = 100 - (FND % + PB % + EE % + cenizas %).

³ EM del sustituto (Mcal/kg MS) = [(9.21 x EE %) + (5.86 x PB %) + (3.95 x Lactosa %)] x 0.93.

⁴ EM del concentrado y el forraje (Mcal/kg MS) = (1.01 x ED - 0.45) + [0.0046 x (EE - 3)].

La concentración de CNF fue calculada de acuerdo al NRC (2001). La concentración de lactosa del sustituto lácteo fue estimada de acuerdo a como lo sugiere Drackley (2008). La EM del sustituto fue calculada usando la ecuación reportada por Drackley (2008). La ME del concentrado de inicio y forraje fue calculada usando las ecuaciones del NRC (2001).

5.3. Mediciones y determinaciones

En periodo pre-desleche, el consumo de alimentos fue registrado cada día individualmente mediante la diferencia entre las cantidades ofrecidas y rechazadas. En la semana 7 de vida (pre-desleche) y durante las semanas 9 y 11 (pos-desleche) se colectaron muestras de líquido ruminal mediante sonda oro-esofágica de forma similar a como lo describe Terré et al. (2013) durante un solo día a las 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 horas.

El pH ruminal se determinó inmediatamente después de colectada la muestra. Una submuestra de 1800 µl líquido ruminal fue conservada con 200 µl de H₂SO₄ 3.6 M y congelada a -18°C para la posterior determinación de la concentración de NH₃-N, mediante la técnica Fenol-Hipoclorito (Weatherburn, 1967). Otra submuestra de 500 µl fue conservada con 500 µl de HClO₄ 0.1 M y congelada a -18°C para la posterior determinación de ácidos grasos volátiles (AGV; acetato, propionato y butirato) y ácido láctico, mediante HPLC (Adams et al., 1984). Los AGV y el ácido láctico fue determinado solamente en las muestras colectadas a las 08:00 y 12:00 h.

5.4. Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron utilizando el software SAS (University Edition, SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.). Primero, los datos se analizaron para detectar valores atípicos y verificar la normalidad de las variables mediante el PROC UNIVARIATE.

Los parámetros ruminales se analizaron en las semanas 7, 9 y 11. En todos los casos se consideró a la ternera como la unidad experimental (n = 32), pero en la semana pre- y pos-desleche se emplearon modelos diferentes. En el periodo pre-desleche se consideraron los efectos fijos del tratamiento (A o M), el horario de muestreo (08:00, 12:00; 16:00 y 20:00 h.) y la interacción entre ambas variables. El bloque fue considerado como un efecto aleatorio.

En el periodo pos-desleche se empleó el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + PRE_i + HORA_j + (PRE \times HORA)_{ij} + B_k + e_{ijkl},$$

Y_{ijkl} es la variable en estudio, μ es la media general, PRE_i es el efecto fijo del tratamiento pre-desleche ($i = \text{Alto o Medio}$), $HORA_j$ es el efecto fijo de la hora de muestreo ($j = 08:00, 12:00; 16:00 \text{ y } 20:00 \text{ h.}$), $PRE_i \times HORA_j$ es la interacción entre el tratamiento pre-desleche y la hora de medición, B_k es el efecto aleatorio del bloque ($k = 1-8$) y e_{ijkl} es la sumatoria de errores.

En el periodo pos-desleche se empleó el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + PRE_i + POS_j + SEM_k + (PRE \times POS)_{ij} + (PRE \times POS \times SEM)_{ijk} + B_l + e_{ijklm},$$

Y_{ijkl} es la variable en estudio, μ es la media general, PRE_i es el efecto fijo del tratamiento pre-desleche ($i = \text{Alto o Medio}$), POS_j es el efecto fijo del tratamiento pos-desleche ($j = \text{Alto o Medio}$), SEM_k es el efecto fijo de la semana pos-desleche de medición ($k = 9 \text{ y } 11$), $PRE_i \times POS_j$ es la interacción entre el tratamiento pre- y pos-desleche, $PRE_i \times POS_j \times SEM_k$ es la interacción entre los tratamientos pre-desleche, pos-desleche y la semana de medición, B_k es el efecto aleatorio del bloque ($k = 1-8$) y e_{ijkl} es la sumatoria de errores. Inicialmente se incluyó la hora de muestreo en el modelo, pero no se detectó efecto de la hora de muestreo en la etapa pos-desleche y se quitó dicho efecto del modelo.

En todos los casos las medias se compararon con el test de Tukey y se declararon diferencias significativas cuando $P \leq 0,05$ y tendencias cuando $0,05 < P \leq 0,10$. A menos que se aclare algo distinto, en todos los casos, los valores se presentan como las medias de los mínimos cuadrados \pm el error estándar de la media (EEM).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Parámetros ruminales pre-desleche

En la semana 7 (pre-desleche), se encontraron diferencias significativas en el pH ruminal entre tratamientos ($P = 0,036$; Cuadro 3). Pero no fueron detectadas diferencias significativas en las concentraciones ruminales de $\text{NH}_3\text{-N}$, acético, propiónico, butírico y AGV totales (Cuadro 3).

Cabe destacar que las medias diarias de pH encontradas en ambos tratamientos (5,5 y 5,3 para los tratamientos Alto y Medio respectivamente), son sensiblemente más bajas a las reportadas previamente en trabajos similares (6,2 reportado por Silper et al., 2014; 6,3 reportado por Terré et al., 2013). De hecho, estos valores se encuentran en rangos de acidosis ruminal subclínica, que según Cooper y Klopfenstein (1996) es considerada cuando el pH ruminal es $< 5,6$ en bovinos adultos.

Cuadro 3. Parámetros ruminales en la semana 7 de vida de terneras Holando para los tratamientos alto y medio.

Ítem	Tratamiento ¹		EEM	<i>P</i> -valor ²		
	Alto	Medio		Pre	Hora	Pre x Hora
pH ruminal	5,5	5,3	0,07	0,036	$< 0,01$	0,838
pH ruminal mínimo ³	5,1	4,9	0,08	0,035	-	-
$\text{NH}_3\text{-N}$, mg/dl	14,6	11,8	1,26	0,083	0,221	0,347
Acético, mmol/l	65,6	61,9	5,91	0,488	0,229	0,065
Propiónico, mmol/l	39,0	40,9	4,93	0,780	0,407	0,531
Butírico, mmol/l	14,1	17,7	2,05	0,157	0,692	0,370
AGV totales ⁴ , mmol/l	120,1	122,0	11,34	0,857	0,219	0,430
Ácido Láctico, mmol/l	27,7	16,5	3,87	0,014	0,051	0,387

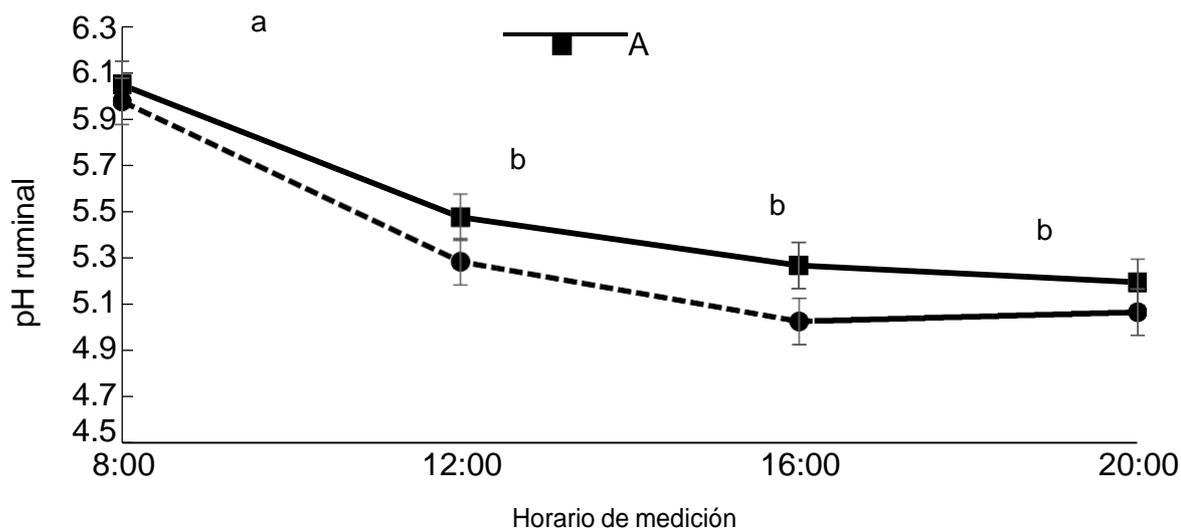
¹ Alto: cría con lactoreemplazante a razón de 20% de PV inicial; Medio: cría con lactoreemplazante a razón de 10% de PV inicial.

² Pre: efecto del tratamiento Pre-desleche (A o M); Hora: efecto de la hora de medición (08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h. para el pH y $\text{NH}_3\text{-N}$; 08:00 y 12:00 h. para los demás parámetros); Pre x hora: interacción entre el tratamiento y la hora de medición.

³ pH ruminal mínimo: se consideró el valor de pH ruminal más bajo determinado en cada ternera.

⁴ Ácidos grasos volátiles (AGV) = Acético + Propiónico + Butírico.

Además, se detectó efecto de la hora de muestreo sobre el pH ruminal ($P \leq 0,05$), pero sin interacción tratamiento x hora (Cuadro 3). En ambos tratamientos el pH ruminal fue mayor en la primera medición (08:00 horas) y no hubo diferencias significativas entre las siguientes horas de medición (Figura 1).



Fueron detectadas diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$) en los valores mínimos diarios de pH ruminal, siendo en el tratamiento Medio donde se encontraron los valores mínimos más bajos. Estos valores están por debajo del límite de acidosis clínica (5,2 según Cooper y Klopfenstein, 1996) y son similares a los reportados en un trabajo en el que se formularon dietas específicas para inducir acidosis ruminal en terneros en la etapa pre-desleche (Gelsinger et al., 2020). Es posible que los valores de pH ruminal encontrados en este trabajo pudieran ser aun menores. Esto, debido a que se ha reportado que el uso de sonda oro-esofágico para obtener muestras de líquido ruminal arroja mediciones de pH mayores como consecuencia de contaminación con saliva (Terré et al., 2013).

El efecto del tratamiento sobre los valores mínimos de pH ruminal, podrían ser explicados por una actividad fermentativa ruminal más intensa y una mayor producción de AGV (Kristensen et al., 2007; Terré et al., 2006) como consecuencia del mayor consumo de concentrado encontrada en el tratamiento Medio. De hecho, en este experimento se encontraron diferencias en el consumo de concentrado desde la segunda semana de vida (dichos datos son analizados en otro trabajo). Sin embargo, no fueron detectadas diferencias significativas en las concentraciones de AGV totales (Cuadro 3) ni en sus cantidades relativas.

En base a los resultados de este trabajo, se debería tener en cuenta los bajos valores de pH ruminal en terneros sin acceso a fuentes de fibra larga en la etapa pre-desleche, ya que esto podría tener consecuencias negativas sobre el desarrollo de la microbiota y el epitelio ruminal. El acceso a forraje (Castells et al., 2012 y 2013) o concentrados texturizados (Terré et al., 2015) con cierto porcentaje de granos enteros, contribuyen a evitar valores de pH ruminal en el rango de acidosis clínica y subclínica.

No se detectó efecto de la hora de medición ni interacción tratamiento por hora en las concentraciones promedio de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal (Cuadro 3), estos valores son algo mayores a los reportadas en trabajos previos realizados con terneros (7,68 mg/dl Lesmeister y Heinrichs, 2004; 11,41 mg/dl Kristensen et al., 2007 y 11,36 mg/dl Silper et al., 2014). Tales diferencias pueden ser atribuidas a varios factores, pero uno de los principales puede ser los diversos horarios de muestreos empleados en cada experimento.

Con respecto a las concentraciones ruminales de $\text{NH}_3\text{-N}$ en la etapa pre-desleche, se detectó una tendencia a una mayor concentración en el tratamiento Alto ($P = 0,08$; Cuadro 3). Un trabajo realizado en terneros, reportan que se observa actividad proteolítica ruminal desde los primeros días de vida, especialmente cuando estos tienen acceso a alimentos sólidos (Rey et al., 2012). En base a esto, se esperaba que las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ fueran mayores en las terneras M, que consumían una mayor cantidad de alimentos sólidos desde la segunda semana de vida.

Sin embargo, las concentraciones ruminales de $\text{NH}_3\text{-N}$ en un determinado momento están dadas no solo por la degradación de las proteínas del alimento, sino que también por la utilización que realiza la microbiota ruminal y por la absorción de este a través del epitelio ruminal, entre otros factores (Kozloski, 2011). Otra posible explicación es que las terneras del tratamiento A, pudieran tener una menor cantidad de bacterias capaces de utilizar el $\text{NH}_3\text{-N}$, o una menor capacidad de absorber el $\text{NH}_3\text{-N}$ a través del epitelio ruminal, generando de esta forma concentraciones mayores. También es posible que las terneras del tratamiento M tenían más energía disponible para usar ese $\text{NH}_3\text{-N}$ disminuyendo su concentración en rumen. Pero a

partir de las mediciones realizadas en este trabajo, no podemos profundizar en este punto para establecer las causas.

Contrariamente a lo esperado, no se detectaron diferencias significativas en las concentraciones de AGV entre tratamientos, a pesar de encontrar diferencias significativas en el pH ruminal (Cuadro 3). No obstante, se debe considerar que la concentración de AGV determinada en un momento dado, no solo depende de la producción de AGV, sino de otros factores como la tasa de pasaje y la absorción de AGV a través del epitelio ruminal (Kozloski, 2011; Rey et al, 2012).

Como se comentó anteriormente, Terré et al. (2013) reportan que el método de colecta afecta las mediciones de pH y AGV que se realizan en el líquido ruminal. El muestreo mediante sonda oro-esofágica genera mayores valores de pH ruminal y menores concentraciones de AGV en comparación con las obtenidas a través de cánula ruminal. Esto se produce debido a el pH alcalino de la saliva que generaría un aumento en el pH del líquido ruminal al producirse la mezcla, mientras que generaría un efecto de dilución y una aparente reducción de las concentraciones de AGV. Asimismo, en dicho trabajo se menciona que ambos métodos pueden ser comparables entre sí cuando el número de animales muestreados es mayor a 28 por tratamiento.

La concentración de ácido láctico fue significativamente mayor en el tratamiento A que en el tratamiento M ($P < 0,05$; Cuadro 3). Una posible explicación a esto podría ser la fermentación láctica de la leche en el rumen como consecuencia del reflujo de leche desde el abomaso al rumen o el cierre deficiente de la gotera esofágica. Algunos autores sostienen que el cierre de la gotera esofágica es muy eficiente y que solo escaparía entre 3-5% de la leche ingerida (Davis y Drackley, 2002). En este sentido, Gelsing et al. (2020) atribuyen la caída de pH al aumento de ácido láctico en rumen, el cual en su experimento se produjo a las 2 horas de la ingesta de alimento líquido.

A pesar de esta posible explicación, en este trabajo se encontró que las concentraciones de ácido láctico tendieron a ser mayores ($P = 0,051$) en ambos tratamientos, antes de la ingesta de leche de la mañana (08:00 hora). Por lo tanto, parece poco probable, que el ácido láctico encontrado pudiera ser el resultado del reflujo de leche o al cierre deficiente de la gotera esofágica, ya que, la ingesta de

leche previa se había producido antes del muestreo. Es posible, que estos hallazgos estén más relacionados a desequilibrios en la actividad fermentativa ruminal o al poco desarrollo de la microbiota ruminal más que al ingreso de leche al rumen.

6.2. Parámetros ruminales pos-desleche

No se detectó efecto del tratamiento pre-desleche ni pos-desleche sobre el pH ruminal determinado pos-desleche (Cuadro 4). Tampoco fueron detectadas diferencias en el pH ruminal entre las diferentes combinaciones de tratamientos, lo que se refleja en la ausencia de interacción en los tratamientos aplicados en estos periodos (Cuadro 4). Independientemente de la combinación de los tratamientos pre- y pos-desleche, el pH ruminal promedio en la semana 9 fue significativamente inferior que en la semana 11 ($5,2$ vs. $5,8 \pm 0,14$; $P < 0,01$).

No se encontró efecto del tratamiento, así como tampoco efecto de la interacción entre los tratamientos pre-desleche y pos-desleche sobre el pH ruminal mínimo (Cuadro 4). Sin embargo, se detectó efecto de la semana y efecto de la interacción de los tratamientos pre-desleche, pos-desleche y semana de medición ($P = 0,013$) sobre esta variable. El pH ruminal mínimo fue mayor en la semana 11 que en la 9, en las combinaciones AA, AM y MM, pero no en la combinación MA (Figura 2).

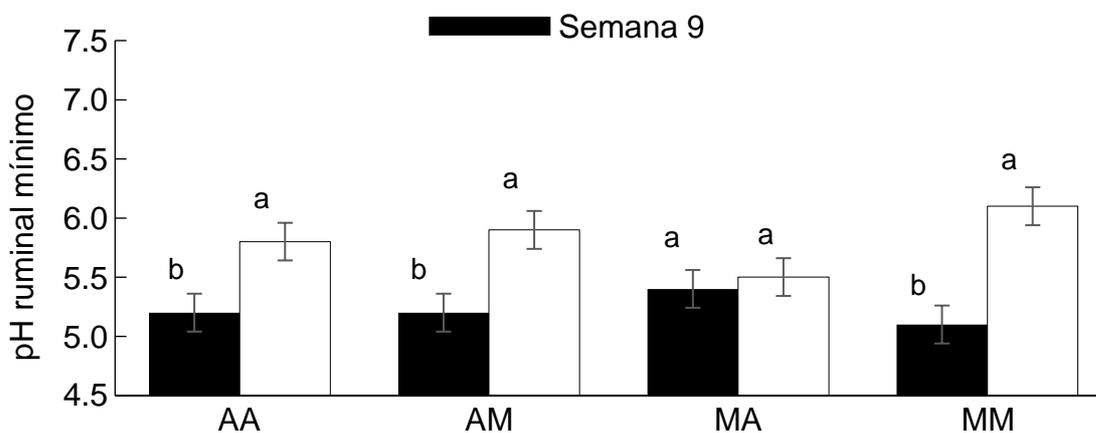


Figura 2. Valores de pH ruminal mínimo (media \pm EEM) en las semanas 9 y 11 de vida (pos-desleche) de terneras Holando en las diferentes combinaciones de tratamientos de cría y recría.

AA=terneras con combinación de tratamientos cría Alta+ recría Alta.

AM= terneras con combinación de tratamientos cría Alta+ recría Media.

MA= terneras con combinación de tratamientos cría Media+ recría Alta.

MM= terneras con combinación de tratamientos cría Media+ recría Media.

Letras diferentes (a, b) para un mismo tratamiento (AA, AM, MA, MM) indican diferencias significativas entre semanas (9 y 11) en ese tratamiento.

Se encontró efecto del tratamiento pre-desleche ($P \leq 0,01$) sobre las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminales pos-desleche y no se encontraron otros efectos sobre esta variable. En ambas semanas las terneras AA y AM tienen mayor concentración que las terneras MA y MM. Estos resultados coinciden con la tendencia a una mayor concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal encontrada en la etapa pre-desleche (Cuadro 3). Algunos trabajos reportan que durante la etapa pre-desleche las concentraciones ruminales de $\text{NH}_3\text{-N}$ suelen ser elevadas debido a la actividad proteolítica bacteriana que actúa sobre la leche que puede llegar al rumen, a la digestión de células de descamación de los epitelios y a la limitada capacidad de absorción del epitelio del rumen (Rey et al., 2012). Este último aspecto, podría sugerir que las terneras que estuvieron en el tratamiento A pre-desleche, podrían tener una menor capacidad de absorber el $\text{NH}_3\text{-N}$ a través del epitelio ruminal durante las primeras semanas pos-desleche como consecuencia de un menor desarrollo del epitelio ruminal.

No se detectó efecto del tratamiento pre-desleche sobre las concentraciones ruminales de acético, propiónico, butírico ni AGV totales en el periodo pos-desleche (Cuadro 4). Sin embargo, se detectó un efecto del tratamiento pos-desleche en las concentraciones de propiónico y AGV totales. Los tratamientos AA y MA tuvieron mayores valores que los tratamientos MM y AM para las concentraciones promedio de propiónico (35 vs. 29 mmol/L, $P = 0,02$) y AGV totales (113 vs. 93 mmol/L, $P = 0,04$) durante el periodo pos-desleche.

Cuadro 4. Parámetros ruminales en las semanas 9 y 11.

Item	Semana 9 ¹					EEM	Semana 11 ¹					EEM	P- valor				
	AA	AM	MA	MM			AA	AM	MA	MM			Pr ³	Po ⁴	Pr x Po ⁵	Sem ⁶	Pr x Po x Sem ⁷
pH ruminal	6,4	6,3	6,6	6,4	0,14	6,7	6,7	6,5	6,9	0,14	0,703	0,681	0,267	< 0,01	0,136		
pH ruminal mínimo	5,2	5,2	5,4	5,1	0,16	5,8	5,9	5,5	6,1	0,16	0,979	0,366	0,614	< 0,01	0,013		
NH ₃ -N, mg/dl	15,2	14,8	10,9	13,2	1,75	15,2	14	11,2	12,8	1,8	< 0,01	0,656	0,23	0,817	0,961		
Acético, mmol/l	48,4	52,9	66,9	53,3	8,18	71,2	48,6	60	56,6	8,08	0,479	0,141	0,964	0,497	0,093		
Propiónico, mmol/l	30	30,7	38,4	33,6	3,75	40,2	22,4	30,9	27,7	3,94	0,498	0,022	0,39	0,294	0,07		
Butírico, mmol/l	9,8	10,9	14,4	13,1	3,26	22,4	11,7	17,7	12,5	3,26	0,748	0,09	0,725	0,064	0,355		
AGV , mmol/l ²	89	94,4	121	100	13,42	135	82,2	109	96,3	13,42	0,491	0,036	0,716	0,63	0,083		
Ácido láctico mmol/l	7,0	17,5	18,2	26,4	5,12	4,8	4,9	4,3	5,5	5,33	0,129	0,181	0,932	< 0,01	0,785		

¹AA y MA: recría con ganancias diarias de 750 grs/día. AM y MM: recría con ganancias diarias de 450 grs/día.

²AGV totales= Acético + Propiónico + Butírico.

³Pr: efecto del tratamiento pre-desleche.

⁴Po: efecto del tratamiento pro-desleche.

⁵Pr x po: interacción entre tratamientos pre-desleche y pos-desleche.

⁶Sem: efecto de la semana de medición.

⁷Pr x Po x Sem: interacción entre los tratamientos pre-, pos- y la semana de medición.

7. CONCLUSIÓN

La cantidad de sustituto lácteo afecta la actividad fermentativa ruminal pre-desleche, pero tiene limitado impacto luego del desleche.

No se encontró evidencia que permitan suponer que las terneras alimentadas con una mayor cantidad de sustituto lácteo tengan un menor desarrollo ruminal en las semanas siguientes al desleche.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Adams RF, Jones RL, Conway PL (1984) High-performance liquid chromatography of microbial acid metabolites. *J Chromatogr.* 336:125–137.
- Almeyda J (2013) Manejo y alimentación de animales de reemplazo en la crianza de vacunos para producción de leche. Disponible en: <https://www.engormix.com/MAGanaderia-leche/nutricion/articulos/manual-manejo-alimentacion-vacunos-t4664/141-p0.hRM>. Fecha de consulta: 15/04/20
- AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, MD, USA. 2200 pp.
- Bacha F, Villamide MJ (2015) Nutrición y alimentación de terneros jóvenes. XLIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, 11 y 12 de junio, p. 85-97.
- Balcells J, Guada JA, Peiró JM (1992) Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography.* 575:153-7.
- Baldwin RL VI, McLeod KR, Klotz JL, Heitmann RN (2004) Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. *J. Dairy Sci.* 87(E Suppl.):E55–E65.
- Baldwin RL y McLeod KR (2000) Effects of diet forage:concentrate ratio and metabolizable energy intake on isolated rumen epithelial cell metabolism in vitro. *J. Anim. Sci.* 78: 771–783.
- Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL, Kennedy GA, Klemm RD (1998) Effects of form of the diet on anatomical, microbial and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81:1946–1955.
- Beiranvand H, Ghorbani GR, Khorvash M, Nabipour A, Dehghan-Banadaky M, Homayouni A, Kargar S (2014) Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *J. Dairy Sci.* 97: 2270–2280.
- Berends H, Joost JGC, van den Borne BA, van Baal RJ, Gerrits WJJ (2014) Urea Recycling Contributes to Nitrogen Retention in Calves Fed Milk Replacer and Low-Protein Solid Feed. *Journal of Nutrition* 144:1043–1049.

- Berends H, Van Reenen CG, Stockhofe N, Gerrits WJJ (2012) Effects of early rumen development and SF composition on growth performance and abomasal health in veal calves. *J. Dairy Sci.* 95:3190–3199.
- Castells L, Bach A, Araujo G, Montoro C, Terré M (2012) Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *Journal of Dairy Science* 95, 286–293.
- Castells L, Bach A, Aris A, Terré M (2013) Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *J. Dairy Sci.* 96 :5226–5236.
- Chapman CE, Erickson PS, Quigley JD, Hill TM, Bateman II HG, Suarez-Mena F X, Schlotterbeck RL (2017) Effect of milk replacer program on calf performance and digestion of nutrients with age of the dairy calf. *J. Dairy Sci.* 99:2740–2747.
- Church DC (1979). *Digestive physiology and nutrition of ruminants. Volume 2. Nutrition (No. Ed. 2) USA (Oregon)*, O & B Books, Inc, 452pp.
- Cooper R, Klopfenstein T (1996) Effect of rumensin and feed intake variation on ruminal pH. *Scientific Update on Rumensin/ Tylan/Micotil for the Professional Feedlot Consultant*. Greenfield, Elanco Animal Health, P. A1–A14.
- Coverdale, J A, Tyler HD, Quigley III JD, Brumm JA (2004) Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *J. Dairy Sci.* 87:2554–2562.
- Davis CL, Drackley JK (2002) *Desarrollo, nutrición y manejo del ternero joven*. Buenos Aires, Inter-Médica, 314 p.
- De Paula MR, Oltramari CE, Silva JT, Gallo MPC, Mourão GB, Bittar CMM (2017) Intensive liquid feeding of dairy calves with a medium crude protein milk replacer: Effects on performance, rumen, and blood parameters. *J. Dairy Sci.* 100:4448–4456.
- De Trinidad S (2014) *Alimentación diferencial durante la etapa lactante en terneras Holstein: efectos inmediatos y residuales sobre el crecimiento, desarrollo corporal y pubertad*. Tesis de Posgrado, Facultad de Veterinaria, UdelaR, 69p.

- Deelen SM, Ollivett TL, Haines DM, Leslie KE (2014) Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3838-3844.
- Diaz MC, Van Amburgh ME, Smith JM, Kelsey JM, Hutten EL (2001) Composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. *J. Dairy Sci.* 84 (830).
- Drackley JK (2008) Calf nutrition from birth to breeding. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24:55–86
- Eckert E, Brown HE, Leslie KE, DeVries TJ, Steele MA, (2015) Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.* 98:6315–6326.
- Fonty G, Gouet P, Nebout JM (1989) Development of the cellulolytic microflora in the rumen of lambs transferred into sterile isolators a few days after birth. *Can. J. Microbiol.* 35:416–422.
- Fonty G, Gouet P, Ratefiarivelo H, Jouany JP (1988) Establishment of *Bacteroides succinogenes* and measurement of the main digestive parameters in the rumen of gnotoxenic lambs. *Can. J. Microbiol.* 34:938–946.
- Gelsinger SL, Coblenz WK, Zanton GI, Ogden RK, Akins MS (2020) Physiological effects of starter-induced ruminal acidosis in calves before, during, and after weaning. *Journal of Dairy Science*, 103(3):2762-2772.
- Gelsinger SL, Heinrichs AJ, Jones CM (2016) A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance. *Journal of Dairy Science*, 99(8): 6206-6214.
- Hill SR, Knowlton KF, Daniels KM, James RE, Pearson RE, Capuco AV, Akers RM (2008) Effects of milk replacer composition on growth, body composition, and nutrient excretion in preweaned Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 91(8): 3145-3155.
- Hill TM, Bateman HG, Aldrich JM, Schlotterbeck RL (2010). Effect of milk replacer program on digestion of nutrients in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 93:1105–1115.
- Jami E, Israel A, Kotser A, Mizrahi I (2013) Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *The ISME Journal* 7:1069–1079.

- Kertz AF, Hill TM, Quigley JD, Heinrichs AJ, Linn JG, Drackley JK (2017) A 100-Year Review: Calf nutrition and management. *Journal of Dairy Science* 100:10151–10172.
- Khan M, Bach A, Weary DM, von Keyserlingk MAG (2016) Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 99: 885 – 902.
- Khan MA, Lee HJ, Lee WS, Kim HS, Kim SB, Ki KS, Ha JK, Lee HG, Choi YJ (2007) Pre- and postweaning performance of Holstein female calves fed milk through step-down and conventional methods. *Journal of Dairy Science*, 90:876 – 885.
- Khan MA, Weary DM, von Keyserlingk MAG (2011) Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake weaning, and performance in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 94:1071 – 1081.
- Kim YH, Nagata R, Ohtani N, Ichijo T, Ikuta K, Sato S (2016) Effects of dietary forage and calf starter diet on ruminal pH and bacteria in Holstein calves during weaning transition. *Front. Microbiol.* 7:1575.
- Kozloski GV (2009) Metabolismo de los compuestos nitrogenados. En: Kozloski GV *Bioquímica dos Ruminantes*. 2ª ed. Santa Maria, Ed UFSM, pp 85-92.
- Kristensen NB, Sehested J, Jensen SK, Vestergaard M (2007) Effect of Milk Allowance on Concentrate Intake, Ruminal Environment, and Ruminal Development in Milk-Fed Holstein Calves. *J. Dairy Sci.* 90:4346–4355.
- Lesmeister KE, Heinrichs AJ (2004) Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 87:3439–3450.
- Li RW, Connor EE, Li C, Baldwin Vi RL, Sparks ME (2012) Characterization of the rumen microbiota of preruminant calves using metagenomic tools. *Environ. Microbiol.* 14: 129-139.
- Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ (1996) Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57:347–358.
- Marini JC, Van Amburgh ME (2005) Partition of Nitrogen Excretion in Urine and the Feces of Holstein Replacement Heifers. *J. Dairy Sci.* 88:1778–1784.

- MGAP (2018) Anuario Estadístico Agropecuario 2018. Oficina de Estadísticas Agropecuarias (DIEA) del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Disponible en: https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2018/Anuario_2018.pdf
Fecha de consulta: 05/06/2020.
- Montoro C, Miller-Cushon EK, DeVries TJ, Bach A (2013) Effect of physical form of forage on performance, feeding behavior, and digestibility of Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 96:1117–1124.
- NRC (2001) Nutrient requirements of dairy cattle. 7a. ed. Washington, National Academy Press, 381p.
- Quigley JD, Wolfe TA, Elsasser TH (2006) Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *Journal of Dairy Science*, 89(1): 207–216.
- Quigley, J.D., Hill, T.M., Dennis, T.S., Suarez-Mena, F.X., Schlotterbeck, R.L., (2018) Effects of feeding milk replacer at 2 rates with pelleted, low-starch or texturized, high-starch starters on calf performance and digestion. *J. Dairy Sci.* 101:5937–5948.
- Repetto JL (2016) Nuevos paradigmas en la cría y recría de hembras lecheras. XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría, 9 y 10 de junio, Paysandú, Uruguay. P. 34-41.
- Repetto JL, Mendoza A, Antúnez G, Cajarville C (2016) Nuevos paradigmas en la Cría y Recría de Hembras lecheras. Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p.34-41.
- Rey M, Enjalbert F, Monteils V (2012) Establishment of ruminal enzyme activities and fermentation capacity in dairy calves from birth through weaning. *J. Dairy Sci.* 95:1500–1512.
- Schäff CT, Gruse J, Maciej J, Pfuhl R, Zitnan R, Rajskey M, Hammon HM (2018) Effects of feeding unlimited amounts of milk replacer for the first 5 weeks of age on rumen and small intestinal growth and development in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 101:783–793.
- Schild C (2017) Caracterización de los sistemas de crianza y parto y estimación de tasas de mortalidad de terneros y abortos vistos en

establecimientos lecheros de Uruguay. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República, 107p.

- Silper BF, Lana AMQ, Carvalho AU, Ferreira CS., Franzoni APS, Lima, JAM, Saturnino HM, Reis RB, Coelho SG (2014) Effects of milk replacer feeding strategies on performance, ruminal development, and metabolism of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(2):1016-1025.
- Suárez BJ, Van Reenen CG, Stockhofe N, Dijkstra J, Gerrits WJJ (2007) Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *J. Dairy Sci.* 90:2390–2403.
- Svensson C, Hultgren J (2008) Associations between housing, management, and morbidity during rearing and subsequent first-lactation milk production of dairy cows in southwest Sweden. *Journal of Dairy Science* 91(4): 1510–8.
- Tan Z, Murphy MR (2004) Ammonia production, ammonia absorption, and urea recycling in ruminants. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13: 389–404.
- Tas BM, Susenbeth A (2007) Urinary purine derivatives excretion as an indicator of in vivo microbial N flow in cattle: A review. *Livestock Science* 111: 181–192.
- Terré M, Bach A, Devant M (2006) Performance and behaviour of calves reared in groups or individually following an enhanced-growth feeding programme. *Journal of Dairy Research* 73:480–486.
- Terré M, Castells LI, Khan MA, Bach A (2015). Interaction between the physical form of the starter feed and straw provision on growth performance of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 98(2):1101-1109.
- Terré M, Pedrals E, Dalmau A, Bach A (2013) What do preweaned and weaned calves need in the diet: A high fiber content or a forage source?. *Journal of Dairy Science*, 96(8):5217-5225.
- Van Soest P (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2a Ed. Ithaca, Cornell University Press, 476 p.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597.

- Warner RG, Flatt WP, Loosli JK (1956) Dietary factors influencing the development of the animal's stomach. *J. Agric. Food Chem.* 4:788–792.
- Weatherburn MW (1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8):971-974.