UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

“AL MOMENTO DEL DESLECHE, ¿SE OBSERVAN DIFERENCIAS ANATÓMICAS EN EL ABOMASO DE TERNEROS HOLANDO MANTENIDOS EN UN SISTEMA DE CRÍA ACELERADA Y ALIMENTADOS CON HENO O CONCENTRADO EN LA ETAPA DE LACTANTE?”

“por”

Josefina ESCARDÓ AZCONEGUI
Lucia LÓPEZ BIDONDO

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias

Orientación: Higiene, Inspección-Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2023

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Presidente de mesa: DCV., MSc., Germán Antúnez Tort

Segundo miembro (Tutor): DCV., MSc., Noelia Vazquez

Tercer miembro: DCV., Nicolás Amaro

Fecha: 4 de agosto de 2023

Autores:

Bach. Josefina Escardó Azconegui

Bach. Lucía López Bidondo

AGRADECIMIENTOS

- A nuestras familias y amigos, por el apoyo brindado todos estos años
- A nuestra tutora la Dra. Noelia Vazquez
- A nuestros compañeros de la carrera, por hacer más ameno nuestro transitar en la misma.
- A los docentes y funcionarios de la facultad, que colaboraron con todo este proceso.

Tabla de contenido

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN **2**
AGRADECIMIENTOS **3**
1. LISTA DE FIGURAS **5**
2. LISTA DE TABLAS **7**
3. RESUMEN **8**
4. SUMMARY **9**
5. INTRODUCCIÓN **10**
5.1 La alimentación de los rumiantes 11
5.2. Abomaso 14
6. HIPÓTESIS **18**
7. OBJETIVOS **19**
7.1 Objetivo General: 19
Determinar el efecto de la inclusión de concentrado o forraje a una dieta basada en sustituto lácteo sobre el desarrollo morfológico del abomaso en terneros lactantes. 19
7.2 Objetivos Particulares: 19
8. MATERIALES Y MÉTODOS **20**
8.1 Animales y dietas utilizadas 20
8.2. Eutanasia 22
8.3. Métodos de estudio 22
8.4. Colecta y procesamiento de muestras para Microscopía Electrónica de Barrido 22
8.5. Análisis estadístico 23
9. RESULTADOS **24**
10. DISCUSIÓN **31**
11. CONCLUSIONES **32**
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **33**

1. LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Comparación de estómago de un ternero recién nacido con el de un adulto…….. **12**

Figura 2. Superficie mucosa del estómago…….**15**

Figura 3. Glándulas fúndicas (gástricas)..... **16**

Figura 4. Abomaso de un ternero Holando alimentado con forraje y sustituto lácteo…….. **24**

Figura 5. Abomaso de un ternero Holando alimentado con concentrado y sustituto lácteo…….. **25**

Figura 6. Efecto de las dietas sobre los pesos del abomaso lleno en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día…… **26**

Figura 7. Efecto de las dietas sobre los pesos del abomaso vacío en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día…… **26**

Figura 8. Efecto de las dietas sobre la curvatura menor del abomaso en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día…… **27**

Figura 9. Efecto de las dietas sobre la curvatura mayor del abomaso en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día…… **27**

Figura 10. Mucosa del estómago de un ternero alimentado con heno y sustituto lácteo (izquierda) y de uno alimentado con concentrado y sustituto lácteo (derecha). 1: Región pilórica; 2: Torus pilórico; 3: Cuerpo; 4: Fondo; 5: Pliegues abomasales; 6: Pliegues espirales…… **28**

Figura 11. Fondo del abomaso. A. Microscopía electrónica de barrido del fondo del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. B. Microscopía electrónica de barrido del fondo del abomaso a 450x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo…….. **30**

Figura 12. Pliegues abomasales. A. Microscopía electrónica de barrido de los pliegues del abomaso a 220x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. B. Microscopía electrónica de barrido de los pliegues del abomaso a 220x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo……..**30**

Figura 13. Cuerpo del abomaso. A. Microscopía electrónica de barrido del cuerpo del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. B. Microscopía electrónica de barrido del cuerpo del abomaso a 450x de terneros

alimentados con forraje y suplemento lácteo…….. **30**

Figura 14. Región pilórica del abomaso. A. Microscopía electrónica de barrido de la región pilórica del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. B. Microscopía electrónica de barrido de la región pilórica del abomaso a 450x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo…….. **31**

2. LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Composición química de los alimentos utilizados para alimentar a los terneros durante el experimento…… **21**

Tabla 2. Efecto de las dietas a nivel de microscopía electrónica de barrido en las diferentes regiones de la mucosa del abomaso (fondo, cuerpo, pliegues abomasales y región pilórica) en terneros Holando alimentados con con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día……..... **29**

3. RESUMEN

Los terneros en las primeras semanas de vida su digestión se asemeja a la de un monogástrico, siendo el abomaso el principal órgano encargado de la digestión de la leche, por esta razón el rumen-retículo no están desarrollados desde el punto de vista funcional. Actualmente los sistemas productivos ganaderos están constantemente en investigación para poder intensificar el desarrollo de los terneros mediante el manejo y nutrición de los mismos. Se está planteando como alternativa un sistema de crianza intensivo para lograrlo eficazmente. Es conocido que el tipo, cantidad y calidad de la dieta pueden afectar el desarrollo del aparato digestivo. Aunque un estudio realizado en terneros demostró que solo el omaso mostraba cambios cuantitativos en su desarrollo. Por lo que la hipótesis de este trabajo es que a los 60 días de vida no se observarán diferencias en el desarrollo anatómico del abomaso de terneros de raza Holando alimentados durante la etapa lactante con 8 litros de sustituto lácteo y heno del alfalfa o concentrado iniciador como alimentos sólidos. En esta tesis se realizó un ensayo experimental mediante el cual se les administró a 20 terneros dos dietas: 8 litros por día de sustituto lácteo y heno de alfalfa *ad libitum*, u 8 litros por día de sustituto lácteo y alimento balanceado iniciador *ad libitum* hasta los 60 días de vida. Luego del desleche los animales fueron sacrificados a los 60 días de vida y se les extrajo el aparato digestivo para la evaluación de los parámetros de medidas anatómicas del abomaso, los cuales fueron la medición de las longitudes de las curvaturas mayores y menores, la altura de los torus pilóricos, los pesos de los abomasos vacíos y llenos y el número de los pliegues abomasales. Los datos obtenidos fueron analizados para corroborar que siguieran una distribución normal mediante el test de Shapiro-Wilk. Para comparar los resultados cuantitativos de ambos grupos se utilizó el Test de T para dos muestras independientes. Se utilizó el software GraphPad Prism 9.0.2 para evaluar mediante regresión lineal, la interacción entre los datos obtenidos, la alimentación y el peso vivo. Concluyendo, las dos dietas no aportaron diferencias significativas en el desarrollo morfológico del abomaso en ambos grupos de ternero. Por último, se realizó la microscopía electrónica de barrido de las diferentes partes de los abomasos: fondo, cuerpo, región pilórica y pliegues abomasales, observándose diferencias cualitativas entre ambos grupos de terneros, sin poder concluir un resultado certero. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la inclusión de concentrado de inicio o forraje cómo alimentos sólidos en la dieta de terneros lactantes basada en sustituto lácteo, sobre el desarrollo morfológico del abomaso.

4. SUMMARY

Calves in the first weeks of life their digestion resembles that of a monogastric, with the abomasum being the main organ in charge of milk digestion, for this reason the rumen-reticulum is not developed from a functional point of view. Currently, livestock production systems are constantly undergoing research to intensify the development of calves through their management and nutrition. An intensive rearing system is being considered as an alternative to achieve this effectively. It is known that the type, quantity, and quality of the diet can affect the development of the digestive system. Although a study carried out in calves showed that only the omasum showed quantitative changes in its development. Therefore, the hypothesis of this work is that at 60 days of life no differences will be observed in the anatomical development of the abomasum of Holando breed calves fed during the lactating stage with 8 liters of milk replacer and alfalfa hay or starter concentrate as solid foods. In this thesis an experimental test was carried out through which 20 calves were administered two diets: 8 liters per day of milk replacer and alfalfa hay ad libitum, or 8 liters per day of milk replacer and balanced starter food ad libitum until the 60 days of life. After weaning, the animals were sacrificed at 60 days of life and the digestive system was extracted for the evaluation of the anatomical measurement parameters of the abomasum, which were the measurement of the length of the greater and lesser curvatures, the height of the pyloric tori, the weights of the empty and full abomasi, and the number of abomasal folds. The data obtained were analyzed to corroborate that they followed a normal distribution using the Shapiro-Wilk test. To compare the quantitative results of both groups, the T test was used for two independent samples. GraphPad Prism 9.0.2 software was used to evaluate by linear regression the interaction between the data obtained, feeding and live weight. Concluding, the two diets did not provide significant differences in the morphological development of the abomasum in both groups of calves. Finally, scanning electron microscopy of the different parts of the abomasums was performed: fundus, body, pyloric region and abomasal folds, observing qualitative differences between both groups of calves, without being able to conclude an accurate result. The objective of this work was to determine the effect of including starter concentrate or forage as solid food in the diet of lactating calves based on milk replacer, on the morphological development of the abomasum.

5. INTRODUCCIÓN

Los rumiantes tienen un estómago compuesto por varias cámaras. El estómago de éstos consta de 4 cámaras, el rumen, el retículo, el omaso y el abomaso (única cámara glandular). Las 3 primeras cámaras, llamadas proventrículos, se desarrollan para hacer frente a la digestión de los carbohidratos estructurales complejos de la pared celular de los vegetales que forman gran parte de la dieta normal de los rumiantes. Solo la última cámara es comparable en estructura y función al estómago simple de la mayoría de otras especies animales (Dyce, Sack y Wensing, 2007).

Las distintas cámaras son identificables, como expansiones del botón de la porción craneal del tubo digestivo en el embrión temprano. Se van desarrollando a velocidades desiguales durante los períodos embrionario y fetal (Dyce et al., 2007). En un estadio fetal, el estómago tiene casi la configuración adulta, pero durante los últimos meses de la vida intrauterina el abomaso deja atrás a los otros y al nacimiento alcanza más de la mitad del peso y volumen de todo el órgano (Dyce et al., 2007).

El abomaso es la única cavidad que asume la función digestiva de la leche (Casanova y Domínguez, 2022), su función es de mucha importancia durante la digestión de dietas lácteas o de sustitutos de la leche en los animales jóvenes (Church, 1993). El calostro o la leche no ingresan al retículo-rumen, dónde podrían causar fermentaciones indeseadas, sino que llegan directamente al abomaso mediante la activación refleja del pliegue de la gotera esofágica (Casanova y Domínguez, 2022) que desvía la leche ingerida, desde el esófago directamente hacia el interior del abomaso. La digestión del alimento lácteo en el abomaso posibilita la digestión y la utilización de los nutrientes por parte del ternero para su mantenimiento y crecimiento (Quintero, 2007).

El manejo nutricional de los terneros lactantes es muy importante tanto para su salud como para la rentabilidad de las explotaciones lecheras. Muchos productores buscan destetar los terneros a la edad más temprana posible para disminuir los costos asociados con la alimentación láctea. Un cambio progresivo, desde la alimentación líquida a la sólida permite que los terneros consuman y digieran suficiente alimento sólido para soportar el crecimiento durante y después del destete; este cambio coincide con varios cambios morfológicos y fisiológicos en el animal (Baldwin, McLeod, Klotz y Heitmann, 2004).

Una alta cantidad de lácteos en la etapa de lactante conlleva efectos positivos en el animal adulto, por lo que el sistema de alimentación de las hembras lecheras está cambiando drásticamente. La función principal del alimento sólido ya no es la de aportar energía y proteína al ternero, aspecto cubierto por el alto consumo de lácteos, pero podría tener otros roles en el desarrollo del animal (Repetto, Mendoza, Antúnez y Cajarville, 2016). Las ventajas de este sistema se verían reflejadas en animales con mayor ganancia de peso y más pesados al desleche (James, 2011). De forma paralela a la ganancia de peso, hay parámetros que acompañan el desarrollo corporal como altura a la cruz, altura a la grupa, perímetro torácico y ancho de caderas que son de buen pronóstico para el futuro desarrollo productivo y reproductivo en los bovinos (Heinrichs y Heinrichs, 2011).

El desarrollo del estómago de los rumiantes está influenciado por el tipo y cantidad de alimento ingerido. El uso de forrajes y/o concentrados puede modificar el desarrollo de las cámaras del estómago, aumentando o disminuyendo su tamaño o el desarrollo de sus estructuras. En caso de no ingerir alimentos sólidos, el desarrollo de las tres primeras cámaras del estómago es escaso o nulo (Church, 1993).

Los estudios referidos al desarrollo del abomaso al alimentar rumiantes en base a diferentes tipos de dietas son muy escasos. Recientemente se realizó un estudio en cabras, donde se evaluó el desarrollo del tracto gastrointestinal en cuatro fases (solo habían consumido calostro, alimentados con leche materna, leche materna y alimentación sólida y el último solo alimentación sólida), el desarrollo del abomaso fue mayor en las etapas del calostro y en el momento en que las cabras estaban ingiriendo alimento sólido y leche materna (Abdelsattar et al., 2022). Se comparó el desarrollo del tracto gastrointestinal relativo al peso vivo de terneros Holstein alimentados con diferentes dietas y se llegó a la conclusión de que no hubo cambios en el peso de los órganos gastrointestinales a excepción del omaso (Bailey, 1986).

Conocer cuál es la dieta más adecuada para obtener un desarrollo óptimo del abomaso en el periodo de transición hacia la vida de rumiante, permitirá a los productores la mejor adaptación a este periodo, obteniendo una mejor performance en los animales. Las variables analizadas en nuestro trabajo experimental permitirán conocer las distintas adaptaciones morfológicas del abomaso a las diferentes dietas que se utilizaron.

5.1 La alimentación de los rumiantes

Los rumiantes se caracterizan por su capacidad para alimentarse de forraje. Lo cual se basa en la posibilidad de poder degradar los carbohidratos estructurales de los mismos, como celulosa, hemicelulosa y pectina, muy poco digestible para las especies de estómago simple o no-rumiantes (Relling y Mattioli, 2003). La degradación del alimento se realiza en su mayoría por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas, y los procesos fermentativos los realizan diferentes tipos de microorganismos a los que los rumiantes alojan en sus proventrículos (Relling y Mattioli, 2003).

Esta digestión fermentativa, si bien favorece al rumiante al permitirle degradar carbohidratos estructurales, también afecta la digestión de todos los demás componentes de la dieta, los cuales se exponen a los mismos procesos fermentativos, sin que esto represente siempre una ventaja desde el punto de vista del mejor aprovechamiento del alimento (Relling y Mattioli, 2003).

El rumiante nace con un aparato digestivo que en estructura y función se asemeja al aparato digestivo de un no rumiante (Relling y Mattioli, 2003). En el momento del nacimiento, el ternero tiene el estómago preparado para la digestión de la leche. El abomaso predomina y es notable no solo por su tamaño, sino también por su grado de madurez estructural. En contraste con el abomaso, el rumen y el retículo del ternero recién nacido son muy pequeños; están confinados a la esquina cráneo dorsal izquierda del abdomen y se encuentran generalmente arrugados y colapsados (Figura 1). Normalmente contienen sólo

una pequeña cantidad de líquido y los alimentos lácteos evitan su paso por medio del surco gástrico que desvía la leche (Dyce et al., 2007).

Bajo condiciones normales de alimentación los proventrículos se van desarrollando mientras se hacen funcionales. Desde el momento del nacimiento hasta las 3 semanas de vida el abomaso representa el 56% de la capacidad del estómago, mientras que el retículo-rumen solo un 40%, de la tercera semana a la séptima semana el abomaso pasa a representar un 36% y el retículo rumen el 48%, en la séptima semana el abomaso 23% y el retículo-rumen 66%, al alcanzar el desarrollo de la vida adulta el abomaso finalmente representa del 8-9% y el retículo-rumen del 85-90%, manteniéndose de manera constante el omaso entre 3-5% en todo el desarrollo del animal.

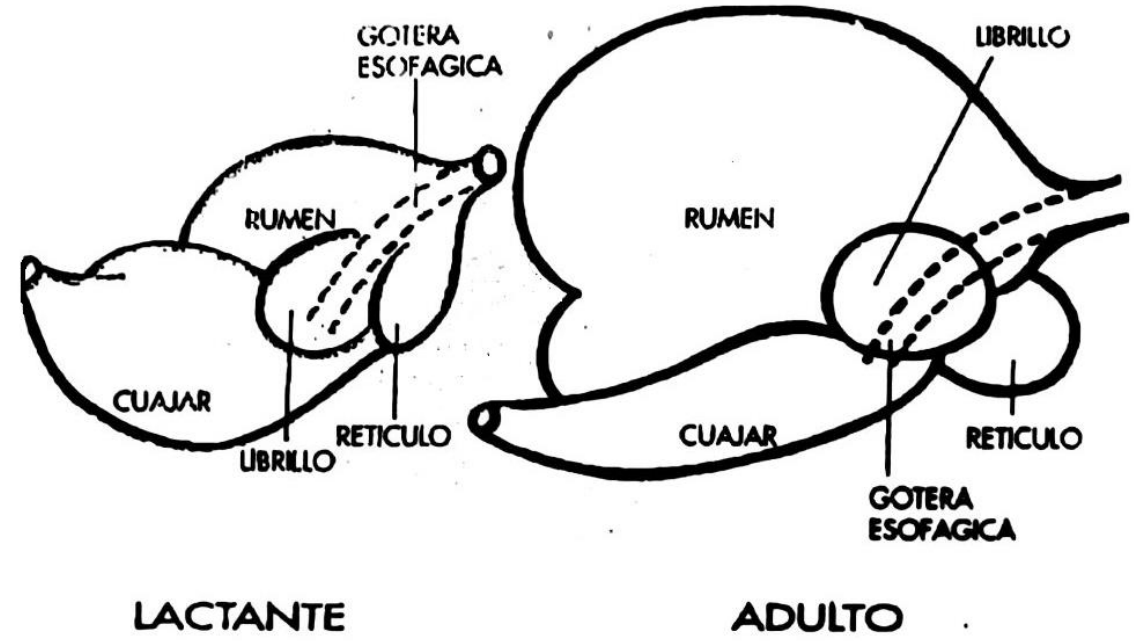

Figura 1. Comparación de estómago de un ternero recién nacido con el de un adulto. (s.f)

El pasar de lactante a rumiante le implica al ternero una serie de pasos adaptativos. Estos van a incluir cambios en la morfología y funcionalidad del aparato digestivo, el desarrollo de la flora microbiana normal y también cambios metabólicos (Relling y Mattioli, 2003).

En el abomaso la leche se coagula en pocos minutos por acción de la enzima renina. La renina genera el coágulo al convertir la caseína soluble en una red de paracaseinato de calcio, que a su vez retiene los glóbulos grasos. Este coágulo se retrae en pocos minutos y segrega una serie de componentes que representan el "suero de la leche". Este suero vehiculiza la lactosa y las proteínas solubles hacia el intestino (Relling y Mattioli, 2003).

La lactosa es degradada en glucosa y galactosa por una lactasa ubicada en los enterocitos y luego absorbida. El enterocito posee también peptidasas que

degradan las proteínas menores que ingresan con el suero de leche y algunas de menor peso molecular son absorbidas sin degradación previa. Esto demuestra la existencia de una buena actividad digestiva intestinal de mucosa, que se contrapone a la baja capacidad secretoria del páncreas y del hígado, lo cual reduce la capacidad proteolítica y lipolítica en el lumen intestinal. Esta situación remarca la importancia de la coagulación y retención de la caseína y los triglicéridos en el abomaso, ya que si ambos componentes de la leche pasaran al intestino no sólo no serían bien digeridos, sino que, además y en consecuencia, generarían un arrastre osmótico de agua (Relling y Mattioli, 2003).

El coágulo retenido sufre la acción proteolítica de la renina que lentamente va liberando péptidos que pasan al abomaso y siguen la citada digestión de mucosa. La actividad lipolítica recae en la lipasa salival que libera principalmente monoglicéridos y ácidos grasos libres que serán absorbidos por los enterocitos. Cada coágulo tarda alrededor de 12 horas en ser completamente degradado, por lo que en el abomaso coexisten coágulos de diferente tamaño (Relling y Mattioli, 2003).

El cierre del surco gástrico es responsable del comportamiento digestivo del neonato. El surco gástrico es una invaginación, a manera de canal, que atraviesa la pared del retículo, extendiéndose desde la desembocadura del esófago hasta el orificio retículo-omasal. Al ser estimulada, los músculos de sus labios se cierran creando un canal casi perfecto que conecta el cardias con el canal omasal, y de este modo el calostro o la leche no caen al retículo-rumen donde causarían fermentaciones indeseadas, sino que llegan directamente al abomaso donde se inicia su digestión (Relling y Mattioli, 2003).

El cierre del surco gástrico responde a un arco reflejo que se origina en respuesta a estímulos centrales y periféricos. El acto de succionar la mama o la mamadera, o aún el observar la preparación del alimento, inician este reflejo. Por otro lado, existen receptores en la faringe que responden a los componentes químicos de la leche, como lactosa, proteínas y minerales, y también a su temperatura. Dichos estímulos son transmitidos al centro bulbar especialmente por el nervio trigémino. Las fibras eferentes son vagales y actúan estimulando los labios del surco e inhibiendo la motilidad de los divertículos estomacales (Relling y Mattioli, 2003).

La distensión abomasal inhibe el reflejo de contracción del surco gástrico. La adrenalina, que actúa relajando la musculatura del surco, también inhibe el reflejo de cierre. Estos factores deben tenerse en cuenta en la alimentación artificial de los terneros, a fin de evitar el suministro de una cantidad excesiva de leche, o de hacerlo bajo condiciones estresantes, que provoquen el pasaje de leche al retículo-rumen (Relling y Mattioli, 2003).

El reflejo del cierre del surco gástrico, propio del lactante, se va perdiendo con el desarrollo del rumiante adulto. Sin embargo, ciertos factores pueden estimularlo en el adulto. Uno de ellos es la hormona antidiurética (ADH), liberada desde la neurohipófisis en respuesta a la deshidratación o al aumento de la osmolaridad del plasma. Esto se debería a que, ante la necesidad de incorporar agua rápidamente al organismo, la ADH estimula el reflejo para que el agua llegue directamente al duodeno donde será absorbida (Relling y Mattioli, 2003).

5.2. Abomaso

El abomaso está ubicado ventralmente a la derecha en la cavidad abdominal. Se relaciona a la izquierda con el receso ruminal y puede llegar a situarse ventral al saco craneal del rumen, e incluso contactar con la pared abdominal izquierda si está distendido (Salvador y Martínez, 2013).

Tiene forma de saco alargado, dividido en fondo, cuerpo y región pilórica. Su curvatura mayor se ubica hacia ventral y a la izquierda, y la menor hacia dorsal y a la derecha (Salvador y Martínez, 2013). El fondo y el cuerpo descansan sobre el suelo abdominal caudalmente al retículo, situándose de forma oblicua desde la izquierda a la derecha, caudal al cartílago xifoides. La parte pilórica se dirige dorsolateralmente por detrás del omaso y se continúa con el píloro del duodeno.

La mucosa del abomaso es glandular, con 2 regiones: de las glándulas gástricas propias (fundus y cuerpo) con pliegues espirales dispuestos oblicuos al eje longitudinal (figs. 8, 6) y las glándulas pilóricas que forman pliegues irregulares no permanentes. Hay una pequeña área cardial rodeando la abertura omaso-abomásica, similar a las glándulas cardiales del estómago monocavitario. A ambos lados de esta abertura se disponen pliegues de la mucosa, los velos del abomaso (figs. 8). "El abomaso tiene una mucosa gástrica glandular similar a la de otros mamíferos" (Church, 1993).

El esfínter pilórico está poco desarrollado, pero poseen a cambio el torus o rodete pilórico, una protuberancia formada por la capa muscular circular, grasa y mucosa, situada al final de la curvatura menor (Salvador y Martínez, 2013).

Histológicamente existe un patrón estructural general para todos los órganos tubulares del sistema digestivo. Esto ayuda a entender las características específicas de cada órgano (Eurell y Frappier, 2012). Estas capas son: túnica mucosa, submucosa, muscular y serosa o adventicia. Según Relling y Mattioli (2003) el desarrollo del aparato digestivo es variable y depende del tipo de dieta remarcando la importancia que posee la estructura física del alimento.

La mucosa se compone de un epitelio, una lámina propia y una lámina muscular. En general, es más delgada en especies alimentadas a base de forraje que en las alimentadas a concentrados (Church, 1993). También Relling y Mattioli (2003) afirman que las dietas a base de forraje sirven como estímulo para el desarrollo de la capacidad relativa de la pared muscular. La mucosa y la submucosa están dispuestas en pliegues tortuosos (pliegues gástricos) que se orientan en general paralelos al eje axial del órgano (Figura 2). En la región del fondo y del cuerpo en la mucosa, se encuentran los pliegues espirales permanentes, que según Church (1993), son relativamente altos en los animales alimentados con forraje y más bajos los alimentados con concentrados.

La superficie epitelial está divida en áreas gástricas, estas están marcadas con numerosas depresiones pequeñas llamadas fosas gástricas, en cuya base se abren las glándulas; fúndicas o gástricas propiamente dichas, que son ramificadas y largas (Banks, 1986). Estas fosas se subdividen en cuatro regiones: base o fondo, cuello, istmo y fosita (Fig. 3).

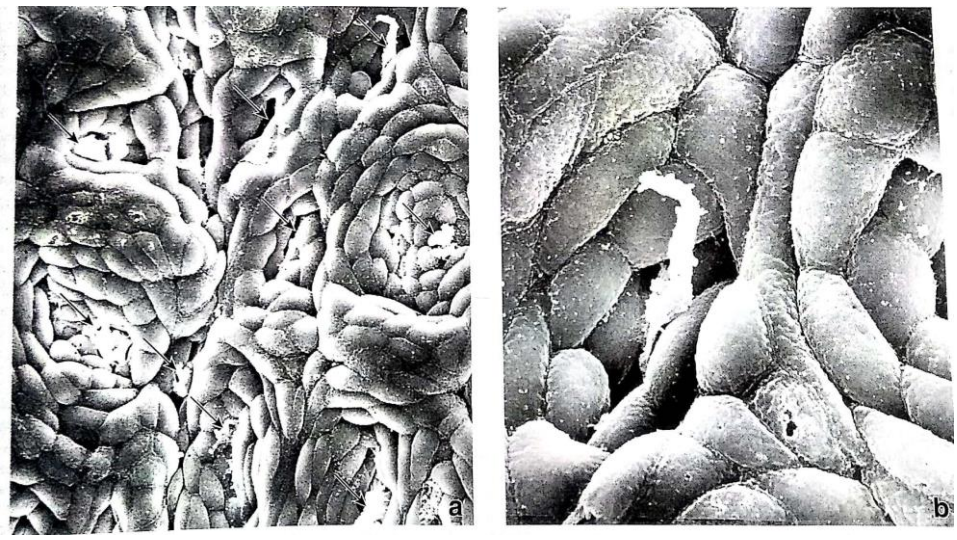

Figura 2. Superficie mucosa del estómago. a. Microfotografía electrónica de barrido de la superficie mucosa del estómago 1000x. b. Imagen con más aumento, 3000x, que muestra la superficie apical de las células mucosas superficiales. Tomado de Ross y Pawlina, 2012.

Las células que componen las glándulas fúndicas pueden ser de 4 tipos funcionales: células mucosas del cuello, células principales o adelomorfas, células parietales o delomorfas, células enteroendocrinas y células adultas indiferenciadas las cuales se ubican en el istmo, donde se replican y diferencian (Figura 3). El epitelio que reviste las fositas gástricas es simple cilíndrico, cuyas células reciben el nombre de células mucosas superficiales, en las cuales se encuentran gránulos de mucinógeno que producen un moco visible insoluble, el cual le confiere una cubierta viscosa gelificada que la protege contra los componentes más ásperos del quimo, a diferencia de las células mucosa del cuello que secretan un moco líquido. Además, las células principales son secretoras de pepsinógeno y una lipasa débil. Al contacto con el jugo gástrico, el pepsinógeno se convierte en pepsina, una enzima proteolítica. Las células parietales secretan HCl (ácido clorhídrico). Las células enteroendocrinas secretan sus productos hacia la lámina propia o hacia los vasos sanguíneos.

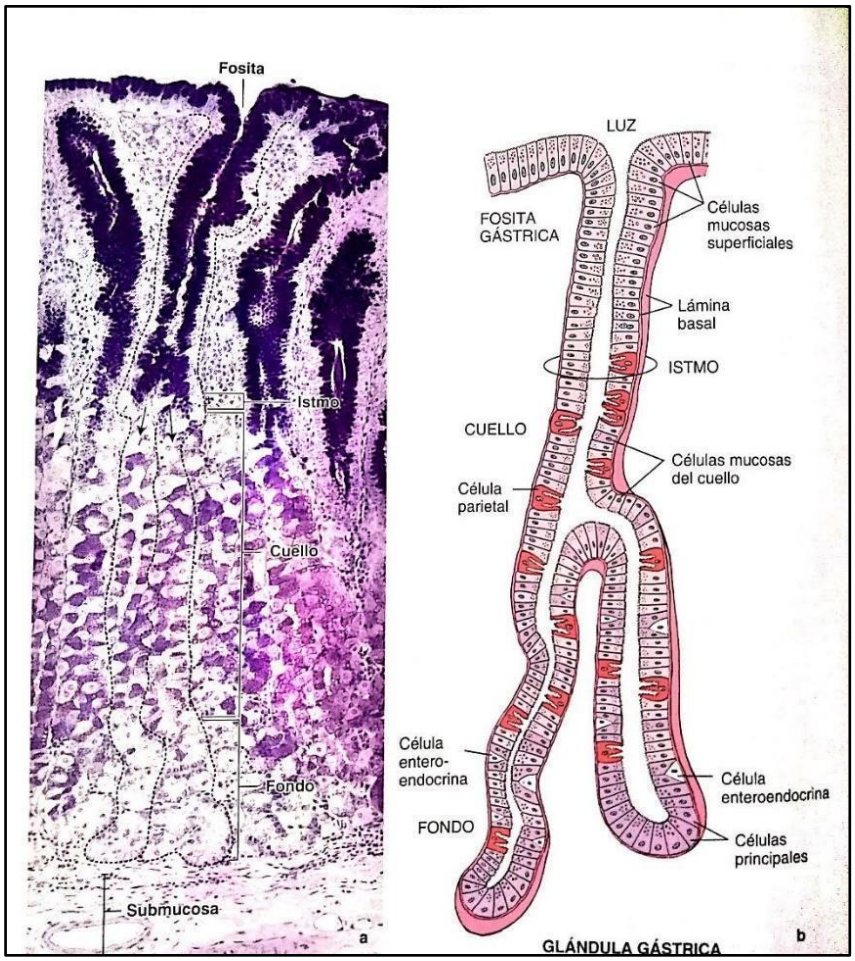

Figura 3. Glándulas fúndicas (gástricas). a. En esta microfotografía se ve la mucosa fúndica en un corte teñido con azul Alcián/PAS para detectar mucinas. b. Diagrama esquemático de una glándula fúndica. Tomado de Ross y Pawlina, 2012.

En el epitelio glandular también se encuentran las glándulas pilóricas que están situadas en el antro pilórico, son tubulares, enrolladas y ramificadas. Tiene una luz amplia y las células secretoras tienen un aspecto semejante al de las células mucosas superficiales, lo cual indica una secreción bastante viscosa. Estas glándulas desembocan en fositas gástricas profundas que ocupan más o menos la mitad del espesor de la mucosa (Ross y Pawlina, 2012).

Por otra parte, la lámina propia es escasa y se encuentra restringida a los espacios que rodean las fositas gástricas y las glándulas. Está compuesta por fibras reticulares con células musculares lisas y fibroblastos asociados. (Ross y Pawlina, 2012). También tiene células del sistema inmune: linfocitos, plasmocitos, macrófagos y algunos eosinófilos.

Finalmente se encuentra la muscular de la mucosa, formada por dos capas delgadas, una circular interna y otra longitudinal externa, compuestas por delicados haces de células musculares lisas hacia la superficie, contribuyendo a la expulsión de las secreciones de las glándulas gástricas.

La submucosa es la segunda capa, está formada por tejido conjuntivo laxo con una rica red vascular y plexos nerviosos (plexo submucoso o de Meissner) (Relling y Mattioli, 2003), el cual inerva los vasos de la submucosa y el músculo liso de la muscular de la mucosa.

La muscular externa gástrica está compuesta por una capa longitudinal externa, una circular media y una oblicua interna, formando una capa densa de células musculares lisas, importantes desde el punto de vista funcional para el mezclado del quimo durante el proceso digestivo y para expulsar hacia el intestino delgado el contenido gástrico. Entre las capas musculares hay grupos de células ganglionares y haces de fibras nerviosas amielínicas, formando el plexo mientérico, que inerva las capas musculares (Ross y Pawlina, 2012).

Por último, la serosa gástrica no tiene características especiales, está compuesta por el mesotelio y por tejido conjuntivo laxo con grasa, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios (Relling y Mattioli, 2003). Se continua con el peritoneo parietal de la cavidad abdominal, a través del omento mayor y con el peritoneo visceral del hígado a través del omento menor (Ross y Pawlina, 2012).

6. HIPÓTESIS

A los 60 días de vida no se observarán diferencias en el desarrollo anatómico del abomaso de terneros de raza Holando alimentados durante la etapa lactante con 8 litros de sustituto lácteo y heno de alfalfa o concentrado iniciador como alimentos sólidos.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general:

Determinar el efecto de la inclusión de concentrado de inicio o forraje cómo alimentos sólido en la dieta de terneros lactantes basada en sustituto lácteo, sobre el desarrollo morfológico del abomaso.

7.2 Objetivos específicos:

1. Comparar los datos obtenidos mediante la medición de la curvatura mayor y menor de los abomasos, la altura del torus pilóricos, pesado de los órganos llenos y vacíos y cuantificación de los pliegues abomasales de terneros lactantes suplementados con concentrado o forraje.
2. Analizar mediante microscopía electrónica de barrido las diferentes porciones del abomaso (cuerpo, fondo, región pilórica y los pliegues abomasales).

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Animales y dietas utilizadas

El ensayo experimental se realizó en el Instituto de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria (UdelaR) (IPAV) ubicado en ruta 1 Km 42, Libertad, San José. Para este estudio se utilizaron 20 terneros machos, recién nacidos, de la raza Holando. Durante la cría fueron alojados bajo techo en jaulas individuales de 2 ×1 metros, estando todos en las mismas condiciones sanitarias y ambientales. Los animales fueron bloqueados por PV y asignados aleatoriamente a uno de los dos tratamientos: 8 litros por día de sustituto lácteo + heno de alfalfa *ad libitum*, u 8 litros por día de sustituto lácteo + alimento balanceado iniciador *ad libitum*. Los alimentos fueron analizados para determinar el contenido de materia seca (MS; método 934.01), cenizas (método 942.05), proteína bruta (método 955.04) y extracto etéreo (método 920.39), según Association of Analytical Communities (2000). La FND se realizó empleando α-amilasa termoestable y sulfito de sodio. La FAD se realizó en forma no secuencial (Van Soest et al., 1991) y tanto para FND cómo para FAD se descontó el contenido de cenizas residuales (Licitra, Hernandez y Van Soest, Robertson y Lewis, 1996). El contenido de energía metabolizable (EM) fue estimado según el National Research Council (2001). La composición de los alimentos se presenta en las Tablas 1. Los terneros se mantuvieron consumiendo las dietas experimentales hasta el momento del desleche y finalización del experimento (56-60 días de vida). Se llevó a cabo un período de adaptación a las dietas de 4 días.

Para preparar un litro de sustituto lácteo se calentaban 400ml de agua potable hasta alcanzar los 50 °C, se agregaban 131 g de polvo y 469 ml de agua a temperatura ambiente, y se mezclaba hasta obtener una composición homogénea. Se ofreció el sustituto a una temperatura entre 37 °C y 39 °C, en baldes con tetina.

Tabla 1. Composición química de los alimentos utilizados para alimentar a los terneros durante el experimento.

Variables	Sustituto	Concentrado	Fardo alfalfa
MS (%)	95,3	90,0	90,5
Proteína Bruta (% MS)	21,5	18,0	16,0
FDN (% MS)	−	17,9	40,4
FDA (% MS)	−	7,2	32,4
Cenizas (% MS)	5,6	5,6	7,2
Extracto etéreo (% MS)	20,0	3,4	-
EM (Mcal/kg MS)	4,58	3,00	1,96
Lactosa (%)*	44,0	-	-
Calcio (%)*	1,3	-	-
Fósforo total (%)*	0,6	-	-
Sodio (%)*	0,4	-	-
Cloro (%)*	0,5	-	-
Cobre inorg. (ppm)*	11,0	-	-
Zinc inorg. (ppm)*	44,0	-	-
Hierro (ppm)*	111,0	-	-
Vitamina A (UI/Kg)*	27000	-	-
Vitamina D3 (UI/Kg)*	5300	-	-
Vitamina E (UI/Kg)*	50000	-	-
Ionóforo (ppm)*	100000	-	-
Lisina total (% MS)*	2,7	-	-
Metionina total (% MS)*	0,9	-	-
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2 (ppb)*	-	< 5	-
DON (ppb)*	-	< 500	-
Zearalenona (ppb)*	-	< 50	-

Las variables indicadas con * corresponden a valores reportados en la etiqueta del producto.
EM: Energía metabolizable MS: Materia seca. FDA: Fibra Detergente Ácida FDN: Fibra Detergente Neutra ENl: Energía neta de lactación

8.2. Eutanasia

Luego de mantener los animales en las condiciones experimentales del grupo al que pertenecen, se procedió a la eutanasia. La misma se realizó luego de dos horas de ayuno. El método de sacrificio fue a través del uso de pistola de perno cautivo y posterior desangrado mediante incisión de la vena yugular y la arteria carótida. La faena fue predial. El método fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (protocolo Nº685) de la Facultad de Veterinaria, UdelaR.

8.3. Métodos de estudio

El método de estudio de los animales fue la disección. Las medidas anatómicas se tomaron siguiendo los procedimientos estándar para los rumiantes (Hofmann, Knight y Skinner, 1995; Pérez, Erdogan y Ungerfeld, 2015; Sauer, Bertelsen, Lund, Weisbjerg y Clauss, 2016), las cuales fueron: la longitud de las curvaturas mayores y menores, las alturas de los torus pilóricos, el peso de los órganos vacíos y llenos y la cantidad de números de pliegues abomasales. Para evitar sesgo en las mediciones, las mismas fueron realizadas por el mismo investigador.

Para tomar las mediciones correspondientes, primero se aisló el abomaso de los demás órganos digestivos. Luego se procedió a realizar una doble ligadura en la región próxima al orificio omasoabomasal y en la región pilórica. Se retiraron todos los omentos. Luego se procedió a pesar el órgano con su contenido. A continuación, se vació y se lavó con agua corriente el órgano y se dejó escurrir 10 minutos, para proceder a pesarlo vacío. Por último, se midió la longitud de ambas curvaturas utilizando un metro. Los abomasos fueron conservados en un recipiente con formol al 4% para luego contar los pliegues abomasales y medir el torus pilórico.

8.4. Colecta y procesamiento de muestras para microscopía electrónica de barrido

Se tomaron muestras de dos animales de cada grupo, de 1cm de largo por 1cm de ancho de cada una de las regiones del abomaso (fondo, cuerpo, región pilórica). Se tomaron las muestras cuidadosamente con una pinza sin dientes y se lavaron sumergiéndolas en agua a 5ºC.Luego se colocaron las muestras en solución de paraformaldehído al 4%. El frasco donde fueron conservadas las muestras contenía 10 veces el volumen de fijador en relación al tamaño de la muestra. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente por al menos 10 días.

Para realizar la microscopía electrónica de barrido, las muestras fueron lavadas con solución de PBS al 1% en 3 baños durante 5 minutos, y 3 baños con agua destilada por 3 minutos. En seguida fueron deshidratadas en concentraciones seriadas de alcohol al 50%, 70%, 90% y 100%, secadas en aparato de punto crítico, pegadas con cola de carbono en bases metálicas de

aluminio y metalizadas con oro en el aparato metalizador. Finalmente fueron analizadas y fotografiadas en microscopio electrónico de barrido.

8.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados para corroborar que siguieran una distribución normal. Al ser un N pequeño se utilizó el test de Shapiro-Wilk (utilizando el software libre https://www.statskingdom.com/shapiro-wilk-test-calculator.html). Para comparar los resultados cuantitativos de ambos grupos se utilizó el Test de T para dos muestras independientes. Para la realización del mismo se utilizó el Software libre https://www.socscistatistics.com/tests/studentttest/default2.aspx. Se consideraron diferencias significativas para un valor de $p<0,05$. Los datos obtenidos se expresarán como media y desvío estándar.

Se utilizó el software GraphPad Prism 9.0.2 para evaluar mediante regresión lineal, la interacción entre los datos obtenidos, la alimentación y el peso vivo. El modelo general utilizado fue:

$$Y = \alpha + \beta + e$$

dónde Y es la característica estudiada, α es el peso vivo, β es la alimentación (forraje o concentrado), y e es el error aleatorio.

9. RESULTADOS

Los abomasos se encontraban completamente desarrollados, se podían reconocer todas las porciones de este órgano estudiado (Figuras 4 y 5). Todos los datos obtenidos seguían una distribución normal. Al realizar el test de T no se encontraron diferencias significativas al comparar los valores obtenidos entre ambos grupos de terneros. Al evaluarse la interacción entre los valores obtenidos, el peso vivo y el tratamiento, se observa que no hubo diferencias significativas dadas por la interacción entre ellos.

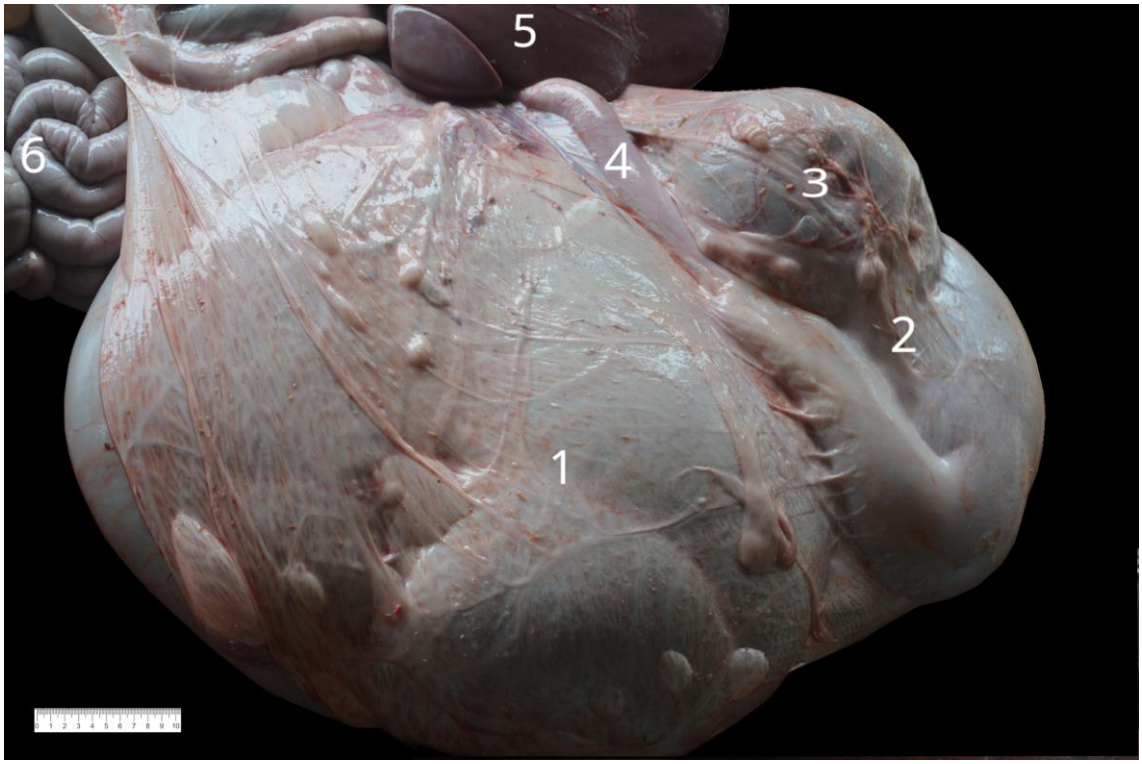

Figura 4. Abomaso de un ternero Holando alimentado con forraje y sustituto lácteo. 1: Rumen recubierto por omento mayor; 2: Abomaso; 3: Omaso; 4: duodeno; 5 Hígado; 6: Intestino delgado

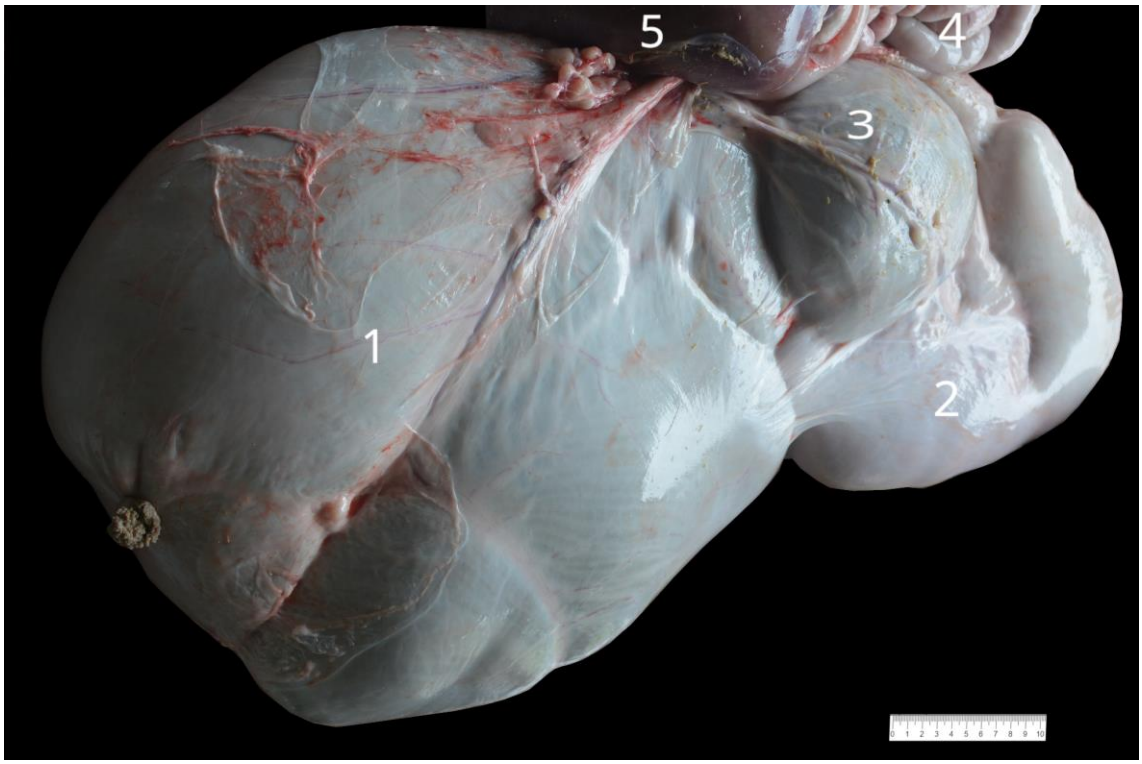

Figura 5. Abomaso de un ternero Holando alimentado con concentrado y sustituto lácteo. 1: Rumen; 2: Abomaso; 3: Omaso;4: Intestino delgado; 5: Hígado.

El peso del abomaso lleno en el grupo de los terneros alimentados con concentrado fue de 1206,6 g (± 297,53 g) mientras que en el grupo alimentado con forraje fue de 1232,5 g (± 411,97 g). En el primer grupo el porcentaje de peso corporal que representaba el abomaso lleno fue de 1,31% mientras que el del segundo grupo fue de 1,4%. Los datos obtenidos se observan en la Figura 6.

En cuanto al peso del abomaso vacío en el grupo de los terneros alimentados con concentrado fue de 454,41 g (± 101,8 g) mientras que en el grupo alimentado con forraje fue de 439,84 g (± 79,02 g). En el primer grupo el porcentaje de peso corporal que representaba el abomaso vacío fue de 0,50% mientras que el del segundo grupo fue de 0,51%. Los datos obtenidos se observan en la Figura 7.

Los datos obtenidos respecto a las medidas de las curvaturas mayor y menor del abomaso de ambos grupos de terneros se pueden apreciar en la Figura 8 y 9.

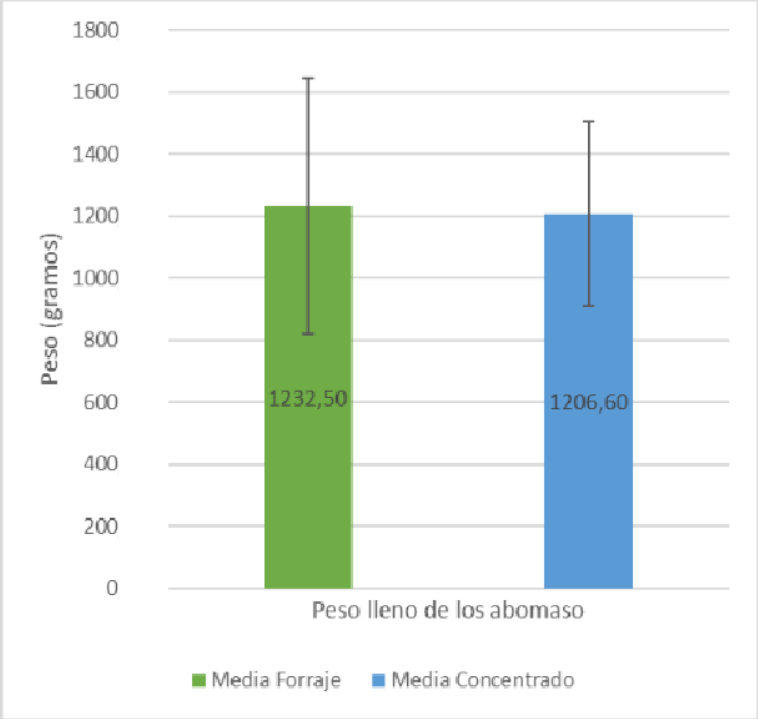

Figura 6. Efecto de las dietas sobre los pesos del abomaso lleno, apreciándose los parámetros de media y sus desvíos estándar representado con las barras de error, en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día.

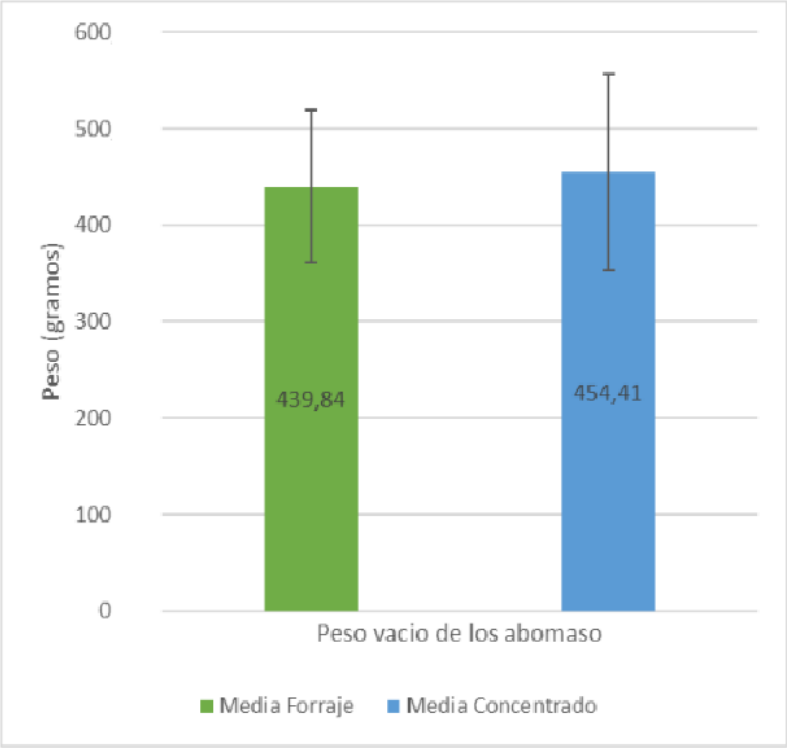

Figura 7. Efecto de las dietas sobre los pesos del abomaso vacío, apreciándose los parámetros de media y sus desvíos estándar representado con las barras de error, en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día.

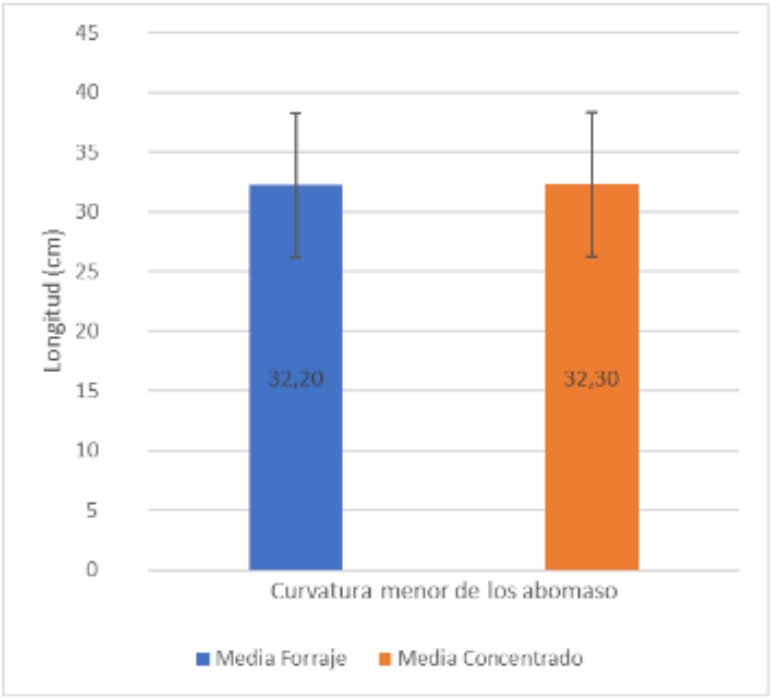

Figura 8. Efecto de las dietas sobre la longitud de las curvaturas menores de los abomasos, apreciándose los parámetros de media y sus desvíos estándar representado con las barras de error, en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día

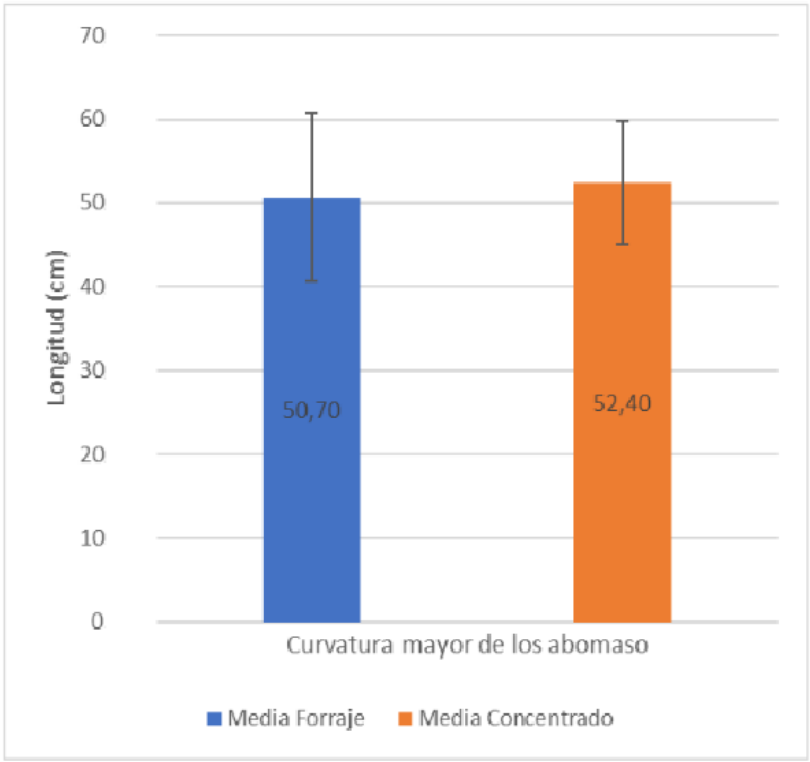

Figura 9. Efecto de las dietas sobre la longitud de las curvaturas mayores de los abomasos, apreciándose los parámetros de media y sus desvíos estándar representado con las barras de error, en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día.

Los parámetros referidos a los pliegues abomasales, observados en la figura 8, y la altura del torus pilórico en ambos grupos de animales se detallan en la Tabla 3, con sus respectivas medias, desvíos estándar y el Test de T. En tres animales, de los cuales uno correspondía al grupo alimentado con forraje y los otros dos al del concentrado, no se encontraba desarrollado el torus pilórico.

Figura 10. Mucosa del estómago de un ternero alimentado con heno y sustituto lácteo (izquierda) y de uno alimentado con concentrado y sustituto lácteo (derecha). 1: Región pilórica; 2: Torus pilórico; 3: Cuerpo; 4: Fondo; 5: Pliegues abomasales; 6: Pliegues espirales

Tabla 3. Efecto de las dietas sobre el número de los pliegues abomasales y la altura del torus pilórico en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día.

	Forraje	**Concentrado**	**p**
Número de Pliegues abomasales	15,30 ± 4,1	16,40 ± 3,9	0,612
Altura del torus pilórico (mm)	13,40 ± 6,2	10,60 ± 6,3	0,892

Nota: Esta tabla muestra las medias de los parámetros del número de pliegues y altura del torus pilórico de los animales alimentados con forraje o concentrado con sus respectivos desvíos estándares representados con el símbolo (±) y el Test de T descripto con la letra ‘’p’’.

A nivel de microscopía electrónica de barrido se pudieron observar de manera descriptiva diferencias en cuanto al desarrollo de las estructuras analizadas.

En la región del fondo del abomaso de los terneros alimentados a base de forraje se pudieron apreciar un menor desarrollo de las fosas del mismo, así como de la luz respecto a los terneros alimentados con concentrado (Figura 9).

Se apreciaban restos de forraje en las imágenes de los animales alimentados con este. En cuanto a los pliegues abomasales se notó desarrollo glandular en ambos terneros, pero con mayor crecimiento en el grupo alimentado con concentrado (Figura 10). En el cuerpo del abomaso el desarrollo de las fosas fue mayor en el grupo alimentado con concentrado, lo mismo que pasó en todas las regiones del órgano (Figura 11). En la región pilórica también se apreció un menor desarrollo de las fosas en el grupo alimentado con forraje, no se llegaba a apreciar su luz (Figura 12). A continuación, se muestra, en la tabla 2, las comparaciones que fueron analizadas descriptivamente en las microscopías electrónicas de barrido.

Tabla 2. Efecto de las dietas a nivel de microscopía electrónica de barrido en las diferentes regiones de la mucosa del abomaso (fondo, cuerpo, pliegues abomasales y región pilórica) en terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día.

PARTES DEL ABOMASO/ EFECTO DE DIETA	CONCENTRADOS	FORRAJE
FONDO - fosas		
- luz	Mayor desarrollo	Menor desarrollo Menor luz
PLIEGUES ABOMASALES	Mayor desarrollo	Desarrollado
CUERPO DEL ABOMASO	Mayor desarrollo de las fosas	Desarrollado
REGION PILORICA	Mayor desarrollo de las fosas	Menor desarrollo, no se aprecia la luz de las fosas.

Nota: La tabla representa la comparación microscópica de manera descriptiva en donde se aprecia un mayor desarrollo en los animales alimentados con concentrado frente a los alimentados con forraje en todas las regiones analizadas.

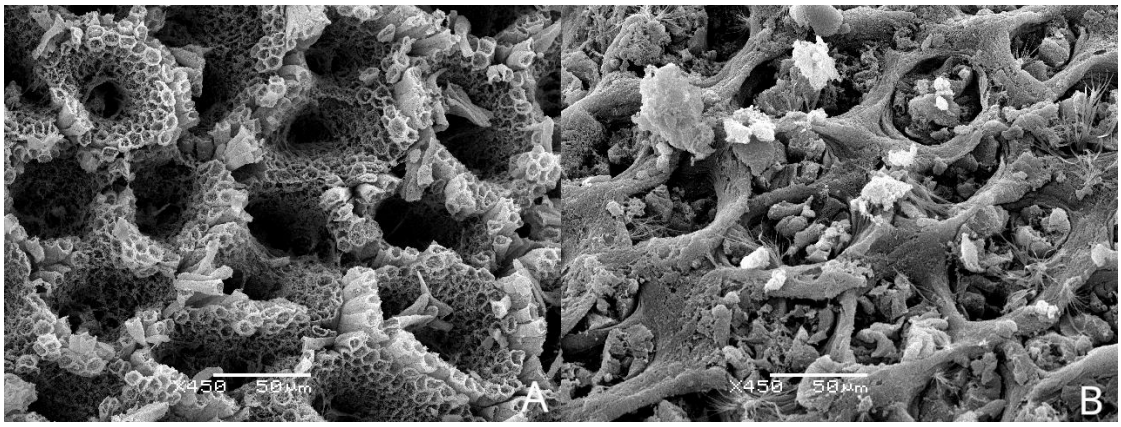

Figura 11. Fondo del abomaso. a. Microscopía electrónica de barrido del fondo del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. b. Microscopía electrónica de barrido del fondo del abomaso a 450x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo.

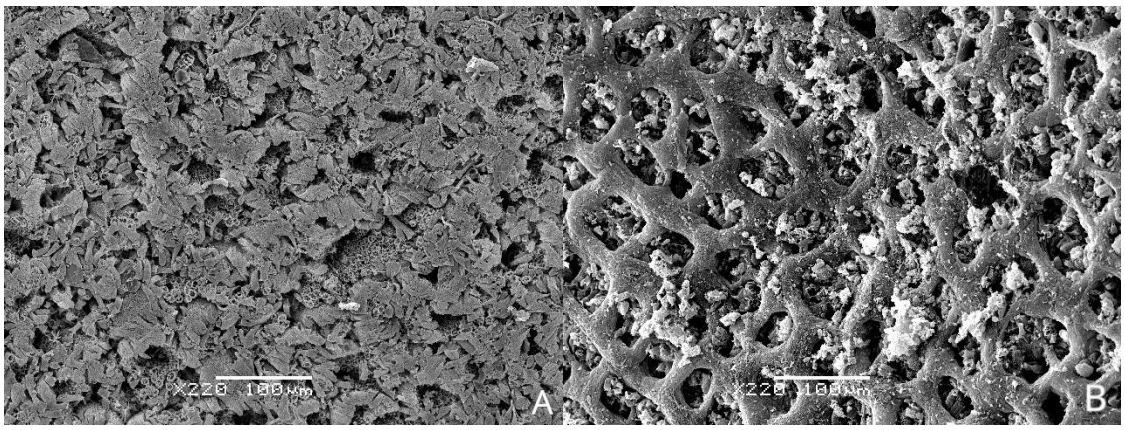

Figura 12. Pliegues abomasales. a. Microscopía electrónica de barrido de los pliegues del abomaso a 220x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. b. Microscopía electrónica de barrido de los pliegues del abomaso a 220x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo.

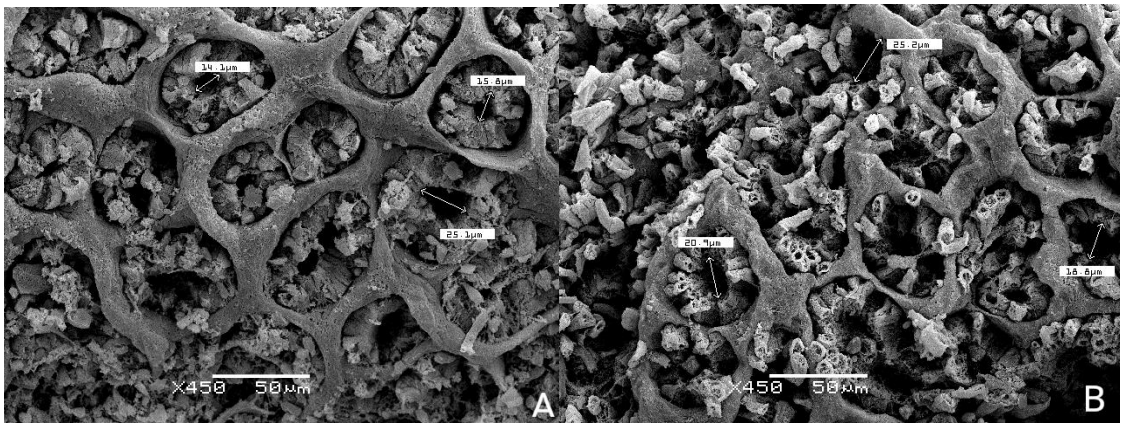

Figura 13. Cuerpo del abomaso. a. Microscopía electrónica de barrido del cuerpo del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. b. Microscopía electrónica de barrido del cuerpo del abomaso a 450x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo.

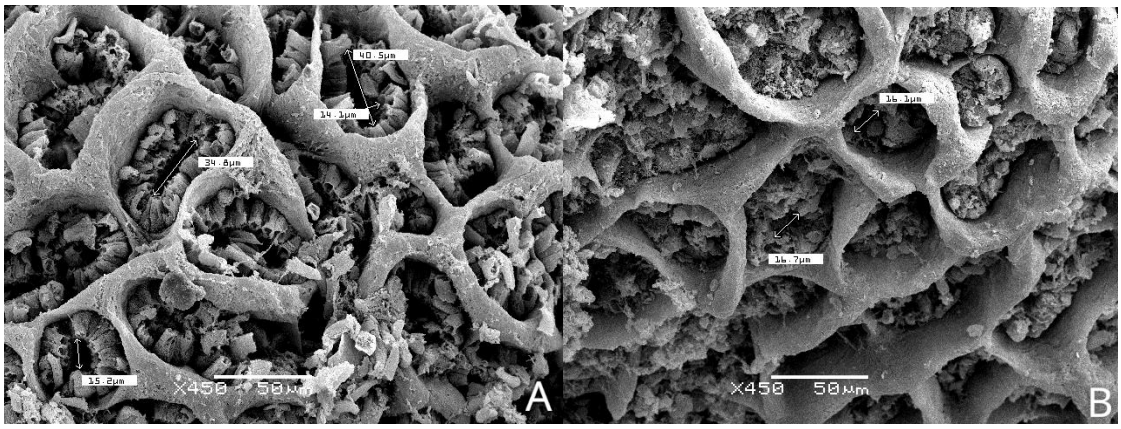

Figura 14. Región pilórica del abomaso. a. Microscopía electrónica de barrido de la región pilórica del abomaso a 450x de terneros alimentados con concentrado y suplemento lácteo. b. Microscopía electrónica de barrido de la región pilórica del abomaso a 450x de terneros alimentados con forraje y suplemento lácteo.

10. DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó la comparación del desarrollo morfohistologico del abomaso de terneros Holando alimentados con heno de alfalfa o concentrado *ad libitum* y 8 litros de sustituto lácteo por día. La bibliografía es muy escasa respecto al tema estudiado.

En los resultados de los parámetros que se midieron en ambos grupos de ternero no se obtuvo diferencias significativas, ya que ambas dietas tienen un buen aporte nutricional balanceado.

Se han realizado investigaciones entre diferentes especies; rebeco (*Rupicapra pyrenaica*) y cabra montés (*Capra pyrenaica*), oveja (*Ovis aries*) alimentados con diferentes tipos de forrajes, los cuales evidenciaron diferencias significativas en los valores del peso del abomaso vacío en términos absolutos, expresados en función del peso vivo vacío y del peso del aparato digestivo completo, así como del contenido del abomaso en gramos, fueron significativamente mayores en las ovejas que en los rebecos, ocupando la cabra montés una posición intermedia (Lavín y Mantecón, 1993), sin embargo en nuestro estudio en el peso del abomaso lleno y vacío de los terneros alimentados con forraje o concentrado, no se encontraron diferencias significativas, se estima que pudo deberse a que las dietas son similares en porcentaje de proteína bruta y el consumo de suplemento lácteo se mantuvo constante en ambos grupos de terneros, teniendo en cuenta la importancia de este último alimento en las primeras etapas de vida de los mismos.

Lo más relevante en nuestra investigación fueron los resultados a nivel de microscopía electrónica de barrido pudiéndose observar diferencias en cuanto a la presencia de fosas gástricas (siendo mayor la presencia de las mismas en los terneros alimentados con concentrado), se estima que esto podría ser explicado por la facilidad de digestión de los mismos en comparación al forraje. Se han realizado estudios de microscopía electrónica de barrido en ovinos (evaluando las alteraciones ocurridas por infestación con Haemonchus, Nicholls, Lee y Sharpe, 1985), en camélidos (*Camelus dromedarius*) describiendo su estructura normal (Raji, 2011) y en la cabra (*Capra hircus*) (Mahesh, Singh y Kumar, 2017). No se encontraron trabajos que comparen el desarrollo de las glándulas o fosas gástricas al enfrentarse a diferentes dietas.

11. CONCLUSIONES

Las dos dietas no aportaron diferencias significativas en el desarrollo morfológico del abomaso en ambos grupos de terneros. En las microscopías electrónicas de barrido se encontraron algunas diferencias en el desarrollo de las regiones analizadas, sin poder concluir un resultado certero.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelsattar, M. M., Zhuang, Y., Cui, K., Bi, Y., Haridy, M., y Zhang, N. (2022). Longitudinal investigations of anatomical and morphological development of the gastrointestinal tract in goats from colostrum to postweaning. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2597-2611.

Association of Analytical Communities (2000). Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed., Gaithersburg, MD, USA: AOAC.

Bailey, C. B. (1986). Growth of digestive organs and their contents in Holstein steers: Relation to body weight and diet. *Canadian Journal of Animal Science*, 66(3), 653-661.

Baldwin, R. L., McLeod, K. R., Klotz, J. L., y Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science*, 87, E55-E65.

Banks, W.J. (1986). Aparato digestivo. En *Histologia veterinária aplicada* (pp. 455-528). México: El Manual Moderno, S.A. de C.V.

Casanova, D., y Dominguez, M. (2022). Características anatomo-fisiológicas del sistema digestivo del ternero que justifican su desarrollo. En *Anuario Ciencia en la UNAH*, *20*(2), Recuperado de https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:w5w1I027jqIJ:https://rcta.unah.edu.cu/index.php/ACUNAH/article/view/1609&cd=3&hl=es&ct=clnk&gl=uy&client=firefox-b-e

Church, D.C. (1993). *El rumiante: Fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia.

Dyce K.M., Sack W.O, y Wensing C.J.G. (2007). *Anatomía veterinaria* (3ª ed.). México (DF): Manual Moderno.

Eurell, J.A., y Frappier, B.L. (2012). Sistema digestivo 10. En B.L. Frappier (Ed.), *Histologia veterinaria de Dellman* (6° ed., pp. 170-211). Brasil: Manole.

Heinrichs, A., y Heinrichs, B. (2011). A prospective study of calf factors affecting first lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. *Journal of Dairy Science*, 94(1), 336-341.

Hofmann, R.R., Knight, M.H., y Skinner, J.D. (1995). *On structural characteristics and morphophysiological adaptation of the springbok (Antidorcas marsupialis) digestive system.* Transactions of the Royal Society of South Africa, 50(2), 125– 142.

James, R.E. (2011). Replacement Management in Cattle: Pre-Ruminant Diets and Weaning Practices. *Encyclopedia of Dairy Science* (2ª ed., pp. 396-402). Fuquay: Elsevier.

Lavín, P., y Mantecón, Á. R. (1993). *Fisiología digestiva de los rumiantes salvajes*. Recuperado de http://hdl.handle.net/10261/23030

Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 57:347–358.

Mahesh, R., Singh, G., y Kumar, P. (2017). Light microscopic studies on the abomasum of goat (*Capra hircus*). *Veterinary Research International*, 5(1), 21-27.

National Research Council. (2001).*Nutrient requirements of dairy cattle* (7ª ed.). Washington: National Academy.

Nicholls, C. D., Lee, D. L., y Sharpe, M. J. (1985). Scanning electron microscopy of biopsy specimens removed by a colonoscope from the abomasum of sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Parasitology,* 90(2), 357-363.

Pérez, W., Erdogan, S., y Ungerfeld, R. (2015). Anatomical study of the gastrointestinal tract in free-living Axis deer (Axis axis). *Anatomia, histologia, embryologia*, *44*(1), 43-49.

Quintero, B. G. (2007). Sustitutos lecheros en la alimentación de terneros. *REDVET,* 8(5), 1-39.

Raji, A. R. (2011). Morphological and histochemical investigation of the camel (Camelus dromedarius) abomasal mucous membrane by light and scanning electron microscopy (SEM). *Iranian Journal of Veterinary Research*, 12(4), 304-308.

Relling, A. E., y Mattioli, G. A. (2003). *Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes*. La Plata: UNLP Editorial Edulp.

Repetto, J.L., Mendoza, A., Antúnez, G., y Cajarville, C. (2016). Nuevos paradigmas en la Cría y Recría de Hembras lecheras. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed), *Jornadas Uruguayas de Buiatría* (Vol. XLIV, pp. 34-41). Paysandú. Centro Médico Veterinario de Paysandú.

Ross, M.H., y Pawlina, W. (2012). Sistema digestivo II: Esófago, estómago e intestino. *Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular.* (6° ed., pp. 568-627). Buenos Aires: Médica Panamericana.

Salvador, C. R., y Martínez, M. E. G. (2013). Anatomía Veterinaria. Estómago de los rumiantes. Anatomías externa e interna. Surco gástrico. Posición y relaciones anatómicas. Fijaciones. *REDUCA (Recursos Educativos)*, 5(2), 28-42.

Sauer, C., Bertelsen, M. F., Lund, P., Weisbjerg, M. R., y Clauss, M. (2016). Quantitative macroscopic anatomy of the giraffe (*Giraffa camelopardalis*) digestive tract. *Anatomia, histologia, embryologia*, *45*(5), 338-349.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583–3597.