

1) Título del trabajo:

Un nuevo alimento para terneros: ensayo comparativo del desarrollo ruminal.

2) Autores:

A. Lis (1); F. Barra (1); C. Peralta (2); P. Rejf (2); F. Beltramino (3)

3) Resumen:

Se analizan los resultados del desarrollo ruminal en terneros en crianza artificial alimentados con sustituto lácteo y con Ruter®.

Se estandariza la información midiendo indicadores histológicos y citológicos de la mucosa ruminal de los sacos dorsales y ventrales.

Los terneros con Ruter® presentan un desarrollo y diferenciación temprana de la mucosa del órgano con derivación a pastura a los 39 días de vida.

El otro lote muestra un proceso más lento incluso con 10 días más de alimentación líquida.

4) Introducción:

El rumen, como los otros proventriculos de los rumiantes, constituye embriológicamente una dilatación esofágica.

Anatómicamente tiene la forma de un gran saco que ocupa en el animal que rumia casi la mitad izquierda de la cavidad abdominal desde el séptimo u octavo espacio intercostal hasta casi la entrada de la pelvis.

Posee dos pliegues o surcos en su pared que son evidentes en la parte media y que dividen su conformación en dos sacos: el ventral y el dorsal.

Al nacimiento tiene un volumen igual a la mitad de la capacidad del cuajar; una vez desarrollado representa el 80% del volumen total de preestómagos y cuajar.

Histológicamente consta como todo el tubo digestivo de tres capas: mucosa, muscular y serosa.

En el ternero lactante la mucosa está conformada por un epitelio estratificado cornificado con capa basal, estrato espinoso y córneo, es aglandular con algunas prominencias epiteliales que darán origen a las papilas en el animal rumiante. La basal epitelial asienta en una lámina propia de tejido conjuntivo mas o menos hialinizado, según la actividad funcional del órgano mezclado con fibras elásticas. Carece de muscular de la mucosa.

La submucosa de tejido conjuntivo laxo es delgada y une la mucosa a la capa muscular de variedad lisa. Esta consta de dos capas: una externa de fibras con dirección oblicua y una interna de fibras circulares.

La serosa externa es delgada y laxa con abundante tejido adiposo.

A nivel de los surcos forma los denominados pilares del rumen cuya mucosa carece de papilas.

Fisiológicamente es la porción espaciosa del canal alimentario del bovino rumiante donde se produce la humectación (por el agua consumida y por la producción de abundante saliva) y la fermentación (por la actividad de una flora y fauna microbiana) de los alimentos.

En el ternero lactante funciona una especialización de la superficie interna de rumen y del retículo llamada gotera esofágica que permite que la dieta líquida pase desde el esófago directamente al cuajar. La gotera es un repliegue de la mucosa que por estimulación nerviosa durante la succión de la leche acerca sus bordes formando un tubo que desvía el alimento y no deja que ingrese al rumen. Existen antiguas pruebas que demuestran que el funcionamiento de la gotera tiene relación con el modo cómo el ternero toma la leche: en los animales que succionan prácticamente no pasa

leche al rumen, en terneros que se alimentan por abrevado en balde el cierre es incompleto y parte de la leche ingresa al rumen.

Simplificando el análisis, atendiendo al objetivo de este trabajo, el tránsito del estado de pre - rumiante a rumiante se produce por la influencia de algunos factores tales como el peso específico del alimento, su composición química, la presencia de agua como parte de la ingesta, el volumen del bolo y la colonización de una microflora y microfauna fermentante en el rumen.

Con todo para que la fermentación ruminal y la consecuente producción de ácidos grasos volátiles pueda ser aprovechada como energía metabólica es necesario que la rudimentaria mucosa del rumen del pre – rumiante madure mediante el desarrollo de una amplia superficie papilar cubierta por un epitelio diferenciado fisiológicamente de modo diferente en el saco dorsal como en el ventral.

Los íntimos y complejos mecanismos de este acontecimiento son por ahora parcialmente conocidos y lograrlos constituye el objetivo final en nuestros estudios.

En este trabajo nos centramos en la descripción y comparación micromorfológica de indicadores de desarrollo y diferenciación ruminal en terneros que recibieron dietas distintas.

5) Materiales y métodos:

El diseño del ensayo que utilizó 37 terneros en estaca de una misma guachera y origen durante los 49 días que duró la experiencia fue el siguiente:

- Los animales calostraron durante los cinco primeros días de vida.
- Al sexto día se sacrificaron tres animales identificados como “testigos lactantes”, y se dividieron los restantes en dos lotes identificados como “testigos con sustituto lácteo” (18 animales) y “terneros Ruter®” (16 animales).
- Los testigos con sustituto fueron alimentados con el producto comercial de ACA según sus propias instrucciones, y los terneros Ruter® se alimentaron siguiendo las instrucciones del fabricante.
- El muestreo se efectuó en seis períodos y el plan de necropsias programado es el que se muestra en el siguiente cuadro:

Etapa	Día de ensayo	Testigos lactantes	Testigos con sustituto lácteo	Terneros Ruter®
1º	5º	3	0	0
2º	18º	0	3	5
3º	26º	0	2	4
4º	34º	0	3	3
5º	39º	0	3	4
6º	49º	0	7	0
Animales estudiados	Total	3	18	16
	37			

- Te tomaron muestras de pared ruminal abarcando todas sus capas en todos los animales de la parte media de las curvaturas dorsal y ventral de órgano siendo especímenes de 3 x 3 centímetros que se colocaron un Formol al 10% extendidos sobre planchas de cartón corrugado y fijados en sus extremos con agujas hipodérmicas para evitar su deformación. Las muestras se entregaron al Laboratorio dentro de las 24 horas de su obtención.
- El proceso de Laboratorio consistió en reducción de tres piezas por muestra, refijación por 24 horas en Formol al 10% y proceso hasta la obtención de bloques incluidos en parafina. Se seleccionó un taco y se obtuvieron tres cortes de 3 micrones con 100 micrones de separación entre uno y otro, se montaron en portaobjetos dobles para someterlos a las coloraciones de Hematoxilina de Mayer – Eosina y Tricómico de Van Gieson. Los cortes se observaron en un microscopio trinocular Olympus CX 40 y las imágenes se levantaron con la utilización una cámara digital Olympus C-4000 montada sobre sus adaptadores y se procesaron en el

programa Microsoft Photo Editor archivándose bajo formato JPEG. Para efectuar las mediciones se incorporó un retículo micrométrico en uno de los oculares del microscopio.

6) Desarrollo:

Con la finalidad de que se realizara una observación comparada sistemática de los preparados se establecieron un número de indicadores del desarrollo ruminal, los mismos fueron:

Número	Indicador	Parámetro y aumento de observación
(I)	Largo de papilas	En micrones con objetivo x 4
(II)	Papilas secundarias	Ausencia – Presencia con objetivo x 4
(III)	Células del estrato queratinizado	Número de células con objetivo x 40
(IV)	Espesor del estrato queratinizado	En micrones con objetivo x 40
(V)	Espesor de las capas musculares	En micrones con objetivo x 10
(VI)	Grado de vacuolización de las células de estrato espinoso	(a) Ausencia. (b) Pocas células vacuoladas. (c) Casi la totalidad de células vacuoladas. (objetivo x 40)
(VII)	Perlas de queratina interpapilares (x)	Ausencia – Presencia con objetivo x 10

(x) Solo fue valorado para los cortes correspondientes a la porción ventral del rumen.

Los valores medios obtenidos efectuando observaciones y mediciones de tres papilas al azar de todos los cortes obtenidos fue la siguiente para cada indicador:

Rumen dorsal:

Indicador	Etapa										
	1° Lactante	2°		3°		4°		5°		6°	
		SL	R	SL	R	SL	R	SL	R	SL	R
(I)	44,16	8,00	62,66	47,77	88,75	35,00	102,2	33,22	76,66	60,28	
(II)	A	A	P (1)	A	P	A	P	A (2)	P	P (3)	
(III)	2,45	1,88	2,80	3,44	3,91	2,00	6,77	2,22	6,11	2,95	
(IV)	2,72	2,88	6,13	4,00	4,25	3,16	11,77	5,33	11,88	4,85	
(V)	76,66	29,55	110,3	58,88	63,33	51,66	135,5	57,77	122,7	67,38	
(VI)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(c)	(b)	(c)	(b) (4)	

Notas:

- (1) en tres de cinco muestras
- (2) en dos de tres muestras
- (3) en tres de siete muestras
- (4) en cinco de siete muestras, categoría (a) en una muestra, categoría (c) en una muestra.

Rumen ventral:

Indicador	Etapa										
	1° Lactante	2°		3°		4°		5°		6°	
		SL	R	SL	R	SL	R	SL	R	SL	R
(I)	28,63	13,11	82,66	65	97,08	50,83	105,5	37,55	84,16	93,80	
(II)	A	A	P	A	P	P (1)	P	P (2)	P	P (3)	
(III)	1,54	2,11	3,40	3,88	4,25	2,50	5,44	2,33	6,16	3,95	
(IV)	1,45	4,11	6,73	4,33	8,41	4,16	9,77	5,55	12,33	5,04	
(V)	75,45	24,11	96,66	60,55	76,25	49,16	123,3	54,44	110	81,19	
(VI)	(a)	(a)	(c) (4)	(b)	(b)	(b)	(c)	(c) (5)	(c)	(c) (6)	
(VII)	A	A	P (7)	A	P	A	P	A	P	P (8)	

Notas:

- (1) en una de dos muestras
- (2) en una de tres muestras
- (3) en cuatro de siete muestras
- (4) en cuatro de cinco muestras, la categoría de la restante (b)
- (5) en una de tres muestras, categoría de las restantes (b)
- (6) en dos de siete muestras, categoría de las restantes (b)
- (7) en cuatro de cinco muestras
- (8) en cuatro de siete muestras

Además de estos datos estandarizados la observación del material permitió comprobar que en los terneros alimentados con Ruter® las papilas ventrales:

- 1) Mostraban un eje conjuntivo fibroso más abundante y con mejor reacción tintorial que denotaba su mayor estado de hialinización .
- 2) La porción apical de la mayoría de las papilas presentaban un fuerte casquete córneo lo que ampliaba su forma y tamaño de clava.

Estos dos detalles de aparición temprana daban a la cobertura epitelial el aspecto propio de los rumenes funcionales.

Por último en ninguno de los materiales analizados de los animales tratados con Ruter® se hicieron evidentes imágenes histológicas propias de disturbios en la diferenciación del epitelio escamoso como serían formas disqueratósicas o formas de queratinización en el estrato espinoso que pudieran ser interpretadas como características transformantes de este tipo de estructura.

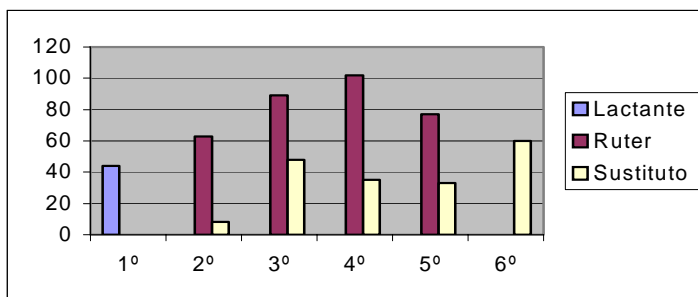
7) Discusión y conclusiones.

Discusión:

Evaluando algunos de los indicadores más relevantes a partir de los datos obtenidos se pueden mostrar las siguientes diferencias en los siguientes cuadros:

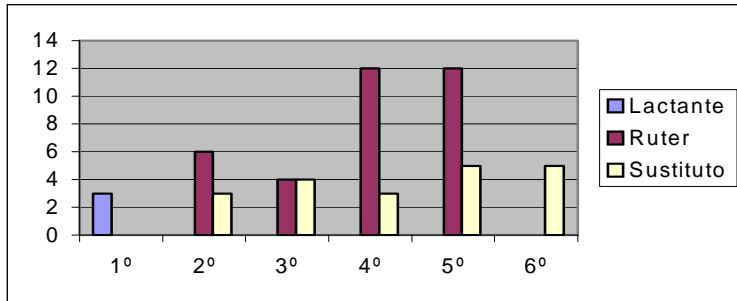
Cuadro 1

Rumen dorsal, largo de las papilas medidos en micrones



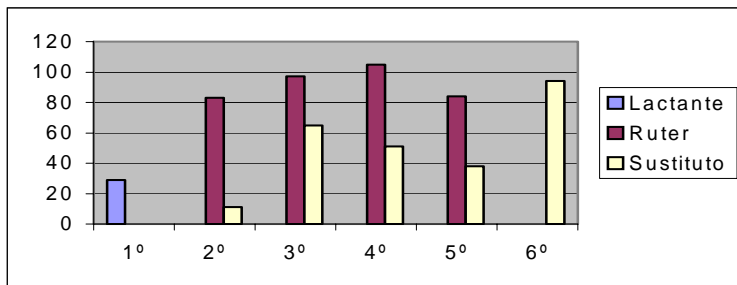
Cuadro 2

Rumen dorsal, espesor del estrato queratinizado medido en micrones



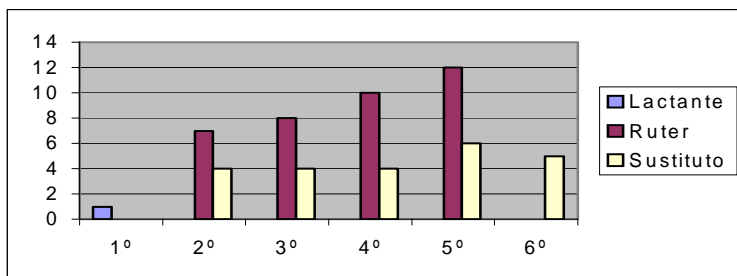
Cuadro 3

Rumen ventral, largo de las papilas medidos en micrones



Cuadro 4

Rumen dorsal, espesor del estrato queratinizado medido en micrones



Los cuadros permiten sostener que los animales alimentados con Ruter ® tienen un desarrollo papilar temprano y sostenido durante toda la experiencia.

En el rumen dorsal se infiere una más amplia superficie de absorción dado el largo papilar y la aparición ya los 14 días de papilas secundarias cubiertas por un epitelio escamoso estratificado muy vacuolizado que lo hace adecuado para el transporte de ácidos grasos volátiles.

En el rumen ventral tanto el largo como la densidad papilar es más desarrollada y consistente en los animales tratados con Ruter ®, también aquí hay aparición prematura de papilas secundarias y

una actividad importante en la producción de queratina formando perlas córneas interpapilares y densos casquetes apicales. Además la reacción a la marcación de maduración del tejido conjuntivo de soporte de las papilas utilizando Fuscina Acida indica una robustez y flexibilidad no presente en los animales alimentados con sustituto.

El espesor de la capa muscular medida en todos los animales sometidos a estudio permite afirmar que los alimentados con Ruter ® tienen valores mayores haciendo inferir una anticipada actividad de contracciones que son propias de los rumiantes.

Conclusiones:

Este estudio morfométrico de las estructuras histológicas del rumen permiten comprobar que el Ruter ® comparado con un sustituto lácteo produce una aceleración en la maduración del órgano acortando el período de pre – rumiante.

Esta es ya evidente a los 14 días de alimentación y se mantiene en progresión constante hasta el día 39 en que se concluyó la prueba.

Durante las observaciones microscópicas se pudo apreciar que en ninguna de las muestras de los rumenes alimentados con Ruter ® el exuberante desarrollo de la mucosa mostró signos de transformación citológica o histológica.

La primera conclusión a la que se arriba es que por sus características físico – químicas este nuevo alimento despierta mecanismos preexistentes en los animales que anticipan su tránsito a la alimentación en pastoreo.

- (1) Médicos Veterinarios: Asociación de Cooperativas Argentinas; Rivadavia s/n (2900) San Nicolás (Pcia. de Bs. As)
- (2) Médicos Veterinarios: Laboratorio de Cito e Histopatología (FVC-UNL); Kreder 2805 (3080) Esperanza (Pcia. de S. Fe)
- (3) Ingeniero Agrónomo: Cátedra de Genética y Mejoramiento Animal (FCV-UNL)

Correo Electrónico:

cperalta@fcv.unl.edu.ar