



Universidad Nacional Autónoma De México

**Facultad De Estudios Superiores
Cuatitlán**

**Efecto de butirato de sodio sobre el
comportamiento productivo y de la
microbiota del tracto digestivo en
terneros Holstein**

Tesis

Que para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

P r e s e n t a

Diego Alfredo Cardoso Carmona

Asesor

Dr. Germán Buendía Rodríguez

Coasesor

M. en MVZ. Héctor Reyes Soto

Cuatitlán Izcalli, Estado de México 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES
CUAUTITLÁN

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de butirato de sodio sobre el comportamiento productivo y de la microbiota del tracto digestivo en terneros Holstein

Que presenta el pasante: DIEGO ALFREDO CARDOSO CARMONA

Con número de cuenta: 41206336-5 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 08 de enero de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Deneb Camacho Morfín	
VOCAL	M.V.Z. Carlos Raúl Romero Basurto	
SECRETARIO	M. en M.V.Z. Héctor Reyes Soto	
1er. SUPLENTE	M. en C. Bricia Plata Anaya	
2do. SUPLENTE	Dr. Jesús Jonathan Ramírez Espinosa	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm*

Agradecimientos

Este trabajo de tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente participaron distintas personas opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañándome en momentos de crisis y en los momentos de felicidad. Este trabajo me ha permitido aprovechar la experiencia de muchas personas que deseo agradecer en este apartado.

Al Dr. German Buendía por aceptarme en el CENID FyMA INIFAP, por su apoyo y confianza que tuvo en mí y por ser un buen tutor. Soy muy afortunado de pertenecer a su grupo de trabajo.

Al M. en C. Hector Reyes por su guía y apoyo en la realización de este trabajo y por sus enseñanzas en las aulas de la FESC-UNAM.

A la Dra. Graciela Castañeda por su gran ayuda y guía en el laboratorio de patología clínica.

A los sinodales quienes con sus comentarios y sugerencias ayudaron a enriquecer esta tesis.

A mis padres Margarita y José. Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanos José, Manuel, Carlos y Sara, por estar siempre conmigo apoyándome en todos mis proyectos, por sus consejos, palabras de aliento, pláticas, maldades y por ser confidentes.

A mi abuelo Silvio Carmona quien fue el responsable que desde muy pequeño me gustara el campo, por sus consejos, apoyo y cariño incondicional.

A Dani y Sam, se merecen muchas y buenas palabras, ya que con ellas he compartido cubículo, laboratorio e incontables horas de trabajo y buenos ratos, lo cual no tiene

precio. Por todo el tiempo que me han dado, por el respaldo, consejos, siempre estuvieron ahí en lo bueno y en lo malo y la amistad. Gracias

A Yazmín por apoyarme aguantarme y por escucharme, siempre animándome a seguir adelante y por sus valiosos consejos.

A mis amigas Kari, Yazlem y Citlalli por su cariño, apoyo y paciencia a lo largo de la licenciatura, por los buenos y malos momentos, por compartir conmigo sus enseñanzas y consejos.

Por último y no menos importante gracias a mí.

A todos ustedes, mi mayor reconocimiento y gratitud.

Índice

1.	Lista de abreviaturas.....	1
2.	Resumen	2
3.	Introducción	3
4.	Marco teórico.....	4
4.1.	Desarrollo del aparato digestivo.....	4
4.2.	Fisiología digestiva de los terneros.....	5
4.3.	Colonización de bacterias y protozoarios.....	7
4.4.	Regulación del pH ruminal.....	9
4.5.	Desarrollo del proceso de rumia	10
4.6.	Desarrollo metabólico	10
4.7.	Digestión.....	11
4.8.	Fermentación ruminal y productos finales.....	12
4.9.	Absorción de AGV	13
4.10.	Butirato.....	14
5.	Justificación del trabajo.....	15
6.	Hipótesis.....	15
7.	Objetivo general.....	15
8.	Objetivos específicos.....	15
9.	Material y métodos	15
9.1.	Animales.....	15
9.2.	Alimentación.....	16
9.3.	Tratamientos.....	16
9.4.	Mediciones y determinaciones.....	16
9.4.1.	Comportamiento productivo.....	16
9.4.1.1.	CMS	16
9.4.1.2.	GDP	16
9.4.1.3.	CA	17
9.4.2.	Metabolismo energético.....	17
9.4.2.1.	Glucosa	17
9.4.2.2.	AGV.....	17
9.4.3.	Metabolismo proteico.....	17
9.4.3.1.	Proteínas totales.....	17
9.4.4.	Concentración de bacterias y protozoarios	18
9.4.5.	Cinética de la producción de gas.....	18
9.5.	Análisis estadístico	18

10. Resultados.....	19
10.1. Comportamiento productivo	19
10.2. Metabolismo energético	19
10.2.1. Concentración de glucosa	19
10.2.2. AGV	20
10.3. Metabolismo proteico	20
10.3.1. Concentración de proteínas totales	20
10.4. Concentración de bacterias, protozoarios y medición de pH	21
10.5. Cinética de producción de gas, DIVMS y DIVMO	22
11. Discusión.....	23
11.1. Comportamiento productivo	23
11.2. Metabolismo energético	24
11.2.1. Concentración de glucosa	24
11.2.2. Concentración de AGV.....	25
11.3. Metabolismo proteico	25
11.3.1. Concentración de proteínas totales	25
11.4. Concentración de bacterias y pH.....	26
11.5. Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia orgánica y materia seca	26
12. Conclusiones	27
13. Bibliografía.....	28

Índice de cuadros.

Cuadro 1 Respuesta de la prueba de comportamiento de becerros Holstein.	19
Cuadro 2 Concentración de glucosa (mg/dl) en suero de becerros Holstein.	20
Cuadro 3 Concentración de AGV.....	20
Cuadro 4 Concentración de proteínas totales en suero de becerros Holstein.	21
Cuadro 5 pH, concentración de bacterias y protozoarios en líquido ruminal de becerros Holstein.....	22
Cuadro 6 Volúmenes, L y S de producción de gas de muestras adicionadas con butirato de sodio.....	23
Cuadro 7 Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca y orgánica.....	23

1. Lista de abreviaturas

°C	Grados centígrados
AGV	Ácidos grasos volátiles
CA	Conversión alimenticia
CCK	Colecistoquinina
CMS	Consumo de materia seca
CO ₂	Dióxido de carbono
D	Días
DIVMO	Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia orgánica
DIVMS	Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca
DI	Decilitro
E.L.N.	Extracto libre de nitrógeno
EM	Energía metabolizable
g	Gramos
GDP	Ganancia diaria de peso
G	Fuerza G
H	Horas
HCl	Ácido clorhídrico
Kg	Kilogramos
L	Litros
Mg	Miligramos
Min	Minutos
Mmol	Milimol
MO	Materia orgánica
MS	Materia seca
PC	Proteína cruda
PIV	Péptido intestinal vasoactivo
PP	Polipéptido pancreático
S	Semanas
TGI	Tracto gastrointestinal

2. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la complementación con butirato de sodio sobre el comportamiento productivo, el metabolismo energético, proteico y la microbiota ruminal de terneros Holstein. 24 terneros machos Holstein fueron distribuidos completamente al azar en 3 tratamientos (n=8) tratamiento.. Los tratamientos fueron: 0 g de butirato de sodio d⁻¹ (control), 5 g de butirato de sodio d⁻¹ y 10 g de butirato de sodio d⁻¹. El butirato de sodio complementario se mezcló manualmente en el sustituto lácteo. Los animales fueron alimentados con 4 l de sustituto de leche, concentrado iniciador y agua *ad libitum*, el estudio duró 49 d coincidiendo con el destete. Se midieron las siguientes variables: CMS, GDP, CA, concentración de glucosa, AGV, proteínas totales, pH del líquido ruminal, concentración de protozoarios, bacterias, DIVMS, DIVMO y cinética de fermentación. Las variables estudiadas fueron analizadas mediante ANOVA y comparación de medias por Tukey, considerándose estadísticamente diferentes si $P \leq 0.05$. La adición de a nivel de 5 g de butirato de sodio d⁻¹ tuvo efecto positivo en el CMS ($P < 0.05$) en comparación con los tratamientos de 0 y 5 g de butirato de sodio d⁻¹. A nivel de 10 g de butirato de sodio d⁻¹ se mejoró ($P < 0.05$) la CA en un 23.5% en comparación con el grupo control, aumentó el CMS, pero no se encontró diferencia ($P > 0.05$), la GDP fue mayor para los grupos suplementados con butirato de sodio, pero, no se encontraron diferencia ($P > 0.05$), tanto la concentración de glucosa y proteínas totales sérica, concentración de ácido butírico y bacterias en líquido ruminal aumentaron significativamente ($P < 0.05$), en los terneros tratados con 10 g de butirato de sodio d⁻¹. En los estudios *in vitro*, también se observó efecto positivo a nivel de 10 g de butirato de inclusión en la DIVMS y DIVMO encontrando diferencia ($P < 0.05$) en comparación con el control y los complementados con 5 g de butirato de sodio. Con base en estos resultados, se puede concluir que la adición de butirato de sodio a 10 g de butirato de sodio d⁻¹ afectó positivamente la CA, el metabolismo energético y proteico, así como también la digestibilidad *in vitro* del concentrado, aumento la concentración bacteriana y el ácido butírico, principal fuente energética del epitelio ruminal, lo cual sugiere que la adición de 10 g de butirato de sodio en el sustituto lácteo mejora indirectamente la maduración del rumen y directamente la del intestino, por lo cual podría ser incluido como un aditivo en la crianza de terneros como promotor y acelerador de la maduración de TGI permitiendo realizar destetes tempranos (6-8 semanas) y por consecuencia disminuyendo los días y el manejo de la alimentación líquida.

Palabras claves: ternero, butirato de sodio, sustituto lácteo, desempeño productivo, digestibilidad, tracto gastrointestinal, microbiota

3. Introducción

La crianza de terneros Holstein, es considerada una etapa fundamental y la más crítica en la vida de los terneros, debido a que en esta etapa se tiene el mayor índice de morbilidad y mortalidad (Khan *et al.*, 2016), así como también se determinan las ganancias diarias de peso (GDP) para las etapas subsecuentes y de ella se derivan, en el caso de las terneras, los remplazo en hatos lecheros; y para los terneros su incorporación a la cadena productiva de carne.

Los cambios que experimentan los terneros de ser animales pre rumiantes a rumiantes es un ejemplo de adaptación digestiva desde el punto de vista anatómico y fisiológico (Guilloteau *et al.*, 2009). Una transición suave de alimento líquido a sólido permite que los terneros consuman y digieran suficiente alimento sólido para apoyar el crecimiento durante y después del destete. Esta transición requiere el desarrollo físico, metabólico y microbiano en el rumen, coincidiendo también con el desarrollo de las glándulas salivales, el comportamiento de la rumia y varios ajustes fisiológicos en los tejidos intestinal y hepático (Baldwin *et al.*, 2004, Khan *et al.*, 2011).

Durante las primeras semanas de vida, los terneros requieren una dieta láctea, posteriormente (5 a 15 días de edad) son estimulados al consumo de alimento mediante concentrado iniciador para acelerar la maduración ruminal hacia un destete temprano y exitoso, la velocidad de desarrollo de los compartimentos gástricos depende fundamentalmente del tipo de alimentación durante este período (Davis *et al.*, 2002; Relling *et al.*, 2007; Bradley, 2014). El objetivo del destete temprano (6 a 8 semanas) es reducir los costos y el manejo de la alimentación a base de sustitutos lácteos (Heinrich *et al.*, 2013).

El tipo de alimentación sólida proporcionada a los terneros está correlacionada directamente con la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) que resultan de la fermentación de materia orgánica en rumen (Suárez *et al.*, 2006b). El ácido butírico y en menor grado el propiónico, estimulan el desarrollo de la mucosa del rumen, principalmente por su uso como fuentes energéticas para este (Baldwin *et al.*, 2004; Górka *et al.*, 2009; Górka *et al.*, 2011).

La transición resulta en notables cambios metabólicos para el crecimiento del ternero, ya que los tejidos deben adaptarse de la dependencia de la glucosa suministrada por parte de la leche al metabolismo de los AGV como sustratos de energía primaria. Esta maduración es el resultado de la expresión diferencial de numerosos genes que regulan las características físicas y metabólicas del tejido. Mientras que los cambios físicos más dramáticos que ocurren durante el desarrollo están asociados con el epitelio del rumen, los cambios intestinales y el metabolismo también se realizan en respuesta a los cambios en la dieta (Baldwin *et al.*, 2004; Guilloteau *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2016).

El inicio del consumo de alimento sólido, la adquisición de microorganismos anaeróbicos, el establecimiento de la fermentación ruminal, la expansión del volumen ruminal, la diferenciación, el crecimiento de las papilas, el desarrollo de las vías metabólicas y de absorción, la maduración del aparato salival y el desarrollo del comportamiento de rumia son todos necesarios para llevar a cabo la transición de leche a la alimentación sólida (Khan *et al.*, 2016).

4. Marco teórico

4.1. Desarrollo del aparato digestivo

Durante el desarrollo del aparato digestivo, la transición de una etapa a otra requiere profundas adaptaciones fisiológicas y digestivas. Sin embargo, la máxima capacidad digestiva del tracto gastrointestinal (TGI) no se alcanza porque las adaptaciones no son suficientes. Por lo que, los terneros (destetados o no destetados) tienen a menudo dificultades para adaptarse a las nuevas condiciones de alimentación. Los terneros al igual que los corderos y cabritos nacen con el aparato digestivo inmaduro comportándose fisiológica y bioquímicamente como un no rumiante (Daniels *et al.*, 2014). La capacidad de fermentación de estos animales es mínima y depende de cinco elementos claves: establecimiento de microbiota ruminal, disponibilidad de sustrato, presencia de líquido, capacidad de absorción del tejido ruminal y flujo de material desde el rumen hacia el TGI inferior (Guilloteau *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2016).

La calidad y tipo de alimentación es diferente entre terneros y bovinos adultos, debido a que los terneros no poseen las enzimas necesarias para la digestión de otro tipo de alimento que no sea leche y dicha capacidad se va desarrollando paulatinamente. A medida que el rumen va madurando se da la presencia y crecimiento de la población bacteriana (Relling *et al.*, 2007; Guilloteau *et al.*, 2009). Debido a esto la maduración del TGI, tiene relación no solo con la edad y tamaño de los terneros, sino además con el tipo de dieta; se ha observado que una dieta líquida retrasa el desarrollo del retículo, rumen y omaso, por lo que el desarrollo se comienza a dar cuando los terneros ingieren alimento sólido (Correa, 2006).

En bovinos al nacimiento el retículo, rumen y abomaso se encuentran subdesarrollados y requiere grandes cambios morfológicos y ajustes fisiológicos antes de que un ternero pueda prosperar en la alimentación sólida (Baldwin *et al.*, 2004). El desarrollo del rumen implica la adquisición y el establecimiento de un ecosistema microbiano, la muscularización y vascularización de la pared, el desarrollo papilar, y el inicio de la rumia y motilidad ruminal.

La maduración del retículo, rumen y omaso está asociada con el incremento drástico de concentraciones plasmáticas de gastrina, colecistoquinina (CCK), polipéptido pancreático (PP) y péptido intestinal vasoactivo (PIV), lo que sugiere una implicación de estos péptidos reguladores intestinales en el desarrollo de los compartimentos gástricos. La mucosa del abomaso se desarrolla considerablemente a los 7 días de vida. En el caso del páncreas, este aumenta de tamaño en un 30% en la primera semana de vida para posteriormente mantenerse estable, encontrándose desarrollado y funcional. Las estructuras intestinales tienen su desarrollo máximo justo antes del parto y durante la primera semana de vida la maduración y crecimiento del intestino es menor y el desarrollo de la mucosa intestinal sigue un eje proximal-distal (las criptas y vellosidades salen primero en el duodeno y posteriormente en las partes más distales). Los enterocitos fetales son remplazados entre los 5 y 7 días de edad por enterocitos adultos contribuyendo al cierre de la barrera intestinal (Toofanian, 1976). Las glándulas salivares proporcionan fluido continuo y regulación de pH para la función normal del rumen, pero la glándula parótida tiene poca capacidad para producir saliva en terneros antes de las 4 semanas de edad (Kay, 1960). El hígado debe adaptarse a los patrones de nutrientes

absorbidos como resultado del desarrollo del rumen. En los terneros lactantes, el hígado es el sitio principal de la cetogénesis, es glucolítico y la gluconeogénesis está altamente regulada. Por el contrario, en los rumiantes, la función cetogénica del hígado disminuye y la gluconeogénesis es más constante y refractaria a los insumos hormonales glucolíticos y glucogénicos. (Badwin *et al.*, 2004). La secreción de jugo pancreático es mínima al nacimiento y estas van aumentando, siendo más notable el aumento en la primera semana de edad y a lo largo del primer mes de vida (Zabielski *et al.*, 2001).

Las concentraciones plasmáticas de gastrina y CCK (inmediatamente después del nacimiento) aumentan potencialmente. Debido a que la función trófica de estas hormonas peptídicas podría estar implicada en la regulación del desarrollo del TGI (Guilloteau *et al.*, 1992). Estudios realizados por Guilloteau *et al.*, 2009 encontraron que bloqueando el receptor mucosal CCK1 mediante la utilización de un antagonista farmacológico específico se retarda significativamente la desaparición de enterocitos vacuolados (fetales), contribuyendo al retraso de la maduración de la mucosa intestinal, estos mismos cambios los encontraron a nivel pancreático en donde el antagonista del receptor CCK1 llevó a una disminución de los acinos pancreáticos con la reducción de la secreción de jugo pancreático, lo que sugiere que tanto el intestino como el páncreas no se encuentran totalmente desarrollados a los 7 días de edad y que la CCK está implicada en el desarrollo de estos órganos y ejerce sus efectos a través de los receptores de la mucosa intestinal CCK1.

Algunos estudios han explorado la relación entre el desarrollo del rumen y la naturaleza físico-química de los alimentos sólidos (Suárez *et al.*, 2006a, Suárez *et al.*, 2006b, Hill *et al.*, 2009). Connor *et al.*, (2013) demostró que la transición de alimento líquido a sólido altera la expresión de más de 900 transcritos de genes. Estos genes transcritos están implicados en el metabolismo de los lípidos, morfología y muerte celular, crecimiento y proliferación celular, transporte molecular y el ciclo celular.

4.2. Fisiología digestiva de los terneros

Las secreciones gastrointestinales tienen un papel fundamental en la transformación del alimento a nutrientes que son absorbidos en intestino y metabolizados para su uso. El alimento se mezcla con saliva y jugo gástrico en el abomaso, en duodeno el bolo alimenticio entra en contacto con bilis y jugo pancreático. La primera función de las secreciones digestivas es diluir los alimentos para facilitar su homogeneización al medio y la hidrólisis. La hidrólisis del alimento ingerido en nutrientes directamente metabolizables ocurre paso a paso y es afectada por varias enzimas, las cuales solo se activan si las características del medio (principalmente pH) son adecuadas (Davis *et al.*, 2002)

El desarrollo de la capacidad y de absorción del TGI es fundamental en la digestión del ternero, sin embargo, la secreción de líquidos y enzimas tienen la misma o mayor importancia. Las enzimas digestivas provienen de diferentes fuentes: glándulas salivales, abomaso, intestino delgado, páncreas e hígado (Bradley, 2014)

La secreción de ácido clorhídrico (HCl) es baja en los terneros al nacimiento y poco después a través del incremento de la concentración plasmática de gastrina a lo largo del primer día de vida aumenta la concentración de HCl. Las cantidades de quimosina (renina) y pepsina (enzimas secretadas por las paredes del abomaso y activadas por HCl) son suficientes para coagular la cantidad de caseína ingerida por los terneros, la actividad de estas enzimas están correlacionadas positivamente con el peso al nacimiento

de los terneros (Le Huerou *et al.*, 1992), la actividad de la quimosina es relativamente alta a los 2 días la cual va disminuyendo con la edad, mientras que la actividad de la pepsina no se afecta (Davis *et al.*, 2002).

En intestino la digestión de proteínas se realiza en primer lugar por las proteasas pancreáticas tripsina y quimiotripsina y después por la acción de las peptidasas secretadas por el páncreas y la mucosa intestinal (Davis *et al.*, 2002). La digestibilidad de la leche o sustitutos lácteos (a base de proteínas de leche) incrementa con la edad entre la primera y quinta semana. Un patrón ontogénico similar se observa en la concentración plasmática en el número de péptidos reguladores intestinales, los cuales estimulan la secreción abomasal y pancreática. (Guilloteau *et al.*, 2009). En los terneros recién nacidos el pH de todo el contenido intestinal oscila entre 5.5 y 6.5. Los valores óptimos de pH en yeyuno e íleon para la actividad de las enzimas pancreáticas e intestinales es de 7 a 8 (Khan *et al.*, 2011).

En general, durante los 2 días posnatales, la actividad enzimática gástrica aumenta, mientras que la actividad proteolítica de las enzimas pancreáticas disminuye. Además, la actividad proteolítica sólo se desarrolla al final del intestino delgado. Estas condiciones, así como el alto pH del contenido de abomaso y el del pH relativamente bajo en el duodeno proximal son condiciones favorables para reducir la acción enzimática y por lo tanto permiten una absorción suficiente de la inmunoglobulina intacta durante los primeros días de vida. Al nacer la estructura del TGI está bien desarrollada y el contenido enzimático de las glándulas digestivas ya es importante, el sistema regulador del intestino ya es funcional, pero está claro que el TGI aún no está maduro. El grado de madurez depende de varios factores nutricionales y bioactivos en el calostro o la leche, así como de las sustancias reguladoras producidas por el animal (Guilloteau *et al.*, 2009).

Durante las primeras 2 semanas en donde prácticamente la única fuente de alimentación es en base a sustitutos de leche o leche entera, el alimento atraviesa los primeros tres compartimentos entrando directamente al abomaso por el cierre del surco esofágico (Correa, 2006; Relling, 2014); el ternero no utiliza los tres primeros compartimentos gástricos (rumen, retículo y omaso); su desarrollo demora algún tiempo y está en dependencia de que el animal ingiera una alimentación sólida adecuada; entre tanto es necesario suministrarle leche o un sustituto lácteo apropiado (Correa, 2006).

Los terneros nacen con su aparato digestivo adaptado a dietas lácteas, debido a que solamente puede digerirla por métodos enzimáticos y no fermentativos (Heinrichs *et al.*, 2005; Correa *et al.*, 2006), por lo que la alimentación líquida (sustituto de leche o leche) pasa directamente del esófago al abomaso por medio del cierre de la gotera o surco esofágico, cuando el surco se contrae, la leche atraviesa el cardias y se dirige directamente al omaso y solo un 10% o menos llega al rumen. La leche atraviesa rápidamente el omaso y entra al abomaso. (Bradley, 2014).

La leche o sustituto ingerido se coagula rápidamente en abomaso por la enzima renina al convertir la caseína en paracaseinato de calcio, el cual retiene glóbulos grasos. Este coágulo se contrae y se agregan una serie de componentes que representan al suero de leche. Este suero vehiculiza a la lactosa y proteínas solubles hacia el intestino delgado en donde se lleva a cabo la absorción en forma de glucosa y galactosa por acción de lactasas ubicadas en los enterocitos (Cunningham, 2014).

Uno de los principales objetivos de la alimentación temprana de terneras es maximizar el desarrollo ruminal, para alcanzar la capacidad de utilizar y aprovechar los forrajes complementados con el alimento balanceado (Castro *et al.*, 2012).

La maduración del retículo, rumen y omaso se dividen en 3 fases:

1. Lactante (0 a 21 días) en esta etapa los terneros solo poseen la capacidad de asimilar y digerir leche o sustitutos de esta, dependiendo de la absorción intestinal de glucosa como fuente primaria de energía para el ternero.
2. Periodo de transición (21 a 52 días) en el cual el ternero empieza a consumir pequeñas cantidades de alimento sólido y va estimulando el desarrollo gradual del retículo, rumen y abomaso. En esta etapa comienza a disminuir la glucemia mientras van aumentando los valores de concentración de AGV en especial acético (C2), propiónico (C3) y butírico (C4).
En esta etapa el ternero pasa de depender de las enzimas gástricas propias, a la simbiosis con los microorganismos ruminales.
3. Rumiante (a partir de los 52 días) el retículo, rumen y abomaso se encuentran totalmente desarrollados y funcionales, siendo el principal sustrato energético los AGV (Díaz *et al.*, 2008)

La transición de los terneros de lactante a rumiante implica una serie de cambios adaptativos, los cuales incluyen adaptaciones morfológicas y funcionales del TGI (Relling *et al.*, 2007). La presencia AGV en el rumen proporciona estímulos químicos necesarios para la proliferación epitelial (Flatt *et al.*, 1958, Sander *et al.*, 1959).

A nivel metabólico la principal fuente energética que se absorbe pasa de ser la glucosa (en lactante) a los AGV (rumiante), con lo que se generan cambios metabólicos que incluyen una activa gluconeogénesis y la alternativa de emplear acetato directamente como fuente energética o cetogénica (Relling *et al.*, 2007).

El desarrollo de la mucosa ruminal se ve afectado positivamente por las concentraciones de AGV ruminal pero negativamente por las concentraciones de lactato ruminal (Suárez *et al.*, 2006b). La superficie luminal del rumen en animales adultos se encuentra recubierta con numerosas papilas. Estas papilas son estructuras epiteliales encargadas de absorber los AGV como productos resultantes de la fermentación de los sustratos por parte de microbiota ruminal y estos productos son los principales estimuladores para el desarrollo del retículo-rumen en especial el ácido butírico.

El ácido butírico y en menor proporción el acético son los principales estimuladores del crecimiento tisular, en parte debido a que su metabolismo se lleva a cabo por los tejidos del rumen durante su absorción. Su metabolismo aporta energía para el crecimiento del tejido epitelial y para las contracciones musculares, además de sus efectos directos en la proliferación y diferenciación de las células epiteliales gastrointestinales (Davis *et al.*, 2002). En contraste con el retículo, rumen y omaso, el abomaso no se ve afectado en su maduración por la dieta y el desarrollo de este es proporcional al crecimiento del animal.

4.3. Colonización de bacterias y protozoarios

Los rumiantes albergan un complejo microbiano, en donde predominan las bacterias, aunque los rumiantes recién nacidos tienen su rumen estéril, este empieza a hacer colonizado al primer y segundo día de nacidos con numerosos microbios. (Bavera, 2008;

Daniels *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2016; Meale *et al.*, 2017). La colonización microbiana es necesaria para comenzar a desencadenar el proceso de desarrollo del rumen, para transformar los forrajes consumidos a productos que puedan ser utilizados por el animal para su mantenimiento y producción. (Bavera, 2008; Jami *et al.*, 2013; Meale *et al.*, 2017). El consumo de alimento sólido estimula la proliferación microbiana ruminal y la formación de productos finales microbianos (AGV) (Heinrich, 2005).

Durante las primeras horas de vida el retículo, rumen y omaso son rápidamente colonizados por bacterias, la densidad microbiana alcanza rápidamente concentraciones tan altas como 10^9 células ml^{-1} ; las bacterias estrictamente anaerobias se vuelven predominantes al segundo día después del nacimiento. Sin embargo, el establecimiento del ecosistema microbiano es un proceso largo, complejo y depende de muchos factores, incluyendo genética, edad, manejo y condiciones de alimentación. En los terneros criados artificialmente, la adquisición y el establecimiento de la población microbiana en el rumen depende del tipo de alimento ofrecido, instalaciones y situaciones de manejo (Khan *et al.*, 2016).

Los principales grupos funcionales de bacterias ruminales como celulolíticas, reductoras de sulfatos y otras especies que utilizan hidrógeno (metanogénicas), pueden encontrarse en el rumen durante la primera semana de vida y hacia la sexta semana están presentes todas las especies propias del adulto; el desarrollo inicial de flora lactogénica en el rumen se debe al escape esporádico de leche desde la gotera esofágica, que propicia temporales descensos de pH en rumen (Khan *et al.*, 2016). Estudios realizados por Khan *et al.* (2011b); Castells *et al.* (2012, 2013) y Malmuthuge, *et al.* (2015) demuestran que el tipo de dieta, factores de manejo (destete gradual, manejo de terneros en grupos, interacción con otros terneros) y aditivos afectan al establecimiento de la microbiota ruminal. Y es mayor la variación y composición microbiana en terneros que en adultos (Malmuthuge *et al.*, 2015).

Los protozoarios son menos numerosos que las bacterias en el rumen, pero debido a su mayor tamaño representan un volumen casi igual al de las bacterias en el rumen maduro. Minato *et al.*, (1992) informaron que los protozoos empiezan a colonizar el rumen de los terneros alrededor de 8 semanas de edad, así como el número y tipos de protozoos están marcadamente afectados por la dieta. Los protozoos ciliados no se establecen a menos que las comunidades bacterianas hayan colonizado previamente el rumen (Fonty *et al.*, 1988). Beharka *et al.*, (1998) y Anderson, *et al.* (1987) han reportado que los terneros alojados individualmente no tenían protozoarios al destete en diferentes edades y alimentados con dietas que diferían en tamaño de partícula. Otro factor que participa en el desarrollo de los protozoarios es el pH, se ha demostrado que el pH bajo del rumen es responsable de la no colonización de los protozoarios (Relling *et al.*, 2007). Por lo tanto, el establecimiento tardío de protozoos en el rumen de los terneros puede atribuirse en parte a la alta alimentación de grano (sin forraje) y a un ambiente ácido del rumen (Minato *et al.*, 1992; Franzolin & Dehority, 1996; Beharka *et al.*, 1998) y a diferencia de las bacterias, los protozoarios necesitan del contagio desde otro adulto, situación que se genera especialmente por el consumo de agua o alimento contaminado. Si este contagio no ocurre, los rumiantes pueden vivir años sin desarrollar su fauna ruminal (Relling *et al.*, 2007).

Estudios recientes sobre la microbiota ruminal en bovinos adultos han demostrado que la "microbiota central" del rumen es variable entre los animales y permanece estable independientemente de las diferencias en las dietas o en la genética del huésped (Jami & Mizrahi, 2012). También se ha demostrado que a pesar de intercambiar contenido ruminal

(Weimer *et al.*, 2010) o inducir acidosis (Petri *et al.*, 2013), la microbiota del núcleo es resistente al cambio. Estos estudios demuestran que el núcleo de la microbiota ruminal es variable entre animales y sorprendentemente estable dentro de un animal sometido a diferentes dietas y situaciones de alimentación. Por lo cual Khan *et al.*, (2016) sugieren que el período de transición de los terneros de alimentación líquida a sólida puede proporcionar una ventana para la programación microbiana para manipular la microbiota central.

Uno de los factores que condicionan el desarrollo bacteriano es la temperatura del rumen, la cual resulta del producto de las reacciones químicas dentro del rumen y de la regulación homeotérmica del rumiante, siendo de entre 38 y 42 °C (Relling *et al.*, 2007).

En intestino, la flora cambia pero dependiendo del calostrado, ya que predominan antes especies como *Escherichia coli*, *Streptococcus sp.* y *Clostridium welchii*, mientras que luego del calostrado predominan los lactobacilos. La microbiota intestinal es esencial para el desarrollo y diferenciación de la mucosa intestinal así como también el sistema inmune de la mucosa (Malmuthuge *et al.*, 2015).

4.4. Regulación del pH ruminal

El pH ruminal es crucial para el desarrollo normal del rumen, la fermentación ruminal y la salud general de los terneros. En general el pH del fluido ruminal está influido por la velocidad de fermentación y absorción de AGV, que a su vez se ven afectados por la velocidad de paso de la ingesta y la capacidad de regulación de pH del contenido ruminal (Williams *et al.*, 1987).

La flora normal del rumen se desarrolla en un rango de pH de 5.5 a 6.9. La cantidad de H⁺ producido va a depender del tipo de dieta y el tipo de microorganismo que fermenta dicho nutriente. Lo cual determinará también la eficiencia de ese alimento debido a la producción de metano y tipo de AGV (Relling *et al.*, 2004).

El pH ruminal de los terneros criados artificialmente es muy variable e influye en el ecosistema microbiano del rumen. Un pH bajo tiene importantes implicaciones para la composición de la comunidad microbiana, lo que a menudo resulta en un desplazamiento de la población no deseada y una ineficaz digestión del alimento (Penner & Oba, 2009). El pH bajo también disminuye la motilidad ruminal (Krause & Oetzel, 2005) y aumenta la queratinización de las papilas, resultando en disminución del flujo sanguíneo a la mucosa del rumen y reducción de la absorción de AGV (Penner & Oba, 2009). Los factores que influyen en la variación del pH son: cantidad y procesamiento de los cereales, fuente de forraje, tamaño de partícula, método de alimentación, volumen de ingesta, calidad y cantidad de proteína, tiempo postprandial y reguladores de pH dietéticos (Krause & Oetzel, 2005).

La glándula salival proporciona fluido continuo y regulación de pH para el funcionamiento normal del rumen. El flujo de saliva se ve afectado por comer y masticar (Guilloteau *et al.*, 2009). Los concentrados se consumen más rápido, requieren menos masticación, regurgitación y por lo tanto, estimulan menos producción de saliva en comparación con los forrajes (Yang & Beauchemin, 2006). Tanto la edad como los factores dietéticos (inicio de consumo de alimento sólido, tamaño de partícula y la regurgitación) afectan el desarrollo de la glándula salival y la producción de saliva en terneros.

4.5. Desarrollo del proceso de rumia

La rumia es el proceso de regurgitación del alimento ingerido desde el retículo-rumen hacia la boca, donde el bolo es remasticado, mezclado con saliva durante 30 a 60 segundos, y luego tragado de nuevo. No existe el proceso de rumia en los terneros recién nacidos, el desarrollo de este comportamiento es crítico para la fermentación ruminal (pH y tamaño de partícula de la ingesta) y en el vaciado del rumen (Baldwin *et al.*, 2004). Generalmente, la rumia aumenta el área superficial del alimento ingerido disminuyendo el tamaño de partícula y por lo tanto, reduce el tiempo de la fermentación, e incrementa la digestión y la velocidad de paso del alimento desde el rumen. Además, la rumia da como resultado un suministro continuo de fluidos y reguladores de pH (bicarbonato sódico) en el rumen que ayuda a neutralizar el ácido producido durante el proceso de fermentación y por lo tanto, ayuda a mantener el pH del rumen requerido para su función normal. (Khan., *et al.*, 2016).

El desarrollo de la rumia en los terneros es afectado por la edad y el consumo de alimento sólido. Una vez iniciado el consumo de alimento sólido, los terneros comienzan a rumiar, a partir de las 3 semanas de edad (Morisse *et al.*, 2000, Khan *et al.*, 2008). El desarrollo de la motilidad ruminal es esencial para la iniciación y regulación de la regurgitación. Los terneros muestran movimientos retículo-ruminales débiles antes del inicio del consumo de alimento sólido, pero las contracciones cíclicas regulares y fuertes aumentan a medida que los terneros aumentan su edad y empiezan a consumir alimento sólido. La presencia de AGV en el rumen es necesaria para iniciar el desarrollo de estos movimientos bifásicos esenciales para la regurgitación, el flujo de ingesta y la eliminación de los residuos de fermentación del rumen. Phillips, *et al.* (2004) observaron tiempos más largos y mayores frecuencias de rumia en terneros criados en grupos en comparación con los alojados individualmente, presumiblemente por el inicio más temprano y mayor consumo de alimento sólido en los terneros agrupados (Hepola *et al.*, 2008; de Vieira *et al.*, 2010). Por lo tanto, el inicio de la alimentación sólida y la cantidad consumida son los principales factores en el comienzo de la motilidad ruminal y la regurgitación en terneros (Khan *et al.*, 2016).

4.6. Desarrollo metabólico

El inicio de la fermentación anaeróbica desencadena el desarrollo metabólico del rumen (Khan., *et al.*, 2016), el cual se centra en la capacidad de las células ruminales para producir cuerpos cetónicos a partir de la absorción de los productos finales de la fermentación (AGV). Se cree que las concentraciones de AGV ruminal, así como la exposición temprana y prolongada a AGV, inducen la expresión de genes como acetoacetil-CoA tiolasa, 3-hidroxi-3 metil-glutaril-CoA sintasa y β -hidroxibutirato deshidrogenasa entre otros, responsables de la diferenciación de células epiteliales ruminales y de la actividad metabólicas (Baldwin *et al.*, 2004; Connor *et al.*, 2013).

El rumen de un ternero lactante no es cetogénico, debido a que su tejido ruminal no tiene la capacidad para oxidar el ácido butírico (principal sustrato cetogénico) a cuerpos cetónicos como β -hidroxibutirato o acetoacetato (Heinrichs, 2005; Daniels *et al.*, 2014), como resultado de lo anterior las concentraciones de estos metabolitos en la sangre son bajas (Daniels *et al.*, 2014).

Las adaptaciones de pre rumiante a rumiante completamente funcional coinciden con los cambios intestinales sobre la absorción de glucosa, ácidos grasos de cadena larga y aminoácidos disponibles a partir de la digestión intestinal de la lactosa de la leche o

sustitutos lácteos; los cuales, son reemplazados por los AGV con el desarrollo del rumen, ahora disponibles a partir de la fermentación ruminal (Baldwin *et al.*, 2004; Bavera, 2008). Puesto que la glucosa era el principal metabolito energético, la disminución en la disponibilidad de la misma requiere de un considerable cambio en los sistemas enzimáticos del hígado, intestino, músculo, tejido adiposo y otros para adaptarse a la disminución de la glucosa como combustible e incrementar su dependencia de los AGV y a la glucosa generada por la gluconeogénesis (Bavera, 2008).

En consecuencia, este cambio en el patrón de nutrientes y el suministro de la dieta provoca alteraciones sustanciales en la función hepática y en los procesos que requieren energía, como la síntesis de glucosa y urea (Baldwin *et al.*, 2004).

La glucosa es esencial en los terneros y es la principal fuente de energía, el suministro de esta se da por el consumo de calostro al nacimiento y posteriormente por el consumo de leche o sustitutos lácteos a partir de la digestión de lactosa (White & Leng, 1980; Hammon *et al.*, 2014; Danijela, 2015). Debido que la absorción de lactosa no satisface la demanda de glucosa en los terneros la glucogenólisis y especialmente la gluconeogénesis son las vías metabólicas más importantes para reestablecer la glucemia. Sin embargo, la gluconeogénesis en los terneros es muy baja y se tienen que realizar procesos de maduración para poder lograr una producción suficiente de glucosa endógena. (Hammon *et al.*, 2014; Danijela, 2015).

El principal cambio metabólico durante el desarrollo ruminal ocurre en el hígado que pasa de ser glucolítico a glucogénico a medida que aumenta la fermentación microbiana, menos carbohidratos están disponibles para la digestión postruminal y el suministro dietético de glucosa disminuye (Baldwin *et al.*, 2004).

Los terneros pre rumiantes debido a que su rumen no es funcional son capaces de utilizar el lactato, aminoácidos glucogénicos (especialmente alanina) y glicerol (en medida limitada) como sustratos para la gluconeogénesis (Donkin & Hammon, 2005). La gluconeogénesis del propionato es limitada en hepatocitos de terneros de 14 días (Donkin & Armentano, 1994; Donkin, 1999). Con el desarrollo de un rumen funcional, la producción de AGV aumenta y el propionato es el sustrato gluconeogénico más importante para los rumiantes (Donkin & Hammon, 2005). La gluconeogénesis renal contribuye entre 10 y 15% de la gluconeogénesis total y no está relacionada con la edad.

La piruvato carboxilasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa y glucosa-6-fosfatasa son enzimas limitantes de la velocidad de la gluconeogénesis. La disminución del almacenamiento de glucógeno hepático inmediatamente después del nacimiento va junto con el aumento de las actividades la glucosa-6-fosfatasa. Las mayores actividades de la glucosa-6-fosfatasa favorecen la conversión de glucosa-6-fosfato en glucosa y aseguran la liberación de glucosa en la circulación. El aumento de la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa en los terneros se acompaña de un aumento de gluconeogénesis y la producción endógena de glucosa, pero también aumentando el almacenamiento de glucógeno hepático con la edad.

4.7. Digestión

Las tres enzimas digestivas de importancia en los terneros lactantes son la quimosina, elastasa y lactasa producidas por el abomaso, páncreas e intestino delgado respectivamente. En el abomaso quimosina y en menor grado pepsina, coagulan la proteína de la leche. La coagulación es crucial para reducir el vaciamiento abomasal y

aumentar la eficiencia de los procesos digestivos en intestino, estas enzimas también inducen degradación hidrolítica de las proteínas dietéticas en el abomaso. La elastasa pancreática, divide proteínas globulares como la β -lactoglobulina en la leche. La tercera enzima típica en los rumiantes jóvenes es la lactasa, su actividad máxima es alta durante los primeros días de vida y después la actividad baja pero es suficiente para digerir lactosa de leche y sustitutos. La evolución postnatal de las secreciones digestivas, así como la digestibilidad de las proteínas dietéticas (en particular las proteínas de origen no lácteo) pueden ser un factor limitante en el crecimiento de los animales (Guilloteau *et al.*, 2009).

Los carbohidratos constituyen la fracción principal de la dieta en rumiantes. Los monosacáridos presentes en el alimento o resultantes de la hidrólisis de polisacáridos por glucólisis, son transformados en piruvato con formación final de ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico. Los almidones son degradados por acción bacteriana hasta ácido propiónico y ácido láctico. La celulosa es transformada en celobiosa, posteriormente en glucosa y finalmente en AGV. La hemicelulosa es degradada a xilosa y esta en fructuosa. La pectina es degradada en ácido pectínico y metanol (Shimada, 2009).

4.8. Fermentación ruminal y productos finales

La digestión fermentativa depende del desarrollo normal de los microorganismos que la realizan. Por lo cual, el ternero debe crear y mantener en retículo-rumen las condiciones ideales para el crecimiento de la microbiota y su multiplicación (Khan *et al.*, 2007). Las condiciones retículo-ruminales para el desarrollo de los microorganismos incluyen: aporte de nutrientes, anaerobiosis, pH, presión osmótica, temperatura, fácil acceso de los microorganismos al alimento y eliminación de los productos de desecho de este sistema (Relling *et al.*, 2007). Con la colonización microbiana y la presencia del sustrato apropiado (materia orgánica líquida o sólida) se desencadena la actividad de fermentación en el rumen y la generación de los productos finales de la fermentación (AGV) los cuales ya se pueden encontrar a las dos semanas de edad. Las concentraciones de AGV van aumentando con el incremento de la ingesta de alimento sólido. Los carbohidratos dietarios rápidamente fermentables (azúcares y almidón) producen más butirato y propionato a expensas del acetato, mientras que lo contrario sucede con la incorporación de carbohidrato lentamente degradable (fibra). Los patrones de fermentación ruminal en los terneros en desarrollo pueden verse afectados por la fuente y cantidad de forraje (Lesmeister & Heinrichs, 2004; Khan *et al.*, 2008).

La nutrición del rumiante depende de la nutrición de su microbiota. Esta degrada parcial o totalmente los componentes de la dieta, por lo cual puede aceptarse que en realidad se está alimentando al rumen para que luego este alimento al rumiante. El metabolismo anaerobio de los microorganismos ruminales es el factor responsable de la simbiosis con el rumiante. Debido a esto los microorganismos ruminales emplean la vía glucolítica para la obtención de energía. Por la vía glucolítica a partir de glucosa se obtienen 2 ATP, $\text{NADH}^+ \text{H}^+$ (que originará 3 ATP en cadena respiratoria) y piruvato (que aún conserva el 93% de la energía de la glucosa). El piruvato es convertido en acetyl-CoA, que ingresa al ciclo de Krebs para producir energía, generando como productos finales de la cadena respiratoria dióxido de carbono (CO_2) y agua, los cuales ya no poseen energía que aportar. Se puede inferir que si los microorganismos ruminales tuvieran un metabolismo aerobio consumirían toda la energía que posee esa glucosa. Al no poder utilizar el oxígeno, obtienen energía sólo de la producción de ATP durante la vía glucolítica, dejando como productos finales de su metabolismo $\text{NADH}^+ \text{H}^+$, que al no existir cadena

respiratoria no puede aportar energía y piruvato, que debido a las diferencias en las vías metabólicas microbianas, es convertido en AGV, como el acetato, el propionato y el butirato. Estos AGV, que como ocurre con el piruvato conservan gran parte de la energía de la glucosa, si bien son productos de desecho para los microorganismos representan la principal fuente energética para el rumiante (Relling *et al.*, 2007).

4.9. Absorción de AGV

Como productos finales de los procesos fermentativos de los carbohidratos y de las cadenas carbonadas de aminoácidos se producen ácidos grasos de cadena corta principalmente acetato, propionato y butirato, así como pequeñas cantidades de ácidos grasos de cadena larga como isobutirato, n-valeriánico e isovaleriánico y caproico. Estos ácidos grasos constituyen la fuente de energía del rumiante al ser absorbidos (Cunningham, 2014).

El estímulo primario para el desarrollo del epitelio son los AGV (butírico, propiónico y acético). Los alimentos ingresados al rumen, son fermentados por las bacterias presentes y degradados a AGV. Por lo tanto, son las bacterias las que proveen los AGV para el desarrollo epitelial. Los productos finales de la fermentación, son absorbidos por el epitelio ruminal (Bavera, 2008). La absorción de los AGV se lleva a cabo mediante difusión facilitada, al haber un gradiente de concentración favorable, dicha absorción es más efectiva en las regiones del rumen que cuentan con mayor cantidad de papilas, el proceso de absorción de los AGV se ve afectado por el pH ruminal, debido a que con un mayor aumento de este se reduce proporcionalmente la absorción (Shimada, 2009). Otras formas de absorción de los AGV son por difusión pasiva y transporte activo (Daniels *et al.*, 2014). Los AGV tienen diferente tasa de velocidad de absorción siendo el butirato, el que se absorbe a mayor velocidad que el propionato, mientras el acetato es el que se absorbe más lento (Shimada, 2009).

El acetato y el propionato se transfieren intactos en su mayor parte a la circulación portal del animal, mientras que del 85 a 90% del butirato ruminal se oxida a forma cetona antes de entrar en la circulación portal. El butirato ruminal se oxida principalmente a β -hidroxibutirato (BHBA) y en menor grado, al acetoacetato. Debido a este cambio en la forma de butirato, es comúnmente visto como un sustrato energético para las células epiteliales del rumen y también está implicado en el crecimiento de las papilas ruminales. (Daniels *et al.*, 2014).

La eficiente energía contenida en el compuesto de alta energía ATP, se obtiene en dos fases de metabolismo de los AGV: 1. Transformación microbiana de la glucosa hasta AGV. 2. Oxidación de los AGV absorbidos, que se realiza en los tejidos. Además los AGV absorbidos realizan funciones de síntesis: los ácidos acético y butírico son los productos iniciales para la síntesis de grasa corporal y de la leche y el ácido propiónico para la glucosa. La energía para el crecimiento microbiano es derivada de la fermentación de los carbohidratos, principalmente almidón y celulosa, cuya digestión anaerobia produce AGV, succinato, formato, lactato, etanol, CO₂, metano, y trazas de hidrógeno; sin embargo, ellos también aportan esqueletos de carbono esenciales para la síntesis de biomasa microbiana (Opatpatanakit *et al.*, 1994; Schofield *et al.*, 1994). La producción de gas desde la fermentación de la proteína es relativamente pequeña y la derivada desde la grasa es insignificante (Makkar 2004).

4.10. Butirato

El butirato es un producto final natural de la fermentación microbiana de los carbohidratos en el TGI. Su producción es especialmente alta en el rumen, particularmente cuando los animales son alimentados con dietas altas en almidón y azúcares simples. Cuando se ofrece alimento sólido alto en estos carbohidratos, se produce una alta producción de butirato en el rumen y una aceleración sustancial del epitelio ruminal y el desarrollo de las papilas ruminales. Esto, a su vez, da como resultado un alto consumo de alimento sólido y una digestión eficaz de la alimentación sólida a una edad muy temprana (5 a 10 días) (Guilloteau *et al.*, 2004; Górká *et al.*, 2009). El butirato también está presente en la leche entera, antes del desarrollo del rumen, esta fuente de butirato tiene un impacto sustancial en el desarrollo del TGI de los terneros, particularmente en el desarrollo del abomaso, intestino delgado y páncreas. El efecto estimulador del butirato añadido al sustituto de leche en el desarrollo del abomaso y del intestino delgado puede dar como resultado un mayor consumo de alimento sólido. Esto, a su vez, acelera el desarrollo ruminal, el butirato sódico es la fuente de butirato más utilizada en los alimentos para los terneros (Guilloteau *et al.*, 2004; Górká *et al.*, 2009; Górká *et al.*, 2011). El butirato sódico se disuelve fácilmente en agua y se disocia rápidamente en soluciones acuosas, se demostró repetidamente que el suplemento de butirato sódico no protegido en el sustituto de leche estimula el desarrollo del TGI en terneros. Cabe señalar que este efecto se observó incluso con una cantidad muy baja (0.3% de materia seca (MS) de sustituto lácteo) de suplementación (Gorka *et al.*, 2009).

La suplementación de butirato de sodio en el sustituto de leche aumenta la actividad enzimática del borde en cepillo y la secreción pancreática; en consecuencia, aumenta la eficiencia de la digestión de nutrientes y hay un afecto positivo en el crecimiento de los terneros. La adición de butirato de sodio produce un aumento GDP y del peso de la canal, mejora la digestibilidad, las secreciones pancreáticas e intestinales aumentan, así como el contenido pancreático de algunas enzimas se incrementan en gran medida. Los parámetros morfométricos también se modifican (aumenta la profundidad de la cripta y la longitud de la vellosidad en el intestino delgado), permitiendo así una mayor absorción de nutrientes. Estos cambios se asociaron con una mayor secreción postprandial de péptidos reguladores intestinales en particular de gastrina y CCK (Guilloteau *et al.*, 2009).

El butirato rápidamente es absorbido por la luz del intestino y es la principal fuente de energía para los colonocitos, en donde es metabolizado por β oxidación, también se ha demostrado que tiene muchos efectos celulares como: influencia de la maduración, diferenciación celular y apoptosis presumiblemente mediada por el efecto que el butirato pueda tener sobre la expresión de genes y sus proteínas. El metabolismo del butirato por el epitelio ruminal aumenta concomitantemente con la disminución del pH del rumen y el aumento de las concentraciones de butirato (Heinrichs, 2005).

Se han comparado diferentes métodos de suplementación con butirato en dietas para terneros recién nacidos. En donde, la adición de butirato de sodio no protegido en el sustituto de leche mejoró el crecimiento de los terneros, mientras que la suplementación de butirato de sodio protegido en el concentrado iniciador aumentó la ingesta de alimento sólido. Ambos métodos de suplementación estimularon el desarrollo del TGI. La suplementación con butirato aumentó longitud de las vellosidades, profundidad de la cripta y el índice mitótico en el intestino (Gorka *et al.*, 2009; Kato *et al.*, 2011).

5. Justificación del trabajo

Para llevar a cabo destetes precoces (49 d) se necesita que los terneros sean capaces de consumir alimento sólido, lo cual se relaciona con un correcto desarrollo del tracto gastrointestinal, para poder sostener el crecimiento y desarrollo de los terneros. Por lo cual se busca una alternativa con la complementación de butirato de sodio al sustituto lácteo como promotor, para acelerar la maduración del tracto gastrointestinal, para obtener destetes tempranos sin repercusiones en el crecimiento, contribuyendo a disminuir los días del manejo de la alimentación líquida.

6. Hipótesis

La complementación del butirato de sodio en el sustituto lácteo tiene efecto en el comportamiento productivo, en el metabolismo energético y proteico, en el desarrollo y comportamiento de la microbiota ruminal de los terneros.

7. Objetivo general

- Evaluar el efecto que tiene la complementación con butirato de sodio en el sustituto lácteo sobre el comportamiento productivo, microbiota del tracto gastrointestinal, metabolismo energético y proteico, cinética de gases, DIVMS y DIVMO de terneros Holstein.

8. Objetivos específicos.

- Determinar el CMS, GDP y CA entre grupos.
- Determinar la concentración de glucosa sérica y AGV a nivel ruminal.
- Determinar la concentración de proteínas totales séricas.
- Determinar la concentración de bacterias y protozoarios del líquido ruminal.
- Determinar el comportamiento *in vitro* a nivel ruminal del butirato de sodio.

9. Material y métodos

La prueba de comportamiento, las determinaciones de concentración de protozoarios y bacterias, pH del líquido ruminal, cinética de producción de gas, DIVMS y DIVMO se llevaron a cabo en las instalaciones del Centro Nacional en Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal (CENIDFyMA), INIFAP, mientras que las concentraciones de glucosa y proteínas totales séricas se realizaron en el laboratorio de patología clínica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC-UNAM).

9.1. Animales

Se utilizaron 24 terneros machos Holstein de 3 d de edad, los cuales a su arribo al CENIDFyMA se procedió a realizarles una exploración general del estado de salud,

examinando principalmente el cordón umbilical, articulaciones y el área perianal, para descartar procesos diarreicos, posibles onfaloflebitis y artritis, posteriormente fueron pesados y alojados individualmente en corrales de 1.80 x 3.20 m., equipados con baldes para el sustituto lácteo, agua y alimento.

9.2. Alimentación.

Para la prueba se utilizó un sustituto lácteo comercial, cuyo análisis garantizado fue 22% de PC, 12% de grasa, 5% de humedad, 7% de cenizas, 1% de fibra y 53% ELN; reconstituido a razón de 113 g/L de agua a 39°C, los terneros fueron alimentados a las 8:00 y 15:00 h. a razón de 2 L por comida. Partir del d 5 se les ofreció concentrado iniciador comercia a libre acceso (12.5% de humedad, 18.0% de PC, 2.0% de grasa, 1.2% de calcio, 8.0% de fibra, 8.0% de cenizas, 51.5% de ELN y 0.5% de fósforo), el periodo experimental tuvo una duración de 49 d coincidiendo con el destete.

9.3. Tratamientos

Los animales fueron asignados aleatoriamente a uno de 3 tratamientos (n=8), 1: sustituto lácteo sin butirato de sodio (control), 2: sustituto lácteo con 5 g de butirato de sodio/d, 3: sustituto lácteo con 10 g de butirato de sodio/d, las sales de butirato de sodio utilizadas fueron de tipo comercial con una concentración del 60% (Poliacid BS), los tres tratamientos fueron preparados de manera manual.

9.4. Mediciones y determinaciones

9.4.1. Comportamiento productivo

9.4.1.1. CMS

El CMS del alimento iniciador se midió diariamente restando el alimento rechazado del ofrecido.

$$CMS = \text{alimento rechazado} - \text{alimento ofrecido}$$

9.4.1.2. GDP

Los terneros se pesaron individualmente en una báscula digital con capacidad de 300 kg al inicio de la prueba, y en los días 7, 14, 21, 28, 35, 42 y 49 antes de la alimentación matutina para determinar la GDP

$$GDP = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{días}}$$

9.4.1.3. CA

Esta variable productiva se calculó con los datos de CMS y GDP.

$$CA = \frac{CMS}{GDP}$$

9.4.2. Metabolismo energético

9.4.2.1. Glucosa

De cada ternero se colectaron 7 mL de sangre de la vena yugular en tubos Vacutainer (BD, México) sin anticoagulante (agujas calibre 18) de dos días consecutivos en dos periodos a los 42, 43 y 49, 50 días (2 h postalimentación), los tubos se centrifugaron a 252 g durante 15 min para la obtención de suero, el cual fue almacenado a -20 °C para posteriormente ser utilizado para determinar la concentración de glucosa por el método enzimático (GOD-PAD).

9.4.2.2. AGV

Con ayuda de sonda esofágica y bomba de vacío se colectó el líquido ruminal (100ml), del cual se tomaron 0.8 ml a los cuales se les añadió 0.2 ml de ácido metafosfórico al 25% (p/v) para medir la concentración de AGV (Pérez, 2006) por cromatografía. En un cromatógrafo Perkin Elmer, Modelo Claurus 500 con columna capilar Elite FFAP. El gas acarreador utilizado fue hidrógeno con flujo de 15 mL min⁻¹. Se inyectó 1 µL de muestra, con temperatura de inyector de 200°C, detector de 250°C y una temperatura de horno de 140°C por 5 minutos.

9.4.3. Metabolismo proteico

9.4.3.1. Proteínas totales

Se colectaron 7 mL de sangre a partir de la vena yugular, en tubos Vacutainer (BD, México) sin anticoagulante, los d 42, 43 y 49, 50 del experimento, todos los tubos se centrifugaron a 252 G durante 15 min para la obtención de suero, el cual fue almacenado a -20 °C para posteriormente ser utilizado para determinar la concentración de proteínas totales por el método colorimétrico (BIURET).

9.4.4. Concentración de bacterias y protozoarios

Los días 42 y 49 de la prueba se colectó líquido ruminal (100 ml) de cada ternero, con ayuda de sonda esofágica y el uso de una bomba de vacío, para posteriormente determinar el pH con potenciómetro (Orion modelo 710A) calibrado a dos valores de pH (4.0 y 7.0).

Del líquido ruminal se tomaron 0.5 ml y se les agregó 0.5 ml de formaldehído al 18.5% para llevar a cabo el conteo de protozoarios por el método de Dehority (1984). Utilizando la cámara de Neubauer y un microscopio Zeiss a una magnificación de 40X. El conteo se realizó en 27 cuadros (0.25 X 0.25)

Concentración de protozoarios = (Promedio) (Factor de dilución) (10^4)

Se tomó 1 ml del líquido ruminal colectado para determinar la concentración de bacterias totales, la cual fue determinada por la técnica del recuento directo en microscopio a través de la cámara de Petroff-Hausser. El conteo se realizó en 10 cuadros (0.05 x 0.05), elegidos al azar utilizando un microscopio de contraste marca Olimpos® modelo BX51, lente objetivo 100 x, contraste ph3 y filtro de luz azul. El procedimiento fue realizado de acuerdo a lo descrito en el manual de operación Sigma (1990).

9.4.5. Cinética de la producción de gas

La fermentación del sustrato (concentrado) se midió indirectamente por la técnica de producción de gas (Menke y Steingass, 1988; Theodorou *et al.*, 1994) con el fin de evaluar el comportamiento del butirato de sodio a nivel ruminal. Se colocaron 500 mg de materia seca de sustrato en frascos de vidrio color ámbar de 120 mL de capacidad y simultáneamente se les adicionó 90 mL de inóculo ruminal y un flujo continuo de CO₂. Los frascos fueron tapados herméticamente con tapón de goma y aro metálico, se incubaron en baño maría a 39°C por 72 h. El inóculo ruminal se obtuvo de dos bovinos canulados de raza Holstein alimentados durante 15 días con la dieta correspondiente. El contenido ruminal de los bovinos se manejó de la siguiente manera: se filtraron a través de cuatro capas de gasa y se mezclaron con una solución mineral reducida en una proporción 1:9 (v/v), solución reductora (20 mL L⁻¹) y 1 gota de rezarzurina.

El volumen de gas se midió a las 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 48, 52 y 72 h de incubación. A final de la incubación se procedió a filtrar las muestras al vacío en papel filtro para posteriormente secarlos a 50 °C por 24 h. se procedió a incinerarlos a 600°C (para obtención de cenizas). Se determinaron los parámetros de volumen máximo (V_m, mL g⁻¹) y volumen fraccional a las 12, 48 y 72 h, tasa de producción (S, h⁻¹) y fase lag (L, h) de la cinética de producción de gas, utilizando los datos de volumen de gas acumulado (V_o) con respecto al tiempo de incubación (T) y el modelo $V_o = V_m / (1 + e^{(2-4 \cdot S \cdot (T-L))})$.

9.5. Análisis estadístico

Para esta prueba se utilizó un diseño experimental completamente al azar. El CMS, GDP, CA, concentración de glucosa, proteínas totales, pH del líquido ruminal, concentración de bacterias, protozoarios, AGV, DIVMS y DIVMO se analizaron utilizando el procedimiento de modelo mixto de SAS (versión 9.0). El análisis de varianza y comparación de medias se determinó por el rango múltiple de Tukey para examinar el efecto del tratamiento sobre las variables antes mencionadas. Los efectos de los factores se declararon significativos a P < 0.05.

10. Resultados

10.1. Comportamiento productivo

Los resultados de CMS, GDP y CA se presentan en el cuadro 1. La CA del grupo suplementado con 10 g de butirato de sodio fue diferente ($P < 0.05$) a los grupos con 0 y 5 g de butirato de sodio y entre estos dos últimos grupos no existen diferencias, para la GDP y el CMS no se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, hubo diferencias numéricas a favor en GDP de los grupos suplementados con butirato; 485, 484 y 390 g de para los grupos de 10, 5 y 0 g de butirato respectivamente. Para el CMS la diferencia numérica solo se observó en los animales suplementados con 5 g de butirato de sodio en comparación con los animales suplementados con 10 y 0 g de butirato 950 vs 854 890 g de CMS respectivamente.

Cuadro 1 Respuesta de la prueba de comportamiento de becerros Holstein.

	g butirato de sodio/animal/d			EEM
	0	5	10	
CMS (g.)	890 ^a	950 ^b	854 ^a	0.070
GDP (g.)	390	484	485	17.995
CA (kg/kg)	2.33 ^a	2.02 ^{ab}	1.78 ^b	18.639

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$), EEM = error estándar de la media, CMS = consumo de materia seca, GDP = ganancia diaria promedio, CA = conversión alimenticia.

10.2. Metabolismo energético

10.2.1. Concentración de glucosa

Los resultados de las concentraciones séricas de glucosa se muestran en el cuadro 2. En el día 42, el grupo control muestra una menor concentración sérica de glucosa (176.40 mg/dl, $P < 0.028$), que los grupos tratados con 5 y 10 g de butirato de sodio (191.02 y 242.22 mg/dl respectivamente) en donde no hay diferencias estadística entre ellos.

En el día 43, no existen diferencias en la concentración sérica de glucosa entre tratamientos.

En el día 49, el grupo control tiene una menor concentración de glucosa sérica (218.05 mg/dl, $P < 0.033$) que los grupos tratados con 5 y 10 g de butirato de sodio (231.25 y 280.04 mg/dl, respectivamente) y en donde no existe diferencia estadística entre estos.

Para el día 50, el grupo tratado con 10 g de butirato de sodio obtuvo una mayor concentración sérica de glucosa (363.14 mg/dl $P < 0.006$) que el grupo control y el tratamiento con 5 g de butirato de sodio (229.59 y 238.39 mg/dl, respectivamente), en donde no existe diferencia estadística entre estos.

Cuadro 2 Concentración de glucosa (mg/dl) en suero de becerros Holstein.

Tratamiento Día de muestreo	g butirato de sodio/animal/d			EEM	P
	0	5	10		
42 d	176.40 ^b	191.02 ^{ab}	242.22 ^a	10.98	0.028
43 d	217.73	207.09	273.47	13.61	0.097
49 d	218.05 ^b	231.25 ^{ab}	280.04 ^a	10.58	0.033
50 d	229.59 ^b	238.39 ^b	363.14 ^a	20.61	0.006

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes (P<0.05), EEM =error estándar de la media.

10.2.2. AGV

En el cuadro 3, se presentan los resultados de las concentraciones molares de los ácidos grasos volátiles (AGV) en rumen. En el grupo control se observa una mayor concentración de ácido acético (11.17mM, P<0.014) comparado con los grupos experimentales con 5 y 10 g de butirato (9.23 y 9.69 mM, respectivamente), entre estos grupos no hay diferencia estadística.

El grupo experimental con 10 g de butirato de sodio mostró una mayor concentración de ácido propiónico (27.91 mM, P<0.001), que el grupo control y el grupo tratado con 5 g de butirato de sodio (23.84 y 23.42 mM, P<0.001), en donde no hubo diferencia estadística entre estos grupos.

Los terneros tratados con 10 g de butirato de sodio demostraron una mayor concentración de ácido butírico (37.94 mM, P<0.0001), que el grupo control y el tratamiento con 5 g de butirato de sodio (27.49 y 33.42 mM, respectivamente) y en donde el grupo tratado con 5 g de butirato tiene una concentración mayor de este ácido que el grupo control (33.42 y 27.49 mM, respectivamente, P<0.0001).

Cuadro 3 Concentración de AGV.

	g de butirato de sodio/animal/d			EEM	P
	0	5	10		
Acético mM	11.17 ^a	9.23 ^b	9.69 ^{ab}	0.299	0.014
Propiónico mM	23.84 ^b	23.42 ^b	27.91 ^a	0.609	0.001
Butírico mM	27.49 ^c	33.42 ^b	37.94 ^a	1.008	<0.0001

^{a, b, c} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes (P<0.05), EEM = error estándar de la media.

10.3. Metabolismo proteico

10.3.1. Concentración de proteínas totales

Los resultados de las concentraciones séricas de proteínas totales se muestran en el cuadro 4. En el día 42, el grupo control muestra una menor concentración de proteína total en sangre (5.40 g/dl, P< 0.005), que los grupos tratados con 5 y 10 g de butirato de sodio (6.87 y 6.72 g/dl respectivamente) y en donde no hay diferencia estadística entre ellos.

El día 43, el grupo control presenta una menor concentración de proteína total en sangre (5.29 g/dl, P< 0.036), que los grupos tratados con 5 y 10 g de butirato de sodio (6.49 y 6.74 g/dl respectivamente) y en donde no hay diferencia estadística entre estos.

Para el día 49, el grupo control tiene una menor concentración sérica de proteína total en sangre (5.51 g/dl, $P < 0.008$) que los grupos experimentales con 5 y 10 g de butirato de sodio (6.81 y 6.54 g/dl respectivamente), en donde tampoco hay diferencias estadísticas entre ellos.

En el día 50, no existen diferencias en la concentración sérica de proteína total entre grupos.

Al haber una mayor concentración de proteínas séricas se sugiere una mayor accesibilidad de aminoácidos para el desarrollo y maduración de los tejidos del aparato digestivo (retículo, omaso y abomaso).

Cuadro 4 Concentración de proteínas totales en suero de becerros Holstein.

Tratamiento	g butirato de sodio/animal/d			EEM	P
	0	5	10		
Prot. Tot. 42 d (g/dl)	5.40 ^b	6.87 ^a	6.72 ^a	0.021	0.005
Prot. Tot. 43 d (g/dl)	5.29 ^b	6.49 ^{ab}	6.74 ^a	0.253	0.036
Prot. Tot. 49 d (g/dl)	5.51 ^b	6.81 ^a	6.54 ^a	0.948	0.008
Prot. Tot. 50 d (g/dl)	5.48	6.22	6.20	0.774	0.086

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$), EEM = error estándar de la media.

10.4. Concentración de bacterias, protozoarios y medición de pH

Los resultados de la concentración de bacterias, protozoarios y determinación del pH se presentan en el cuadro 5. El grupo control demostró una menor número de bacterias totales ($8.80 \cdot 10^9$ mL⁻¹, $P < 0.0001$), comparado con los tratamientos 5 y 10 g de butirato de sodio (22.87 y $26.04 \cdot 10^9$ mL⁻¹, respectivamente), no encontrando diferencias estadísticas entre estos. Este hallazgo se puede tomar como un indicador indirecto de un mejor desarrollo el rumen por parte de los grupos complementados con butirato de sodio.

No se encontraron protozoarios en ninguno de los grupos y no se encontraron diferencias estadísticas en la concentración molar de nitrógeno amoniacal entre grupos.

El día 42, el grupo control demostró un pH más alcalino (6.96, $P < 0.014$), comparado con los tratamientos 5 y 10 g de butirato de sodio (6.18 y 6.26 respectivamente) y en donde no existió una diferencia estadística entre estos.

El día 49, el grupo control también demostró un mayor valor de pH (6.77, $P < 0.0006$), que los grupos experimentales 5 y 10 g de butirato de sodio (6.080 y 5.98, respectivamente), además, entre estos no existe diferencia estadística.

Cuadro 5 pH, concentración de bacterias y protozoarios en líquido ruminal de becerros Holstein.

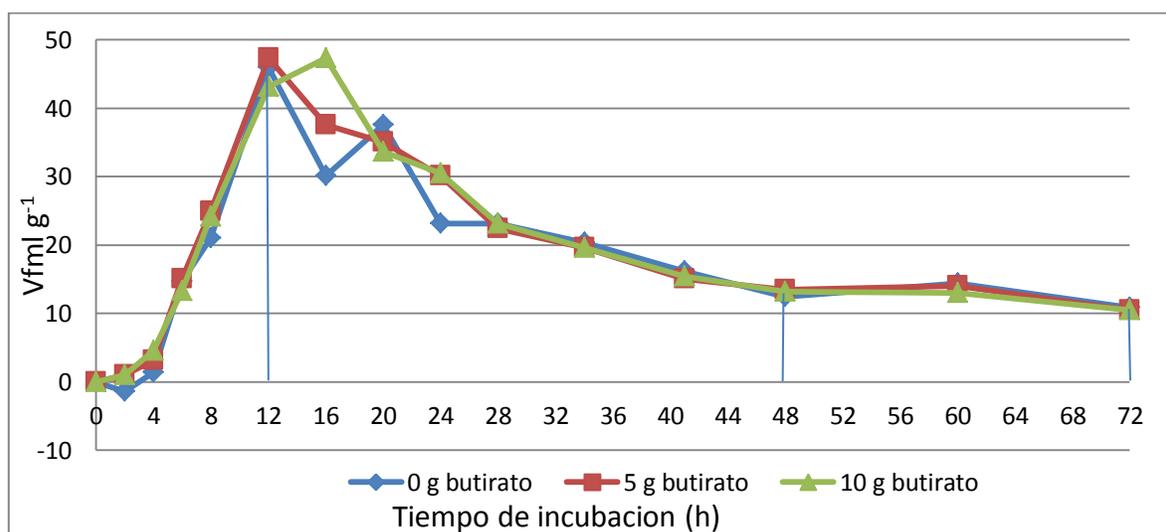
	g butirato sodio/animal/d			EEM	P
	0	5	10		
pH 42 d	6.96 ^a	6.18 ^b	6.26 ^b	0.117	0.014
pH 49 d	6.77 ^a	6.08 ^b	5.98 ^b	0.102	0.0006
Bacterias Tot. 10 ⁹ mL ⁻¹	8.80 ^a	22.87 ^b	26.04 ^b	1.686	<0.0001
Protozoarios 42 d	0	0	0	0	0
Protozoarios 49 d	0	0	0	0	0
NNH3 mM	16.26	14.23	17.07	1.062	0.553

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes (P<0.05), EEM = error estándar de la media, NNH3 = nitrógeno amoniacal.

10.5. Cinética de producción de gas, DIVMS y DIVMO

En la Figura 1, se muestran el volumen fraccional de gas *in vitro*, sin diferencia entre tratamientos, se puede observar que hubo una mejor respuesta a la inclusión de 5 g butirato en el periodo de 4 a 12 h. En el cuadro 5 se presentan los valores de volúmenes, L y S. la inclusión de 5 g butirato de sodio fermentó más rápido (L = 5.7440) en comparación con las inclusiones de 0 y 10 g de butirato (L =6.5789 y 5.9494) respectivamente, y entre estos últimos no hubo diferencia, tampoco para el potencial de fermentación, aunque si numéricamente hay un mayor potencial de fermentación para los grupos suplementados con 5 y 10 g de butirato en comparación con el grupo control (290.6 y 293.6 vs 268.6). La variable Vmax se relaciona con la fermentación potencial de un alimento y con la cantidad, disponibilidad y composición química del sustrato. La fase Lag o fase de retardo es el tiempo antes de que los microorganismos inicien la degradación de los componentes del sustrato. La velocidad con la cual los microorganismos del rumen fermentan los componentes del alimento o tasa de producción de gas (S), no mostró efecto entre las muestras tratadas con butirato y el control.

Figura 1. Volumen fraccional de la producción de gas *in vitro* en muestras adicionadas con butirato de sodio.



Cuadro 6 Volúmenes, L y S de producción de gas de muestras adicionadas con butirato de sodio

	g de butirato de sodio			EEM	P
	0	5	10		
Vmax (ml g ⁻¹ MS)	268.6	290.6	293.6	5.068	0.0619
Va (ml g ⁻¹ MS)	91.5	81.7	86.3	2.123	0.1704
Vb (ml g ⁻¹ MS)	150.4	159.9	169.8	4.863	0.3012
Vc (ml g ⁻¹ MS)	37.7	38.0	36.6	0.982	0.8706
L (h)	6.5 ^a	5.7 ^b	5.9 ^{ab}	0.144	0.048
S (h)	0.0421	0.0420	0.0430	0.0006	0.793

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes (P<0.05), EEM = error estándar de la media, V = volumen máximo de gas, Va = volumen acumulado de 0 a 12 h, Vb = volumen acumulado de 12 a 48, Vc = volumen acumulado de 48 a 72, L = tiempo lag, S = tasa de producción de gas.

Los resultados de DIVMO y DIVMS se muestran en el cuadro 7. El grupo experimental con 10 g de butirato de sodio demostró una mayor DIVMO (87.06 %, P<0.04) que el grupo control y el tratamiento con 5 g de sodio (78.36 y 83.46 %, respectivamente), no encontrando diferencia entre estos grupos.

El grupo experimental con 10 g de butirato de sodio presentó una mayor DIVMS (86.04%, P< 0.0408) que el grupo control y que el grupo tratado con 5 g de butirato de sodio (77.34 y 82.44 % respectivamente), no encontrando diferencia estadística entre estos grupos .

Estos hallazgos indican que la adicción de butirato de sodio mejora la digestibilidad de la dieta.

Cuadro 7 Digestibilidad *in vitro* de la materia seca y orgánica.

	g de butirato de sodio/animal/d			EEM	P
	0	5	10		
DIVMO %	78.36 ^a	83.46 ^{ab}	87.06 ^b	2.041	0.0400
DIVMS %	77.34 ^a	82.44 ^{ab}	86.04 ^b	1.558	0.0408

^{a, b} Medias con diferentes literal en la misma fila son diferentes (P<0.05), EEM = error estándar de la media, DIVMO =digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica, DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

11. Discusión

11.1. Comportamiento productivo

Se observó un aumento en GDP de los animales (390, 484, vs 485 g para los animales con 0, 5 y 10 g de butirato respectivamente); sin embargo, no se encontraron diferencias en GDP entre los grupos, concordando con lo reportado con Gorka *et al.* (2011) quienes trabajando con butirato de sodio añadido al sustituto lácteo a una dosis de 0 y 3 g, registraron GDP de 245 y 265 g respectivamente y Kato *et al* (2011) quienes al trabajar con 24 terneros Holstein de 3 d de edad por 42 d dosificando butirato de sodio gradualmente (3, 5 y 7 g) al sustituto lácteo, reportaron una GDP de 255±12 y 277±10 g respectivamente. La razón principal de no encontrar diferencia, pudo deberse a que los terneros utilizados en la prueba eran muy jóvenes y fueron alimentados con sustituto lácteo, mientras que las mediciones para otros estudios se obtuvieron en animales de

mayor edad o siendo alimentados con leche entera como es el caso de Guilloteau *et al.*, (2004) quienes trabajaron con terneros Holstein de 12 d de edad y los cuales fueron alimentados previamente con leche entera; al igual que la leche entera contiene butirato, esta fuente de butirato tiene un impacto sustancial en el desarrollo del TGI de los terneros, particularmente en el desarrollo del abomaso, intestino delgado y páncreas (Guilloteau *et al.*, 2010) y Liu *et al.*, (2016) que trabajaron con terneros de 15 d de edad, mientras que los animales utilizados en nuestro estudio tenían 3 d de edad, así como que el sustituto lácteo contenía menor cantidad de grasa (12.0%) y no se encontraba suplementado con lisina.

Mientras que en CMS el grupo tratado con 5 g de butirato de sodio fue mayor que los tratamientos de 0 y 10 g de butirato de sodio (950 vs 890 y 854 g respectivamente / $P < 0.05$) a este nivel de inclusión coincide con lo reportado con Nazarí *et al.* (2012) usando 3 g de butirato de sodio comparado con su grupo control (690.1 ± 3.95 vs 645.1 ± 8.98 g respectivamente). En el caso de los terneros complementados con 10 g de butirato de sodio tuvieron un CMS menor que el grupo control (854.50 vs 890.50 respectivamente), esto mismo fue registrado por Kato *et al.*, (2004) para los animales suplementados con butirato registrando 1620 ± 110 y 1570 ± 140 g para los tratamientos de 0 y una dosificación gradual de 3, 5 y 7 g butirato de sodio en el sustituto lácteo

Para el caso de los animales tratados con 10 g de butirato de sodio, los resultados del presente estudio coinciden con lo demostrado por: Nazarí *et al.*, 2012 y Liu *et al.*, 2016 en la mejora del comportamiento productivo de los terneros complementados con butirato, reflejado en la CA, para la cual hubo una diferencia a favor del grupo tratado con 10 g de butirato de sodio en comparación con los grupos de 0 y 5 g de butirato (1.78 vs 2.33 y 2.02 kg/kg). La CA se mejoró en un 23.5% en comparación con el grupo control, concordando con lo reportado con Nazarí *et al.*, 2011 quienes reportaron que la CA mejoró en un 31% en comparación con su grupo control, en otro estudio realizado por Serbester *et al.* (2014), encontraron una mejor CA de los terneros tratados con 3 g de butirato de sodio en comparación con el control (1.76 vs 1.02 kg/kg respectivamente); Liu *et al.* (2016) reportaron una diferencia a favor de los animales tratados con 6 y 9 g de butirato en comparación con en el grupo control (3.19 y 3.12 vs 3.66 kg/kg respectivamente). Probablemente debido al efecto positivo del butirato sobre el crecimiento, aumento de la absorción y utilización de los nutrientes según Hill *et al.*, 2007 y Guilloteau *et al.*, 2009, atribuidos a su efecto estimulador en la maduración y función del intestino delgado y del páncreas (Guilloteau *et al.*, 2010), dando lugar a una mayor digestibilidad de los nutrientes, mayor secreción de enzimas digestivas, aumento de la proliferación, diferenciación maduración y reducción de la apoptosis de los enterocitos. (Cummings *et al.*, 1995, Guilloteau *et al.*, 2010).

11.2. Metabolismo energético

11.2.1. Concentración de glucosa

Los resultados de este estudio coinciden con lo demostrado por Gorka., *et al.* (2011) y Nazarí., *et al.* (2012) quienes reportaron incremento de la concentración de glucosa en suero de los terneros suplementados con butirato de sodio (70.2 vs 81.1 mg/dl y 84.3 ± 0.65 vs 91.6 ± 0.90 mg/dl respectivamente), en este estudio fueron para los animales suplementados con 5 y 10 g/animal/d en comparación con el grupo control en los días 42, 49 y 50 (176.40 vs 191.02 mg/dl y 242.22 , 218.05 vs 321.25 y 280.04 mg/dl, 229.59 y 238.59 vs 363.14 mg/dl respectivamente), probablemente debido a que en los terneros lactantes el principal sustrato energético es la glucosa, su mayor concentración

plasmática en terneros suplementados con butirato de sodio 5 y 10 g/animal/d debe considerarse un resultado positivo en este período de vida (Gorka., *et al* 2011), además se ha sugerido que el propionato es el sustrato esencial para la síntesis de glucosa en ruminantes (Annison *et al.*, 1963). Las elevadas concentraciones séricas de glucosa e insulina se acompañaron con una mayor concentración de propionato en los terneros suplementados con butirato. Siguiendo un mismo patrón las concentraciones de glucosa e insulina (Nazarí., *et al* 2012)). Lane y Jesse (1997) observaron que la infusión intra ruminal de AGV dio como resultado una mayor concentración de insulina en sangre, por lo que sugirieron que la insulina puede estimular la mitosis en el epitelio ruminal.

11.2.2. Concentración de AGV

El propionato es el principal sustrato para la síntesis de glucosa en los ruminantes, lo cual se puede confirmar en este estudio al encontrar una mayor concentración de glucosa, la cual también fue acompañada de una mayor concentración de ácido propiónico (23.84 23.42 y 27.91 mM) encontrando diferencias para el grupo tratado con 10 g de butirato en comparación con los grupos de 0 y 5 g de butirato. De hecho estos mismos resultados fueron reportados por Gorka *et al.*, (2009) quienes reportaron una mayor concentración de ácido propiónico entre los animales tratados con butirato y el grupo control (38.0 ± 3.6 y 28.7 ± 5.2 mM respectivamente) y Nazari *et al.*, (2012) reportaron también una concentración mayor de ácido propiónico (27.1 ± 0.09 y 38.7 ± 1.08 mM respectivamente). Al estar correlacionado el ácido propiónico con la concentración sérica de glucosa también se reportó una mayor concentración de glucosa que se acompañó del aumento de ácido propiónico. La mayor concentración total de AGV fue para el tratamiento de 10 g de butirato de sodio (62.50, 66.08 y 75.54), es un indicador indirecto de una mayor capacidad de absorción de AGV por parte del epitelio ruminal, con lo cual se puede asumir que al haber una mayor capacidad de absorción por el epitelio ruminal hay un mayor desarrollo del rumen. Al ser el ácido butírico la fuente energética preferida por el epitelio del rumen (Gorka *et al.*, 2009; Gorka *et al.*, 2011; Baldwin *et al.*, 2004). Al encontrar una diferencia en la concentración de ácido butírico entre los animales complementados con 0, 5 y 10 g de butirato de sodio (27.49 vs 33.42 vs 37.94) en comparación con el control nos indican que hay una mayor cantidad de sustrato para el desarrollo de las papilas ruminales, esto mismo fue reportado por Nazari *et al.*, (2012) 9.4 ± 0.062 vs 12.8 ± 0.46 respectivamente para el grupo control y el grupo tratado con 3 g de butirato

11.3. Metabolismo proteico

11.3.1. Concentración de proteínas totales

En cuanto a la concentración de proteínas totales también se observaron diferencias en los días 42, 43 y 49 entre los grupos suplementados con 5 y 10 gramos de butirato de sodio/d y los del grupo control (5.40 vs 6.87 6.72 g/dl; 5.29 vs 6.49 6.74 g/dl y 5.5 vs 6.81 6.54 g/dl respectivamente) y entre el los grupos suplementados no hubo diferencias, coincidiendo con los hallazgo realizados por Gorka., *et al* (2011) quienes al d 14 reportaron una mayor concentración de proteínas totales séricas entre los tratamientos con 0 y 3 g de butirato de sodio (4.6 vs 5.0 g/dl respectivamente) estos autores sugieren que una mayor concentración de proteínas totales en suero, en los terneros suplementados con butirato de sodio también se debe considerar como un efecto positivo de la suplementación sugiere una mayor accesibilidad de aminoácidos para el desarrollo de los tejidos del TGI.

11.4. Concentración de bacterias y pH

Los resultados de este estudio para el pH muestran diferencias en los dos periodos de muestreos (42 y 49 días) entre los animales suplementados con 5 y 10 g de butirato de sodio/d en comparación con el grupo control; 6.96, 6.18 y 6.26 para los grupos suplementados con 0, 5 y 10 g de butirato/d respectivamente para el día 42; en el caso del día 49 se registraron valores de pH de 6.77, 6.08 y 5.98 para los animales suplementados 0, 5 y 10 g de butirato de sodio/d respectivamente. Aunque el pH ruminal se redujo con dosis cada vez mayores de butirato, el pH ruminal estaba en el nivel óptimo (de 5.7 a 7.0), y probablemente no afectaría la ingesta de CMS (Li *et al.*, 2015), esta disminución del pH se acompañó de una mayor concentración de AGV.

La microbiota del rumen desempeña un papel esencial en la producción de nutrientes y la utilización en los rumiantes (Bavera, 2008; Jami *et al.*, 2013; Meale *et al.*, 2017). Li *et al.*, (2012) al realizar infusiones de butirato en bovinos, observaron modificaciones en la microbiota ruminal en donde aumentó la concentración de *Butyrivibrio fibrisolvensis*, lo cual puede explicar la diferencia en el aumento de la concentración de bacterias entre los grupos suplementados y el control respectivamente.

No se encontraron protozoarios en ninguno de los tratamientos lo cual puede deberse a varios factores como: el bajo pH ruminal según Beharka *et al.*, 1998 y Minato *et al.*, 1992 a la falta de contacto con animales adultos, que es como los protozoarios generalmente son transmitidos de la vaca a su ternero o por contacto con saliva de un animal adulto en el agua de bebida o del alimento que en este caso no se dio debido a que los terneros se encontraban en corrales individuales lo que dificultó el contacto con otros animales.

11.5. Digestibilidad *in vitro* de materia orgánica y materia seca

En resultados de este estudio se observó claramente que la inclusión de butirato de sodio mejora la digestibilidad tanto de MS y de MO, siendo diferentes en la inclusión del 10% de butirato de sodio (87.0 y 86.0 respectivamente para DIVMO y DIVMS) en comparación con las inclusiones con 0 y 5% de butirato de sodio (78.3, 77.3 y 83.4, 86.4 respectivamente para DIVMO y DIVMS). Li *et al.*, 2012 al realizar infusiones de butirato en bovinos, observaron modificaciones en la microbiota ruminal en donde aumentó la concentración de *Butyrivibrio fibrisolvensis*, esta bacteria productora de butirato tienen un papel importante en la degradación de proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos estructurales de almacenamiento de las plantas (Mrazek *et al.*, 2006; Čepeljnik *et al.*, 2003). Con lo cual podemos decir que la inclusión de butirato de sodio al alimento modifica la microbiota ruminal aumentando la concentración de las bacterias generadoras de butirato endógeno, provocando un aumento de la digestibilidad de los alimentos ingeridos por los animales en rumen.

12. Conclusiones

Complementar el sustituto lácteo con sales de butirato de sodio a una dosis de 10 g mejoró significativamente el comportamiento productivo al mejorarse la CA en un 23.5% y a una mayor GDP, también se mejoró el metabolismo energético, el cual se refleja en una mayor concentración de glucosa y AGV, los cuales son principales sustratos energéticos para los terneros, se mejoró el metabolismo proteico, el cual se comprueba a partir de una mayor concentración de proteínas totales. El uso del butirato de sodio parece estimular indirectamente la maduración del rumen, debido a que se encontró que los animales complementados con butirato de sodio tuvieron una mayor concentración de bacterias, y a la mayor concentración de AGV, en especial de ácido butírico, el cual es la principal fuente energética para las células del epitelio ruminal. Por lo cual la administración de butirato de sodio como aditivo en la crianza de terneros, pudiera ser utilizado como promotor del crecimiento, disminuyendo el tiempo (49 d) en la etapa de lactancia, así como también el manejo y el costo de la alimentación líquida.

13. Bibliografía

- Alais C. (1984) Science du lait. Principes des Techniques Laitie`res. Socie´te´ d'Editon et de Promotion Agro-alimentaire, Industrielles et Commerciales: Paris, France.
- Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., & Boyer, J. E. (1987). Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*, 64(4), 1215-1226.
- Annison, E. F., Leng, R. A., Lindsay, D. B., & White, R. R. (1963). The metabolism of acetic acid, propionic acid and butyric acid in sheep. *Biochemical Journal*, 88(2), 248.
- Baldwin, R. L., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of dairy science*, 87, E55-E65.
- Bavera, G. (2008). Destete hiperprecoz. Curso de producción bovina de carne. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Beharka, A. A., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Kennedy, G. A., & Klemm, R. D. (1998). Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves¹. *Journal of Dairy Science*, 81(7), 1946-1955.
- 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(1), 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. *Journal of dairy science*, 96(8), 5226-5236.
- Castro-Flores, P., & Elizondo-Salazar, J. A. (2012). Crecimiento y desarrollo ruminal en terneros ali-mentados con iniciador sometido a diferentes procesos¹. *Agronomía Mesoamericana*, 23(2), 343-352.
- Čepeljnik, T., Zorec, M., Kostanjšek, R., Nekrep, F. V., & Marinšek-Logar, R. (2003). Is *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* strain Mz5T suitable as a probiotic? An *in vitro* study. *Folia microbiologica*, 48(3), 339-345.
- Connor, E. E., Baldwin, R. L., Li, C. J., Li, R. W., & Chung, H. (2013). Gene expression in bovine rumen epithelium during weaning identifies molecular regulators of rumen development and growth. *Functional & integrative genomics*, 13(1), 133-142.
- Correa Alarcón F. (2006). Estudio del desarrollo de los estómagos de los rumiantes. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Granma, Unidad Docente Santiago de Cuba.
- Cummings JH, Rombeau JL & Sakata T (1995). *Physiological and Clinical Aspects of Short Chain Fatty Acid Metabolism*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Cunningham, J. G. (2014). *Fisiología veterinaria*. Quinta edición. Elsevier. Barcelona, España.

- Daniels Kristy M. Yohe Taylor T. (2014). What Do We Know About Rumen Development? Department of Animal Sciences. The Ohio State University. April 14-16, Tri-State Dairy Nutrition Conference.
- Danijela, K. (2015). Endocrine and metabolic adaptations of calves to extra-uterine life. *Acta Veterinaria*, 65(3), 297-318.
- Davis, C. L., Drackley, J. K. C. L., & Drackley, J. K. (2002). Desarrollo, nutrición y manejo del ternero joven (No. Sirsi) i9789505552504).
- Dehority, B. A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), 182-185.
- Díaz, R., Laurencio, M., & Pérez, M. (2008). Factores que influyen en el desarrollo ruminal de terneros de 0 a 6 meses de edad.[Trabajo de investigación]. Cuba: Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Facultad de Agronomía.
- Donkin, S. S. (1999). Role of the endocrine pancreas in animal metabolism, growth and performance. In *Biology of the pancreas in growing animals* (pp. 315-328). Elsevier, Amsterdam, the Netherlands.
- Donkin, S. S., & Armentano, L. E. (1994). Regulation of gluconeogenesis by insulin and glucagon in the neonatal bovine. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 266(4), R1229-R1237.
- Donkin, S. S., & Hammon, H. (2005). Hepatic gluconeogenesis in developing ruminants. *Biology of growing animals*, 3, 375-390.
- Flatt, W. P., Waldo, D. R., Sykes, J. F., & Moore, L. A. (1958, September). A proposed method of indirect calorimetry for energy metabolism studies with large animals under field conditions. In *Proceedings of the 1st Symposium Energy Metabolism of Farm Animals*. European Association for Animal Production. Publ (No. 8, pp. 101-109).
- Fonty, G., Gouet, P., Ratefiarivelo, H., & Jouany, J. P. (1988). Establishment of *Bacteroides succinogenes* and measurement of the main digestive parameters in the rumen of gnotoxenic lambs. *Canadian journal of microbiology*, 34(8), 938-946.
- Franzolin, R., & Dehority, B. A. (1996). Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. *Journal of Animal Science*, 74(11), 2803-2809.
- Gasque Gómez, R. (2008). Enciclopedia bovina. México DF: Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Ciudad Universitaria México.
- Gestin, M., Le Huërou-Luron, I., Peiniau, J., Le Dréan, G., Romé, V., Aumaitre, A., & Guilloteau, P. (1997). Diet modifies elastase I and II activities and mRNA levels during postnatal development and weaning in piglets. *The Journal of nutrition*, 127(11), 2205-2211.
- Giesecke, D., Beck, U., & Emmanuel, B. (1985). Ketogenic regulation by certain metabolites in rumen epithelium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 81(4), 863-867.

- Górka, P., Kowalski, Z. M., Pietrzak, P., Kotunia, A., Jagusiak, W., Holst, J. J., ... & Zabielski, R. (2011). Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. *Journal of dairy science*, 94(11), 5578-5588.
- Górka, P., Kowalski, Z. M., Pietrzak, P., Kotunia, A., Kiljanczyk, R., Flaga, J., ... & Zabielski, R. (2009). Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves. *development*, 4(5), 10-11.
- Guilloteau, P., Le Huërou-Luron, I., Chayvialle, J. A., Mouats, A., Bernard, C., Cuber, J. C., ... & Toullec, R. (1992). Plasma and tissue levels of digestive regulatory peptides during postnatal development and weaning in the calf. *Reproduction Nutrition Development*, 32(3), 285-296.
- Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R., & Van Immerseel, F. (2010). From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutrition research reviews*, 23(2), 366-384.
- Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R., & Van Immerseel, F. (2010b). From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutrition research reviews*, 23(2), 366-384.
- Guilloteau, P., Rome, V., Le Normand, L., Savary, G., & Zabielski, R. (2004). Is Na-butyrate a growth factor in preruminant calf? Preliminary results. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13, 393-396.
- Guilloteau, P., Savary, G., Jaguelin-Peyrault, Y., Romé, V., Le Normand, L., & Zabielski, R. (2010a). Dietary sodium butyrate supplementation increases digestibility and pancreatic secretion in young milk-fed calves. *Journal of dairy science*, 93(12), 5842-5850.
- Guilloteau, P., Zabielski, R., & Blum, J. W. (2009). Gastrointestinal tract and digestion in the young ruminant: ontogenesis, adaptations, consequences and manipulations. *J Physiol Pharmacol*, 60(Suppl 1), 37-46.
- Guilloteau, P., Zabielski, R., David, J. C., Blum, J. W., Morisset, J. A., Biernat, M., ... & Hamon, Y. (2009). Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. *Journal of dairy science*, 92(3), 1038-1049.
- Hammon, H. M., Steinhoff-Wagner, J., Flor, J., Schönhusen, U., & Metges, C. C. (2014). Lactation Biology Symposium: role of colostrum and colostrum components on glucose metabolism in neonatal calves. *Journal of animal science*, 91(2), 685-695.
- Heinrichs, A. J., Jones, C. M., Gray, S. M., Heinrichs, P. A., Cornelisse, S. A., & Goodling, R. C. (2013). Identifying efficient dairy heifer producers using production costs and data envelopment analysis. *Journal of dairy science*, 96(11), 7355-7362.
- Heinrichs, A.J. & Lesmeister, K.E., (2005). Rumen development in the dairy calf. In: *Calf and Heifer Rearing*. Ed. Garnworthy, P.C., Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp. 53-66.
- Hepola, H. P., Hänninen, L. T., Raussi, S. M., Pursiainen, P. A., Aarnikoivu, A. M., & Saloniemi, H. S. (2008). Effects of providing water from a bucket or a nipple on the

- performance and behavior of calves fed ad libitum volumes of acidified milk replacer. *Journal of dairy science*, 91(4), 1486-1496.
- Hill, T. M., Aldrich, J. M., Schlotterbeck, R. L., & Bateman, H. G. (2007). Effects of changing the fatty acid composition of calf starters. *The Professional Animal Scientist*, 23(6), 665-671.
- Hill, T. M., Bateman, H. G., Aldrich, J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2009). Roughage for diets fed to weaned dairy calves. *The Professional Animal Scientist*, 25(3), 283-288.
- Jami, E., & Mizrahi, I. (2012). Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals. *PloS one*, 7(3), e33306.
- Jami, E., Israel, A., Kotser, A., & Mizrahi, I. (2013). Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *The ISME journal*, 7(6), 1069-1079.
- Kato, S. I., Sato, K., Chida, H., Roh, S. G., Ohwada, S., Sato, S., ... & Katoh, K. (2011). Effects of Na-butyrate supplementation in milk formula on plasma concentrations of GH and insulin, and on rumen papilla development in calves. *Journal of Endocrinology*, 211(3), 241-248.
- Kay, R. N. (1960). The rate of flow and composition of various salivary secretions in sheep and calves. *The Journal of physiology*, 150(3), 515-537.
- Khan, M. A., Bach, A., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2016). Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of dairy science*, 99(2), 885-902.
- Khan, M. A., Lee, H. J., Lee, W. S., Kim, H. S., Kim, S. B., Ki, K. S., ... & Choi, Y. J. (2007). Starch source evaluation in calf starter: I. Feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5259-5268.
- Khan, M. A., Lee, H. J., Lee, W. S., Kim, H. S., Kim, S. B., Park, S. B., ... & Choi, Y. J. (2008). Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. *Journal of dairy science*, 91(3), 1140-1149.
- Khan, M. A., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2011). Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *Journal of dairy science*, 94(7), 3547-3553.
- Krause, K. M., & Oetzel, G. R. (2005). Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 88(10), 3633-3639.
- Lane, M. A., & Jesse, B. W. (1997). Effect of Volatile Fatty Acid Infusion on Development of the Rumen Epithelium in Neonatal Sheep1. *Journal of dairy science*, 80(4), 740-746.
- Le Huerou-luron, I., Guilloteau, P., Wicker-Planquart, C., Chayvialle, J. A., Burton, J., Mouats, A., ... & Puigserver, A. (1992). Gastric and pancreatic enzyme activities and their relationship with some gut regulatory peptides during postnatal development and weaning in calves. *The Journal of nutrition*, 122(7), 1434-1445.

- Lesmeister, K. E., & Heinrichs, A. J. (2004). Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3439-3450.
- Li, R. W., Wu, S., Vi, R. L. B., Li, W., & Li, C. (2012). Perturbation dynamics of the rumen microbiota in response to exogenous butyrate. *PloS one*, 7(1), e29392.
- Liu, Q., Wang, C., Zhang, Y. L., Pei, C. X., Zhang, S. L., Li, H. Q., ... & Wang, H. (2016). Effects of 2-methylbutyrate supplementation on growth performance and ruminal development in pre-and post-weaned dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, 216, 129-137. ISO 690
- Makar, H. P. S. (2004). Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. *FAO Animal Production and Health Paper*, 55-88.
- Malmuthuge, N., Griebel, P. J., & Guan, L. L. (2015). The gut microbiome and its potential role in the development and function of newborn calf gastrointestinal tract. *Frontiers in veterinary science*, 2, 36.
- Meale, S. J., Li, S. C., Azevedo, P., Derakhshani, H., DeVries, T. J., Plaizier, J. C., ... & Khafipour, E. (2017). Weaning age influences the severity of gastrointestinal microbiome shifts in dairy calves. *Scientific reports*, 7(1), 198. ISO 690
- Menke, K. H & Steingass H., (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*, 28, 7-55.
- Minato, H., Otsuka, M., Shirasaka, S., Itabashi, H., & Mitsumori, M. (1992). Colonization of microorganisms in the rumen of young calves. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 38(5), 447-456.
- Morisse, J. P., Huonnic, D., Cotte, J. P., & Martrenchar, A. (2000). The effect of four fibrous feed supplementations on different welfare traits in veal calves. *Animal feed science and technology*, 84(1), 129-136.
- Mrazek, J., Tepšič, K., Avguštin, G., & Kopečný, J. (2006). Diet-dependent shifts in ruminal butyrate-producing bacteria. *Folia microbiologica*, 51(4), 294-298.
- Nazari, M., Karkoodi, K., & Alizadeh, A. (2012). Performance and physiological responses of milk-fed calves to coated calcium butyrate supplementation. *South African Journal of Animal Science*, 42(3), 296-303.
- Niwińska, B., & Strzetelski, J. (2005). Effects of type of liquid feed and feeding frequency on rumen development and rearing performance of calves. *Annals of Animal Science*, 5, 125-134.
- Opatpatanakit, Y., Kellaway, R. C., Lean, I. J., Annison, G., & Kirby, A. (1994). Microbial fermentation of cereal grains in vitro. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45(6), 1247-1263. ISO 690
- Penner, G. B., & Oba, M. (2009). Increasing dietary sugar concentration may improve dry matter intake, ruminal fermentation, and productivity of dairy cows in the postpartum phase of the transition period. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3341-3353.

- Pérez, S. M. (2006). Comportamiento productivo y microbiológico de borregos alimentado con polietilentereftarato como fuente de fibra. Tesis doctoral. Especialidad de ganadería. Colegio de Postgraduados México. 82 p.
- Petri, R. M., Schwaiger, T., Penner, G. B., Beauchemin, K. A., Forster, R. J., McKinnon, J. J., & McAllister, T. A. (2013). Characterization of the core rumen microbiome in cattle during transition from forage to concentrate as well as during and after an acidotic challenge. *PLoS one*, 8(12), e83424.
- Phillips, C. J. C. (2004). The effects of forage provision and group size on the behavior of calves. *Journal of Dairy Science*, 87(5), 1380-1388.
- Relling, A. E., & Mattioli, G. A. (2007). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Cátedra de Fisiología Facultad de Ciencias Veterinarias U.N.L.P.
- Sander, E. G., Warner, R. G., Harrison, H. N., & Loosli, J. K. (1959). The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *Journal of dairy science*, 42(9), 1600-1605.
- SAS, (2003). *Statistical Analysis Systems user's guide*. (9.0) SAS Institute Inc., Raleigh, North Carolina, USA.
- Schofield, P., Pitt, R. E., & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of animal science*, 72(11), 2980-2991.
- Serbester, U., Çakmakçı, C., Göncü, S., & Görgülü, M. (2014). Effect of feeding starter containing butyrate salt on pre-and post-weaning performance of early or normally weaned calves. *Revue Méd. Vét*, 165, 1-2.
- Shimada M. A. (2009). *Nutrición animal 2a edición*. Editorial Trillas México, DF.
- Suárez, B. J., Van Reenen, C. G., Beldman, G., Van Delen, J., Dijkstra, J., & Gerrits, W. J. J. (2006a). Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. Animal performance and rumen fermentation characteristics. *Journal of dairy science*, 89(11), 4365-4375. ISO 690
- Suárez, B. J., Van Reenen, C. G., Gerrits, W. J. J., Stockhofe, N., Van Vuuren, A. M., & Dijkstra, J. (2006b). Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. *Journal of dairy science*, 89(11), 4376-4386.
- Theodorou, M., K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Feed Science and Technology* 48: 185-197.
- Toofanian, F. (1976). Histological observations on the developing intestine of the bovine fetus. *Research in veterinary science*, 21(1), 36-40.
- VI, R. B., & Jesse, B. W. (1992). Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep ruminal cells. *The Journal of nutrition*, 122(5), 1149.
- Vieira, A. D. P., Von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2010). Effects of pair versus single housing on performance and behavior of dairy calves before and after weaning from milk. *Journal of dairy science*, 93(7), 3079-3085.

- Weimer, P. J., Stevenson, D. M., Mantovani, H. C., & Man, S. L. C. (2010). Host specificity of the ruminal bacterial community in the dairy cow following near-total exchange of ruminal contents. *Journal of dairy science*, 93(12), 5902-5912.
- White, R. G., & Leng, R. A. (1980). Glucose metabolism in feeding and postabsorptive lambs and mature sheep. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 67(2), 223-229.
- Williams, P. E. V., Fallon, R. J., Innes, G. M., & Garthwaite, P. (1987). Effects on food intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar beet-citrus pulp in a starter diet. *Animal Science*, 44(1), 65-73.
- Yang, W. Z., & Beauchemin, K. A. (2006). Effects of physically effective fiber on chewing activity and ruminal pH of dairy cows fed diets based on barley silage. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 217-228.
- Zabielski, R., & Pierzynowski, S. G. (2001). Development and regulation of pancreatic juice secretion in cattle. State-of-the-art. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 10(1), 25-46.