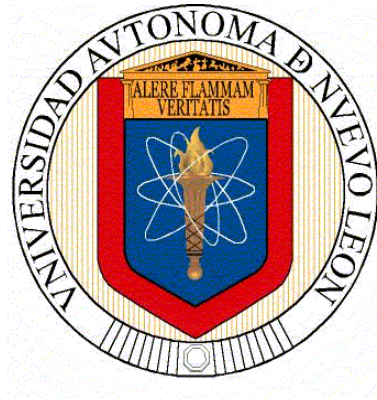


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



TESIS

**EFFECTO DE UN INICIADOR EXTRUIDO CON Y SIN
ACEITE DE ORÉGANO EN EL DESARROLLO RUMINAL
DE BECERRAS HOLSTEIN EN ETAPAS PRE Y POST-DESTETE**

PRESENTA

PERLA HAIDEE RESENDEZ VALTIERRA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

JULIO 2023

**“EFECTO DE UN INICIADOR EXTRUIDO CON Y SIN ACEITE DE ORÉGANO EN EL
DESARROLLO RUMINAL DE BECERRAS HOLSTEIN EN ETAPAS PRE Y POST-DESTETE”**

INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO:

Dr. Jorge R. Kawas Garza

LGAC: Nutrición animal aplicada en rumiantes

LUGAR DE TRABAJO DEL PROYECTO: Establo lechero “Dulce María” y Laboratorio de
Histología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL.

FECHA DE INICIO: 15/08/2021

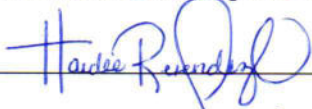
FECHA DE TÉRMINO: 01/08/23

DURACIÓN: 24 meses

FECHA PROBABLE DE TITULACIÓN: 15/08/23

**“EFECTO DE UN INICIADOR EXTRUIDO CON Y SIN ACEITE DE ORÉGANO EN EL
DESARROLLO RUMINAL DE BECERRAS HOLSTEIN EN ETAPAS PRE Y POST-DESTETE”**

Aprobación de tesis por el comité particular de



MVZ. Perla Haidee Resendez Valtierra

COMITÉ DE TESIS



Dr. Jorge R. Kawas Garza
Director



Dra. Yarellys Ramos Zayas
Codirector



Dra. Sara Paola Hernández Martínez
Codirector



Dra. Daniela Sarai Rico Costilla
Codirector



Dr. Gerardo Méndez Zamora
Codirector

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a Dios que me brindó salud para realizar todas las actividades de mi investigación y me brindó seguridad al permitirme llegar con bien durante mis traslados y mi estancia en Torreón.

Agradezco a mi asesor principal, el Dr. Jorge Kawas, sin él no hubiera sido posible esta tesis. Gracias Dr. por darme la oportunidad de ser su tesista, brindarme su valioso tiempo al compartirme sus conocimientos y experiencia, dentro y fuera de las clases, así como responder mis dudas con paciencia. También por patrocinar el equipo necesario para mi experimento, y conseguir el establo lechero donde pude realizar mi investigación.

Al equipo de investigación y ventas de MNA de México por apoyarme en la recolección de muestras en Torreón, principalmente a la Dra. Yareellys Ramos, quien estuvo presente en todo momento de manera profesional, así como personal, durante mi posgrado.

Al MVZ. Gualberto Casas por permitirme trabajar con sus animales y recibirme durante 5 meses en el establo Dulce María. Al personal del establo que siempre fueron muy amables conmigo y me impartieron sus conocimientos de cualquier área del establo.

Gracias a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, principalmente a la Dra. Iris I. Tristán y la Dra. Brenda García del Hospital de Pequeñas Especies, y a la Dra. Cecy Ramírez y la Bióloga Cecy Otila del departamento de Histología, que fueron parte esencial para poder analizar los resultados de este estudio.

Agradezco a mi madre Hortensia Valtierra que me visitaba en Torreón y me ayudaba con la limpieza y a hacer mi lonche. A mi padre Filogonio Resendez, por recibirme siempre al regresar a casa con carne asada.

Y por último y no menos importante a mi roomie, Diana Basurto. Gracias amiga por recibirme en tu casa, acompañarme todas las noches a cenar y llevarme a conocer Torreón los fines de semana. Sin ti, mi estancia en Torreón no hubiera sido igual de divertida.

DEDICATORIA

Dedicado a todos mis seres queridos y profesionales que hicieron posible este trabajo.

NOMENCLATURAS

AGV	Ácidos grasos volátiles
AE	Aceites esenciales
ADG	Average daily gain
AO	Aceite de orégano
°C	Grados centígrados
CMS	Consumo de materia seca
CNF	Carbohidratos no-fibrosos
CO ₂	Dióxido de carbono
DMI	Dry matter intake
FDN	Fibra detergente neutra
GDP	Ganancia diaria de peso
IE	Iniciador extruido
IEAO	Iniciador extruido con aceite de orégano
IT	Iniciador texturizado
g	Gramos
kg	Kilogramos
cm	Centímetros
cm ²	Centímetros cuadrados
dl	Decilitros
m	Metros
mEq	Miliequivalentes
ml	Milímetros
µm	Micrómetros
µm ²	Micrómetros al cuadrado

INDICÉ DE CONTENIDO

	PÁGINA
Resumen.....	10
Summary	11
1. Introducción.....	12
2. Antecedentes.....	14
2.1 Calostro	14
2.2 Anatomía y fisiología gastrointestinal del becerro.....	15
2.3 Digestión de nutrientes.....	16
2.3.1 Carbohidratos	16
2.3.2 Proteínas	17
2.3.3 Lípidos.....	18
2.4 Proceso de extrusión.....	18
2.5 Aceites esenciales	21
2.6 Técnicas para la obtención de tejido ruminal	21
3. Justificación.....	23
4. Hipótesis.....	24
5. Objetivos	25
5.1 Objetivo general	25
5.2 Objetivos específicos.....	25
6. Materiales y métodos	26
6.1 Área de estudio	26
6.2 Fase 1 (pre-destete).....	26
6.2.1 Animales y tratamientos	26
6.2.2 Descripción de los iniciadores.....	28
6.2.3 Descripción del aceite de orégano.....	28
6.2.4 Pesaje y mediciones corporales.....	29
6.2.5 Puntuación fecal	30
6.2.6 Muestreo y análisis de sangre.....	30
6.2.7 Obtención de biopsias de tejido ruminal	30

6.2.8 Análisis del tejido ruminal por histopatología.....	31
6.3 Fase 2 (post-destete).....	32
6.4 Análisis estadístico	33
7. Resultados	34
7.1 Fase 1 (pre-destete).....	34
7.1.1 Desempeño productivo y medidas corporales.....	34
7.1.2 Variables de desarrollo ruminal	34
7.1.3 Variables de la biometría hemática.....	34
7.1.4 Clasificación de la consistencia de las heces fecales	34
7.2 Fase 2 (post-destete).....	35
7.2.1 Desempeño productivo y medidas corporales.....	35
7.2.2 Variables de desarrollo ruminal	35
8. Discusión.....	39
8.1 Desempeño productivo y medidas corporales.....	39
8.2 Desarrollo ruminal.....	40
8.3 Incidencias de diarreas y biometría hemática.....	40
9. Conclusiones	42
10. Bibliografía	43

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Composición química de los iniciadores.....	27
Tabla 2. Composición química del aceite de orégano.....	29
Tabla 3. Composición química de la ración post-destete.....	33
Tabla 4. Desempeño productivo de las becerras.....	35
Tabla 5. Medidas corporales de las becerras al nacimiento, destete y final del estudio .	36
Tabla 6. Variables de desarrollo ruminal de las becerras.....	36
Tabla 7. Variables de biometría hemática (fase pre-destete).....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Localización del área de estudio	26
Figura 2. Animales utilizados durante el estudio	27
Figura 3. Medición de la temperatura de la leche (izquierda) y becerras consumiendo la leche entera (derecha).....	28
Figura 4. Pesaje corporal individual en báscula con monitor TruTest®	29
Figura 5. Obtención de medidas corporales: (a) longitud corporal; (b) altura a la cruz; (c) circunferencia torácica	29
Figura 6. Clasificación de la consistencia de las heces	30
Figura 7. Obtención de biopsias de tejido ruminal al finalizar la etapa pre-destete	31
Figura 8. Obtención de biopsias de tejido ruminal al finalizar la etapa post-destete	31
Figura 9. Muestras de papilas ruminales observadas en 10X	32
Figura 10. Instalaciones de las becerras durante la etapa post-destete.....	33
Figura 11. Puntuación fecal de las becerras de los tres tratamientos en fase pre-destete .	38

RESUMEN

El propósito de ofrecer un alimento iniciador a becerras de reemplazo es para iniciar una transición gradual del consumo de leche al consumo de alimento seco, preparando a los animales para el destete. Con este proceso, se busca desarrollar el rumen y reducir el estrés que ocurre durante el destete temprano en becerras de razas lecheras. En este estudio se determinaron los efectos de un iniciador extruido y la adición de aceite de orégano en el desarrollo de las papilas del rumen pre- y post-destete de becerras de reemplazo Holstein. Cuarenta y seis becerras fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos: (1) iniciador texturizado (pellet y maíz roado) (IT); (2) iniciador extruido (IE); e (3) iniciador extruido con 100 mg/kg de aceite de orégano (IEAO). Las becerras se pesaron y se midieron las variables de tamaño corporal (altura de la cruz, longitud corporal y circunferencia torácica) al nacimiento, y al final de las etapas pre- y post-destete. Las ganancias de peso se calcularon y los consumos de leche y alimento iniciador fueron registrados diariamente para determinar el consumo de MS para ambas etapas. La eficiencia alimenticia se calculó como ganancia diaria de peso (GDP) entre el consumo de materia seca (CMS). Al final de las etapas pre- y post-destete, se obtuvieron biopsias de tejido de la sección caudo-dorsal del rumen mediante una técnica de endoscopia oral. Durante las dos etapas, cortes histológicos de las muestras de tejido ruminal se obtuvieron para medir la anchura y altura de las papilas y calcular el área de superficie papilar. Durante la etapa pre-destete, diariamente se evaluó la consistencia de las heces de acuerdo con la siguiente clasificación: C1, firmes; C2, pastosas; C3, sueltas; y C4, acuosas. Al final de esta etapa, muestras de sangre se obtuvieron para el análisis de la biometría hemática. Aunque no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en la ganancia diaria de peso y las medidas corporales en la fase pre-destete, hubo una tendencia ($p = 0.097$) para que el consumo de MS de iniciador y alimento total ($p=0.087$) fueran menores en becerras que consumieron los alimentos extruidos. En esta primera fase se observó una reducción significativa ($p = 0.045$) en la puntuación fecal en becerras que consumieron el alimento extruido con aceite de orégano, sugiriendo una menor incidencia de diarreas. En la fase post-destete, la GDP tendió ($p = 0.075$) a ser mayor con el alimento extruido que contenía aceite de orégano. Estos resultados sugieren un efecto positivo del aceite de orégano en la salud gastrointestinal de las becerras pre-destete.

SUMMARY

The purpose of offering a starter feed to replacement calves is to initiate a gradual transition from milk intake to dry feed intake, preparing the animals for weaning. With this process, the aim is to develop the rumen and reduce the stress that occurs during early weaning in calves of dairy breeds. In this study, the effects of an extruded starter and the addition of oregano oil on the development of pre- and post-weaning rumen papillae in Holstein replacement calves were determined. Forty-six calves were randomly assigned to one of three treatments: (1) textured starter (pellet and rolled corn) (IT); (2) extruded starter (IE); and (3) extruded starter with 100 mg/kg oil of oregano (IEAO). The calves were weighed, and the body size variables (height of the withers, body length and thoracic circumference) were measured at birth, and at the end of the pre- and post-weaning stages. Weight gains were calculated, and milk and starter feed intakes were recorded daily to determine DM intake for both stages. Feed efficiency was calculated as average daily gain (ADG) divided by dry matter intake (DMI). At the end of the pre- and post-weaning stages, tissue biopsies were obtained from the caudal-dorsal section of the rumen using an oral endoscopic technique. During the two stages, histological sections of rumen tissue samples were obtained to measure the width and height of the papillae and calculate the papillary surface area. During the pre-weaning stage, the consistency of the feces was evaluated daily according to the following classification: C1, firm; C2, pasty; C3, loose; and C4, aqueous. At the end of this stage, blood samples were obtained for analysis of complete blood count. Although no significant differences were observed between treatments in daily weight gain and body measurements in the pre-weaning phase, there was a trend ($p = 0.097$) for DM intake of starter and total feed ($p = 0.087$) to be lower in calves that consumed the extruded feed. In this first phase, a significant reduction ($p = 0.045$) was observed in the fecal score in calves that consumed the extruded feed with oregano oil, suggesting a lower incidence of diarrhea. In the post-weaning phase, ADG tended ($p = 0.075$) to be higher with the extruded feed containing oregano oil. These results suggest a positive effect of oregano oil on the gastrointestinal health of pre-weaning calves.

1. INTRODUCCIÓN

En sistemas intensivos de producción lechera, a la semana de haber nacido las becerras de reemplazo, además de una dieta líquida (calostro, leche o sustituto de leche), se ofrece un alimento iniciador. Este alimento preparado debe ser de alta calidad nutricional y se ofrece con la finalidad de preparar al becerro para su etapa post-destete, facilitando una transición menos estresante del consumo de leche a una dieta completamente sólida. Un manejo adecuado de la alimentación durante la etapa de lactancia y hasta el destete, tendrá un impacto positivo en la crianza de las becerras y además, beneficios en la salud y en el rendimiento productivo en su etapa adulta (Hammon, 2020).

Diversas investigaciones con becerras de reemplazo se han llevado a cabo con la finalidad de acelerar el desarrollo ruminal mediante el uso de procesos mecánicos y químicos para aprovechar al máximo los nutrientes del alimento, sin afectar la fermentación ruminal, el consumo del alimento y el desempeño productivo (ZeidAli-Nejad, et al., 2018). La extrusión es una de las técnicas más habituales en la industria alimenticia animal, principalmente en la acuicultura y de mascotas. Este proceso modifica el alimento sometido a altas temperaturas para obtener distintas formas, texturas o tamaños (Safaei y Yang, 2017). El procesamiento térmico destruye micotoxinas y aumenta la disponibilidad del almidón al gelatinizarlo, un proceso donde las cadenas de amilosa y amilopectina están separadas y se unen para formar de manera ordenada sus estructuras. La gelatinización del almidón es el proceso en el que las cadenas de amilosa y amilopectina desagregadas en una pasta de almidón gelatinizado se agrupan para formar estructuras más organizadas. La dextrinación es la formación de dextrinas (fragmentos de moléculas de amilosa y amilopectina formadas al calentar almidón seco en presencia de algo de humedad, ácidos, o sales) durante el procesamiento térmico de los granos, mejorando la accesibilidad de las enzimas a los gránulos de almidón. A su vez, puede cambiar el sitio de digestión de proteínas y almidón del rumen al intestino (Safaei y Yang, 2017).

Los aceites esenciales (AE) son metabolitos secundarios que se obtienen de la fracción volátil de la planta, flores, árboles, raíces por destilación al vapor. La inclusión de AE en la dieta tiene resultados positivos en la ganancia diaria de peso de cerdos y aves de corral (Piva et al., 1999). En bovinos, la suplementación con aceites esenciales o sus compuestos puede aumentar o disminuir las

concentraciones de los ácidos grasos volátiles (AGV); todo dependerá de la dosis utilizada. Los AE tienen efecto similar a la monensina sódica ya que disminuye el acetato y aumenta el propionato, considerándose un resultado favorable en la suplementación en bovinos (Benchaar, 2008). Además, el aceite de orégano (*Origanum vulgare*) disminuye significativamente el índice de diarreas en los terneros en condiciones extensivas, siendo unas de las causas principales de mortandad en los becerros recién nacidos (Panagiotis, 2017).

En este estudio se realizó una comparación de tres alimentos iniciadores, el primer tratamiento en forma texturizada (pellet y maíz rolado) y dos tratamientos extruidos, uno con y otro sin aceite de orégano, para evaluar su efecto en el desarrollo epitelial del rumen, el desempeño productivo y las incidencias de diarreas en becerras Holstein de reemplazo, durante las etapas pre- y post-destete.

2. ANTECEDENTES

2.1 Calostro

Ofrecer calostro es primordial para la salud y supervivencia del ternero. Los beneficios que se obtienen a largo plazo si se da un calostro de buena calidad incluyen, reducir el riesgo de morbilidad y mortalidad antes del destete, una mayor ganancia de peso y una mejor eficiencia alimentaria (Godden, 2008).

El calostro está compuesto por inmunoglobulinas que se clasifican en: IgG, que componen hasta el 90% en el calostro; IgA, representando el 5 al 7%; e IgM, con el 5%. Las inmunoglobulinas son importantes para la salud de los terneros, ya que brindan una defensa contra diversos patógenos y virus. El calostro debe ser recolectado lo más pronto posible después del parto debido a que la calidad del calostro disminuye con el tiempo a medida que la glándula mamaria cambia de la producción de calostro (calostrogénesis) a la síntesis de leche (lactogénesis). A medida que aumenta el tiempo después del parto, aumenta el volumen de calostro, disminuye la concentración de IgG, y se reduce la absorción total de inmunoglobulinas de los terneros (Erickson y Kalscheur, 2020).

Además de inmunoglobulinas, el calostro está compuesto por leucocitos maternos que se dividen en macrófagos, linfocitos T y B, y neutrófilos. Estos son absorbidos por la barrera intestinal del ternero. Otros de los compuestos son las hormonas (insulina y la hormona del crecimiento), factores de crecimiento (TGF-B2 y IGF-1) y citocinas; todos estos componentes son clave para el desarrollo del tracto gastrointestinal del recién nacido ya que estimulan el crecimiento de la mucosa intestinal, la producción de enzimas, la síntesis del ADN intestinal, el aumento del tamaño de las vellosidades, y la absorción de glucosa. El inhibidor de la tripsina, otro componente del calostro evita la degradación proteolítica de todas estas moléculas en el intestino del recién nacido. Por último, también proveen nutrientes que aportan la energía necesaria para la regulación de la temperatura corporal y actividades del ternero, así como vitaminas (A, E, ácido fólico) y minerales (Ca, Fe, Zn, Se). Todos estos compuestos se encuentran en mayor concentración en el calostro después del parto y disminuyen conforme pasan las horas (Godden, 2008).

Por lo tanto, un buen desarrollo intestinal del ternero mejorado por el consumo de calostro da como resultado una mayor absorción de nutrientes, importante para la maduración del sistema inmunológico intestinal, logrando una mayor protección contra patógenos (Hammon, 2020).

2.2 Anatomía y fisiología gastrointestinal del ternero

El estómago del bovino tiene un estómago que está compuesto en 4 compartimientos: retículo, rumen, omaso y abomaso. El retículo es un saco pequeño, el cual se conoce como el panal de abeja debido a que la superficie interior tiene una textura de panal. El retículo, es el primer compartimiento que transporta el alimento digerido de mayor tamaño hacia el rumen o directamente al omaso si el tamaño de las partículas del alimento es adecuado. El rumen es el siguiente compartimiento más importante y grande, con una capacidad de 40 a 50 galones en una vaca adulta promedio y contiene una gran cantidad de microorganismos, los cuales fermentan el alimento digerido (Holstein Foundation, s.f.). Los movimientos mecánicos que ocurren en el retículo-rumen permite mezclar el alimento con el líquido ruminal, y además promueve el eructo. La superficie interior del rumen está cubierta con papilas, unas proyecciones en forma de pequeños dedos que ayudan a la absorción de nutrientes al aumentar la superficie de área del rumen. El rumen y el retículo están poco desarrollados en los terneros recién nacidos, de tal manera que el abomaso sustituye la función del resto de los compartimientos (Rey et al., 2012). El ternero adquiere un rumen maduro capaz de absorber y metabolizar sus nutrientes hasta la octava semana de edad (Meale, 2007). La función principal del omaso es absorber agua. Este compartimiento tiene muchas capas similares a las páginas de un libro; estas capas de tejido aumentan la superficie de área y la absorción de hasta el 70% del agua consumida. Por último, el abomaso es conocido como el estómago verdadero debido a su similitud con el estómago humano. En los pre-rumiantes, el abomaso es el primer compartimiento funcional del sistema digestivo, donde se inicia la digestión de la proteína láctea de la leche. El rumen y el retículo no están bien desarrollados en un ternero recién nacido, por lo que el surco esofágico desvía la leche del esófago directamente al abomaso. El surco esofágico es un tejido muscular que se cierra para formar un tubo cuando una ternera comienza a mamar. El consumo de alimento sólido tiende a aumentar con la edad del ternero, reduciéndose gradualmente el consumo de leche hasta lograr el destete (Rey et al., 2012).

Otro órgano anexo al tracto digestivo es el páncreas, una glándula pequeña que secreta compuestos amortiguadores de la acidez que ayudan a neutralizar el ácido del estómago que ingresa al intestino delgado. Además de amortiguadores de la acidez, secreta enzimas y hormonas (insulina y el glucagón). Las enzimas ayudan a romper las proteínas en aminoácidos, así como el almidón en azúcares simples para que puedan ser absorbidos en el intestino.

El hígado secreta bilis hacia el intestino delgado. La bilis se almacena en la vesícula biliar, ayuda a neutralizar el pH de la digesta al ingresar al intestino delgado; además es importante para digerir las grasas (Holstein Foundation, s.f.).

El intestino delgado es el principal sitio de absorción de nutrientes en todos los animales. Está compuesto por tres secciones: duodeno, yeyuno e íleon. En el duodeno se reciben las secreciones que provienen del hígado y del páncreas para digerir el alimento. La superficie interior del intestino está cubierta por vellosidades, unas pequeñas proyecciones que ayudan a la absorción y aumentan el área de superficie de la pared intestinal. Después de la digestión en el intestino delgado, la digesta pasa al intestino grueso. El intestino grueso está compuesto por ciego y colon, donde se lleva a cabo la absorción de agua y el almacenamiento de desechos para posteriormente ser excretados. El intestino grueso contiene microorganismos que fermentan los nutrientes restantes de la digestión en el intestino delgado (Holstein Foundation, s.f.).

2.3 Digestión de los nutrientes

2.3.1 Carbohidratos

Los componentes principales de los carbohidratos son carbono, hidrógeno y oxígeno. Son el componente de mayor importancia en la dieta del ganado lechero. Los carbohidratos más comunes utilizados en la alimentación del ganado lechero son la celulosa, unidades de glucosa con enlace β 1,4; mientras que el almidón está compuesto por unidades de glucosa 1,4 (amilosa) y 1,4 y 1,6 (amilopectina). El forraje (heno, henolaje o rastrojo), granos de cereal y azúcares son las principales fuentes de carbohidratos. El forraje es digerido principalmente por bacterias celulolíticas dando como resultado principalmente la producción de ácido acético y butírico (Erickson y Kalscheur, 2020). Los carbohidratos se dividen en dos fracciones: carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) y no estructurales (almidones y azúcares). Analíticamente, una entidad química llamada fibra detergente neutro (FDN), que representa a los carbohidratos estructurales, se obtiene después de procesar una muestra seca y molida en una solución detergente neutra, calentada a reflujo durante una hora. La fibra de fuentes de forraje con un mayor tamaño de partícula mantiene al rumen distendido, estimulan el reflujo salival, la motilidad y la rumia. Gracias a estas actividades, se crean un ambiente favorable en el rumen al estimular la producción endógena de amortiguadores salivales, manteniendo el pH ruminal en un rango deseable y el flujo de fluidos (líquido ruminal), aumentando la eficiencia de la energía microbiana y la producción de proteína (Van Saun, 2022).

La glucosa es metabolizada a piruvato por medio de la glucólisis, y posteriormente se convierte en ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente acetato, propiónico y butírico. Los rumiantes tienen la capacidad de utilizar los AGV como fuente de energía para realizar procesos vitales. El metabolismo de los AGV es responsable de aproximadamente el 80% de la glucosa disponible a nivel celular. En raciones con alto contenido de forraje, predomina la formación de acetato, y en raciones con alto nivel de grano o concentrado, predomina la producción de propionato (Chesworth, 1998). El almidón que logra escapar de la fermentación ruminal pasa al intestino delgado donde se metaboliza por enzimas pancreáticas e intestinales, y es absorbido en forma de glucosa.

El manejo del procesamiento y el tipo de granos que se utilicen en la alimentación del animal influye en la cantidad que será absorbida en el intestino delgado. El pericarpio de un grano de cereal impide el acceso a las enzimas microbianas para degradar el almidón a glucosa, por lo tanto, puede pasar intacto del rumen al intestino delgado, excretándose en las heces, generando una pérdida nutricional para el animal y la economía del productor. En contraste, cuando un concentrado se muele finamente, este pasa rápidamente a través del rumen, antes que el almidón sea fermentado. Consecuentemente, es importante que los granos sean sometidos a varios procesos físicos o químicos, para fracturar el pericarpio, exponer los gránulos de almidón, pero sin reducir el tamaño de las partículas (Chesworth, 1998).

2.3.2 Proteínas

Al ingresar las proteínas en el rumen, las bacterias se unen a las partículas del alimento, iniciando su degradación por la actividad de proteasas microbianas. Al adherirse los microorganismos a las partículas del alimento, actúan de forma simbiótica al fermentar y degradar las proteínas, dando como resultado péptidos y aminoácidos. Los productos resultantes de la actividad proteolítica del rumen se transportan hacia el interior de las células microbianas o pueden diseminarse como AGV, CO₂ y amoníaco (Bach, 2005). El destino final de estos péptidos y aminoácidos dependerá de la disponibilidad de energía o carbohidratos. Si hay suficiente energía disponible, se utilizará directamente para la síntesis de proteínas microbianas, pero si es limitante la cantidad de energía, los esqueletos de carbono de los aminoácidos se fermentarán a AGV. Cuando hay aminoácidos en exceso en el citoplasma de las bacterias ruminales, el amoníaco se excreta al entorno extracelular (Bach, 2005).

Las bacterias ruminales se clasifican en celulolíticas y amilolíticas, de acuerdo con los requerimientos de energía y proteína que necesiten las subespecies microbianas. Los microbios que degradan carbohidratos estructurales (celulolíticas) crecen lentamente, sus requisitos de mantenimiento son pocos y utilizan el amoníaco como fuente principal de nitrógeno. Los microbios que degradan carbohidratos no estructurales (amilolíticas) crecen rápidamente, tienen mayores requerimientos de mantenimiento y utilizan aminoácidos, péptidos y amoníaco como fuente de nitrógeno. Por lo tanto, el aumento del crecimiento bacteriano en el rumen se debe a la incorporación directa de aminoácidos y en la utilización de los esqueletos de carbonos después de la desanimación de los aminoácidos, para sintetizar nuevos aminoácidos microbianos y producir energía (Bach, 2005).

2.3.3 Lípidos

La dieta de un rumiante contiene aproximadamente del 2 al 5% de lípidos, provenientes de alimentos como semillas oleaginosas y grasas de origen animal o aceites vegetales. Los lípidos de la dieta se hidrolizan en su mayoría en el rumen, formando los ácidos grasos libres, y el glicerol y la galactosa de la leche que se convierten en AGV (principalmente en propiónico y butírico). La enzima lipasa tiende a ser más activa en dietas altas en fibras que en dietas ricas en almidón; la lipólisis dependerá del microbiota ruminal y del pH ruminal que controlan la actividad de las lipasas (Doreau, 1994).

2.4 Proceso de extrusión

La principal fuente de energía proviene del almidón de los granos de cereales, los cuales son ampliamente utilizados en dietas de iniciación en terneros. Se han buscado distintas maneras de procesar el grano para romper el pericarpio y aumentar la digestibilidad de sus nutrientes. La diferencia del tamaño y la forma afectarán la digestibilidad y absorción, ya que al no modificar físicamente el grano de una forma correcta puede pasar intacto por el tracto digestivo y ser excretado (Morteza, 2021).

La maquinaria de extrusión o extrusora es un dispositivo de compresión de tornillo, el cual se calienta y se comprime bajo una elevada temperatura de hasta 150 °C, y el alimento es forzado a pasar a través de un dado. Debido a las altas temperaturas y presión elevada, el producto sufre cambios físicos o estructurales en esta etapa y aumenta el contenido de almidón gelatinizándolo (Morteza, 2021). La gelatinización se define como una destrucción irreversible del orden cristalino

en un gránulo de almidón, de manera que la superficie de cada molécula se vuelve más accesible a reactivos o solventes (Schofield, 2005).

Galen (2010) describe y clasifica el proceso de extrusión en las siguientes etapas:

- **Alimentador:** almacena y dosifica uniformemente las materias primas en el preconditionador y posteriormente en el extrusor. Monitorea continuamente su peso, dosificando volumétricamente los ingredientes en el sistema.
- **Preacondicionador:** entra uniformemente la humedad en forma de agua o vapor para obtener un contenido de hasta el 25% de humedad. En la parte superior del preconditionador se utilizan boquillas rociadoras para atomizar la corriente de agua. Y el vapor se agrega desde la parte inferior, por tuberías diseñadas para evitar su condensación, suministrando el vapor con un flujo continuo. El objetivo de humedecer el alimento es plastificar las partículas de la materia prima antes de la extrusión, reduciendo el desgaste de la extrusora causado por partículas abrasivas de la materia prima. El agua y vapor se equilibran para alcanzar una temperatura de mezcla de 70° a 90° C durante la descarga en el preconditionador. En esta fase se mezclan los ingredientes, aromatizantes, colorantes, entre otros aditivos líquidos. Es importante que las grasas se agreguen cerca de la etapa de descarga del preconditionador, ya que la grasa tiende a cubrir las partículas de los alimentos, impidiendo una adecuada absorción de humedad y la transferencia de energía térmica para lograr una óptima gelatinización. Los primeros 120 segundos de exposición al vapor inyectado en un preconditionador a presión atmosférica, es uno de los puntos más importantes para hacer una contribución significativa a la cocción del producto final.
- **Extrusora:** conforme sale el alimento del preconditionador, entre al barril de la extrusora; en esta etapa se determinará las características que obtendrá el producto final. Al ingresar el alimento al barril, pasa a la zona de procesamiento, donde fluye el material libremente a través de la compresión del tornillo, ayudando a la mezclar el agua o vapor con el alimento seco. La temperatura aumenta rápidamente en la masa húmeda durante los últimos segundos de permanencia dentro del cilindro de la extrusora. La inyección de vapor en la extrusora también es un factor que ayuda en la cocción, incluso permite ingresar formulaciones con altos niveles de grasas. En esta fase, con la adición de humedad y el cilindro de la extrusora correctamente configurado, darán como resultado una presión final del extruido antes de la boquilla de la

extrusora de 34 a 37 atmósferas, una temperatura de 150 °C y un contenido de humedad de hasta el 28%.

- **Diseño de troquel/cuchillo:** una matriz cierra la cámara de extrusión que crea una restricción al flujo del producto, haciendo que la extrusora desarrolle la presión y el cizallamiento que se requieren. La boquilla final también contribuye en dar forma al extruido cuando el producto sale de la extrusora. La fórmula y el área abierta de la matriz se pueden cambiar para ajustar la cantidad de expansión deseada en el producto final. Los alimentos sin expandir para mascotas, especies acuáticas y para ganado, pero completamente cocidos, por tonelada métrica de producción, necesitan entre 550 y 600 mm² de área abierta. La válvula de contrapresión (BPV) controla la restricción de la descarga de la extrusora durante la operación y separa el producto, con el fin de desviar los residuos del dado final, evitando la contaminación del dado. Posteriormente, se utiliza un cortador frontal o cuchillo junto con el troquel, que consiste en que las cuchillas giren en un plano paralelo a la cara del troquel. La velocidad relativa de las cuchillas y la velocidad lineal del extruido dan como resultado la longitud que se desea del producto.
- **Secado y enfriamiento:** en esta fase, el principal objetivo es reducir la humedad del producto después de ser cocido mediante extrusión. La humedad se debe reducir hasta un 10% para evitar el crecimiento de bacterias y hongos. El producto se extiende sobre una cinta que se mueve de manera horizontal por el secador. Posteriormente, aire caliente pasa sobre el lecho de producto a una velocidad entre 40/60 m/s, a una temperatura del aire de 90 a 180 °C. Un secado uniforme dependerá de la velocidad y las veces que pase el producto a través de la cinta. Después del secado se requiere enfriar antes de ser envasado el producto. Cuando se aplica hasta el 8% de grasa como recubrimiento para los alimentos para mascotas, el producto se seca y se recubre antes de enfriarlo.
- **Recubrimiento:** antes de enfriar el producto, las grasas líquidas y/o sabores se aplican para aumentar la palatabilidad, ya que un producto caliente tiende a absorber más la grasa; se agregan de manera uniforme como líquido o polvo rociando el alimento en máquinas mezcladoras. Estas máquinas cargan y descargan su contenido rápidamente, dividiendo cada por lotes en un sistema de proceso continuo. Los tiempos de mezclado de cada lote son de 5 a 30 s.

2.5 Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son aceites aromáticos que se obtienen de la materia vegetal como flores, capullos, hojas, semillas, frutos, raíces, entre otros. Estos aceites se pueden obtener mediante fermentación, enfloración o extracción, pero la destilación al vapor es la forma más común de producir aceites esenciales en el ámbito comercial (Burt, 2004). Los AE han demostrado tener una actividad antimicrobiana contra microorganismos como bacterias, hongos y protozoarios.

El orégano mexicano (AO; *Lippia Berlandieri* Schauer) es una planta herbácea que pertenece a la familia *Lamiaceae*, especie de mayor importancia económica. Esta planta crece de manera silvestre en alrededor de 24 estados de México, el estado de Chihuahua como principal productor de esta especie (Silva, 2017). El aceite de orégano y sus componentes principales, carvacrol y timol, tienen fuertes actividades biológicas, antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias, principalmente contra bacterias gram negativas, especialmente *E. coli* (Nazzaro, 2013).

Uno de los problemas más comunes de enfermedad y mortalidad en terneros es la presencia de diarreas, la principal causa de pérdidas económicas. Comúnmente se presenta un alto crecimiento de la bacteria *E. coli* en el intestino delgado, causando bacteriemia y posteriormente la muerte. En un estudio se comprobó que, administrando diariamente de manera oral, los primeros 10 días de vida del ternero, se disminuye significativamente el índice de diarrea en condiciones de campo. Además, puede servir como método de prevención contra el síndrome de diarrea neonatal del ternero (Panagiotis, 2017).

La utilización del extracto de orégano (*Origanum vulgare*) también modifica el metabolismo del rumen debido a sus acciones antimetanoogénicas. En terneros lecheros suplementados con distintas mezclas que contenían orégano, no se observó un efecto sobre el CMS o peso corporal, pero en las vacas lecheras, al inicio de la lactancia, se redujo el CMS sin afectar la producción de leche (Giovani, 2016). Se ha observado que altas dosis de compuestos volátiles del extracto de orégano tiene un efecto negativo el consumo de alimento (Cobellis, 2016).

2.6 Técnicas para la obtención de muestras del rumen en bovino

Existen diversas técnicas para estudiar el funcionamiento del rumen en el bovino; se clasifican en métodos directos y métodos indirectos (Martín, 2019):

Métodos directos

- **Fistula ruminal:** este estudio permite observar de forma directa el contenido ruminal mediante una ventana quirúrgica en la pared abdominal izquierda del bovino, utilizando un espéculo y luz dentro del rumen.

Métodos indirectos

- **Sacrificio del animal:** método más común y antiguo que se conoce; consiste en inspeccionar sus órganos después del periodo experimental.
- **Uso de colorantes:** se ha utilizado el azul de metileno y eosina para teñir la mucosa de los órganos por donde pasa el alimento. Para su valoración es necesario el sacrificio del animal.
- **Endoscopia:** esta técnica es poco común pero menos invasiva, ya que no es necesario sacrificar el animal. Se utiliza un endoscopio por vía oral con cámara integrada a un tubo delgado y largo, el cual ingresa dentro de la cavidad del animal, un órgano hueco o una apertura del cuerpo que se requiera analizar, para observar su interior a través de la cámara.

3. JUSTIFICACIÓN

La transición de ser un pre-rumiante a tener un rumen funcional es una etapa crítica en el desarrollo de las becerras de reemplazo de razas lecheras. Los alimentos que contienen granos de cereal (almidón) tienen un mayor efecto en el desarrollo papilar del rumen, principalmente debido a la producción de los ácidos grasos volátiles, propiónico y butírico.

Los beneficios del proceso de extrusión, un rápido desarrollo del epitelio ruminal, y consecuentemente, una fermentación ruminal adecuada, permitirá un mayor desempeño productivo y reducirá los costos de crianza de las becerras. Además, las propiedades antimicrobianas del aceite de orégano pueden mejorar la salud del tracto gastrointestinal y reducir la incidencia de diarreas en las becerras.

4. HIPÓTESIS

La adición de aceite de orégano en un iniciador extruido mejorará el desarrollo ruminal, la salud del tracto gastrointestinal y el rendimiento general en las etapas pre- y post-destete de becerras Holstein de reemplazo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de dos formas físicas del alimento iniciador y la adición de aceite orégano en el desarrollo productivo, medidas corporales, desarrollo papilar del rumen, puntuación fecal y biometría hemática de becerras Holstein de reemplazo en las etapas pre- y post-destete.

5.2 Objetivos específicos

- I. Medir el desempeño productivo (CMS, GDP y eficiencia alimenticia) y las medidas corporales (altura de la cruz, longitud corporal y circunferencia torácica) de las becerras.
- II. Determinar la altura, anchura y superficie de las papilas ruminales de muestras de tejido ruminal obtenido de la región caudo-dorsal del rumen mediante biopsia endoscópica oral, al destete y al final del estudio.
- III. Determinar las incidencias de diarreas en las becerras.
- IV. Analizar la biometría hemática de las becerras.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio

Este estudio se realizó en el establo lechero “Dulce María” (25°40'17.4"N 103°26'38.9"W) de la ciudad de Gómez Palacio, Durango (Figura 1) y en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UANL. El estudio se inició el 19 de noviembre del 2022, y se finalizó el 14 de abril del 2023.



Figura 1. Localización del área de estudio.

6.2 Fase 1 (Etapa pre-destete)

6.2.1 Animales y tratamientos

En este estudio se utilizaron cuarenta y seis beceras de reemplazo recién nacidas de la raza Holstein, con un peso promedio aproximado de 36 kg, las cuales fueron distribuidas en tres tratamientos en un diseño completamente al azar (Figura 2). Los tratamientos fueron: (1) iniciador texturizado (pellet y maíz rolado) (Tabla 1); (2) iniciador extruido (IE); e (3) iniciador extruido con 100 mg/kg de aceite de orégano (IEAO).

A partir del cuarto día de nacimiento de las beceras, el alimento iniciador correspondiente al tratamiento fue ofrecido diariamente en cantidad equivalente al 0.3% de su peso vivo (Tabla 1). El alimento sobrante se pesó en la mañana para determinar el consumo diario del iniciador. El alimento ofrecido y rechazado fueron pesados en una balanza Torrey® (Guadalupe, Nuevo León, México).



Figura 2. Animales utilizados durante el estudio.

Tabla 1. Composición química de los iniciadores (base MS)¹.

Análisis	Iniciador	
	Texturizado	Extruido
Proximal, %		
Proteína cruda	20.2	23.1
Grasa cruda	2.6	6.7
Cenizas	6.3	7.2
FDN	15.9	13.3
CNF	57.1	51.7
Macrominerales, g/kg		
Calcio	0.49	0.81
Magnesio	0.26	0.23
Sodio	0.39	0.47
Potasio	1.0	0.77
Fósforo	0.56	0.51
Microminerales, mg/kg		
Hierro	152	126
Manganeso	106	39
Zinc	113	58
Cobre	9.2	14.2
Cobalto	0.99	0.81

¹FDN, fibra detergente neutra; CNF, carbohidratos no fibrosos.

Las becerras fueron confinadas en corrales individuales de 1.2 m x 2.4 m, equipados con bebederos y comederos (Figura 2). Durante las primeras horas de vida, las becerras recibieron 2 L de calostro de buena calidad, y 6 h después, otros dos litros.

Para todos los tratamientos, del día 2 hasta el día 55 de edad, se les ofreció 4 L de leche entera diariamente, dividido en 2 tomas (8:00 h y 16:00 h). La temperatura de la leche se midió para que estuviera a 40 °C antes de servir (Figura 3). A partir del día 56 de edad, se redujo el consumo a 2 L diarios, para destetar por completo al día 70 de edad. En promedio, la leche entera contenía 12.8% en sólidos totales, 4.1% de grasa, 3.7% de proteína y 4.5% de lactosa.



Figura 3. Medición de la temperatura de la leche (izquierda), y becerras consumiendo la leche entera (derecha).

6.2.2 Descripción de los iniciadores

En la Tabla 1, se presentan la composición de química del iniciador texturizado (pellet y maíz rolado de Nuplen[®]; Grupo LALA; Coahuila, México), y el iniciador extruido REWS[®] (MNA de México; Nuevo León, México). Para preparar el iniciador extruido se utilizó un extrusor Optima Single Screw Wenger[®] X-165 (Sabetha, KS, USA).

6.2.3 Descripción del aceite de orégano

El aceite de orégano que se utilizó en este estudio es de origen mexicano (AO; *Lippia berlandieri* Schauer), al cual se le realizó un análisis para determinar el contenido de aceites esenciales (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química del aceite de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer).

Determinación	Resultado
Carvacrol, %	65.2
Timol, %	10.3
p-cimeno, %	11.0
Cariofileno, %	2.7
Ácidos grasos libres, %	7.2
Índice de peróxidos, mEq peróxido/kg	< 1.0

6.2.4 Pesaje y mediciones corporales

Las becerras se pesaron en una báscula con monitor TruTest® (Auckland, Nueva Zelanda) (Figura 4). Las medidas corporales (altura de la cruz, longitud corporal y circunferencia del tórax) se obtuvieron al nacimiento, al destete y al final de la etapa post-destete del estudio (Figura 5).



Figura 4. Pesaje corporal individual en báscula con monitor TruTest®.

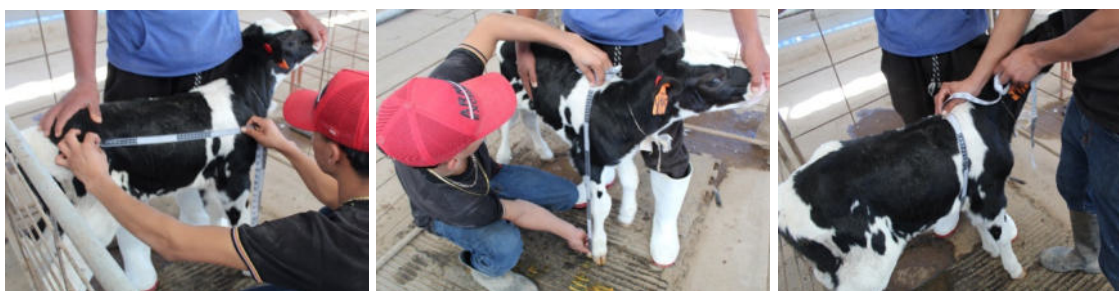


Figura 5. Obtención de medidas corporales: (a) longitud corporal; (b) altura a la cruz; (c) circunferencia torácica.

6.2.5 Puntuación fecal

La consistencia física de las heces se evaluó diariamente durante la etapa pre-destete del estudio según la clasificación de Bohlen y Rollin (2018). Las clasificaciones de las heces fueron: C1, firmes; C2, pastosas; C3, líquidas; y C4, acuosas (Figura 6).

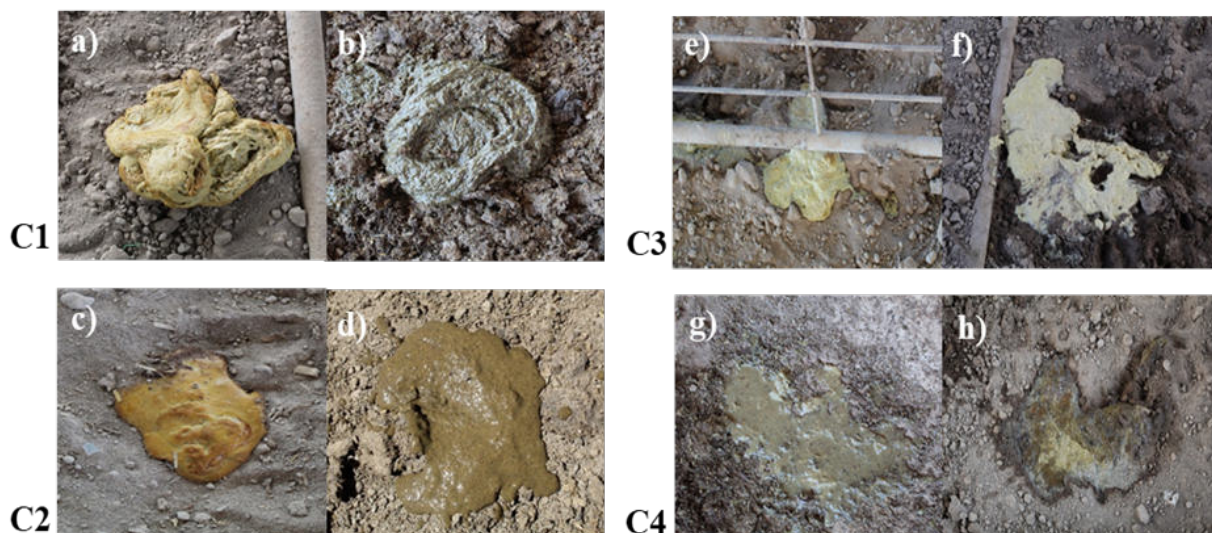


Figura 6. Clasificación de la consistencia de las heces (Bohlen y Rollin, 2018).

6.2.6 Muestreo y análisis de sangre

Un total de 10 mL de sangre de la vena yugular fueron obtenidos en ayunas de cada becerro al final de la etapa pre-destete y se recolectaron en tubos rojos BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company; Franklin Lakes, NJ, USA), sin anticoagulante. A las muestras de sangre se les realizó una biometría hemática completa en VETLAB Laboratorio Veterinario (San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México).

6.2.7 Obtención de biopsias de tejido ruminal

Mediante una técnica endoscópica oral se obtuvieron biopsias de la región caudo-dorsal del rumen de las becerros de reemplazo Holstein en la etapa pre-destete (Figura 7) y en la etapa post-destete (Figura 8), para medir el desarrollo de las papilas ruminales (altura, m; ancho, m; y superficie, m²). Se inmovilizaron a las becerros y se les inyectó 0.05 ml de xilacina intramuscular. Se esperó hasta que el tranquilizante comenzara a tener efecto. Posteriormente, se colocó un tubo de PVC de 2 in de diámetro en la boca, por donde se introdujo el endoscopio (Olympus 100 Evis

Exera®; Tokio, Japón). El endoscopio se pasó a través del esófago, por el cardias, hasta llegar a la cavidad ruminal. En la pantalla del monitor, cuando ya se apreciaba la pared ruminal, se prosiguió a insertar un cable equipado con un fórceps para coleccionar las muestras de tejido ruminal. El fórceps permaneció cerrado dentro de la sonda y se abrió cuando llegaba a la pared ruminal. Al tener contacto con la pared ruminal, el fórceps se cerró y se jaló hacia atrás para obtener la muestra de tejido de aproximadamente 0.5 cm². Las muestras de tejido se almacenaron a temperatura ambiente en unos tubos cónicos con formaldehído al 10% para disminuir la autólisis del tejido para su posterior procesamiento (Ramos et al., 2022).



Figura 7. Obtención de biopsias de tejido ruminal al finalizar la etapa pre-destete.



Figura 8. Obtención de biopsias de tejido ruminal al finalizar la etapa post-destete.

6.2.8 Análisis del tejido ruminal por histopatología

Las muestras del tejido ruminal fueron enviadas al laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL (México) para su posterior procedimiento. A las muestras, después de haber sido fijadas, se retiró el exceso de solución fijadora usada para cubrir el tejido en parafina. Posteriormente el tejido se sumergió en alcohol en varias concentraciones (70,

90, 96 y 100) y se deshidrató. Después, se añadió xilol como sustancia intermedia y se introdujo 3 veces en parafina líquida durante 2 horas en una estufa a 60 °C para favorecer una completa sustitución del xilol por la parafina. Posteriormente, se vertió la parafina con la muestra en un molde y se colocó el tejido, dejándose solidificar a temperatura ambiente. Las muestras ya secas se cortaron con un micrótopo para obtener cortes más uniformes de hasta 5 µm. Después se colocaron en un baño de flotación para expandirlos y se colocaron en un portaobjetos con un cubreobjetos. Finalmente, las muestras fueron desparafinadas y teñidas con hematoxilina y eosina, quedando listas para su análisis en el microscopio (Figura 9). Con el uso de un microscopio óptico con cámara axiocam ERc 5s (ZEISS, Oberkochen, Alemania) y el programa ZESS se observaron y midieron las variables morfométricas (ancho de la base menor y base mayor de las papilas, su altura y el área de superficie). Según van Niekerk (2021), se calculó el área de superficie (AS) de la siguiente manera:

$$AS = (\textit{Promedio de anchura} \times \textit{altura}) \times 2$$

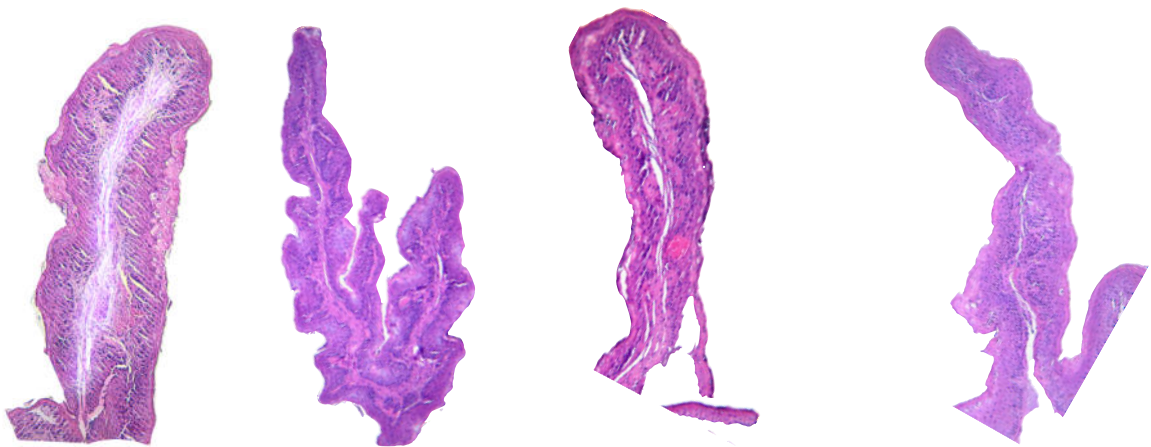


Figura 9. Muestras de papilas ruminales observadas en 10X.

6.3 Fase 2 (post-destete)

Al finalizar la etapa pre-destete, las becerras fueron trasladadas a corrales de 20 m x 14 m con su respectivo bebedero y comedero, y en grupos de 25 becerras por corral (Figura 7). Los alimentos iniciadores se dejaron de ofrecer, y las becerras recibieron a libre acceso, la misma ración post-destete que reciben todas las becerras del establo (Tabla 3). Durante esta etapa, no se midió el

consumo de alimento, ni la puntuación fecal. Las variables medidas durante esta etapa fue peso final, ganancia diaria de peso, medidas corporales (circunferencia torácica, longitud corporal y altura a la cruz) y mediciones de las papilas ruminales (anchura, altura y área de superficie). Las becerras fueron observadas diariamente para revisar su estado general de salud.

Tabla 3. Composición química de la ración post-destete (base MS)¹.

Análisis (%)	Resultado
Proteína cruda	17.7
Grasa cruda	3.1
Cenizas	8.7
FDN	30.5
CNF	40.0

¹FDN, fibra detergente neutra; CNF, carbohidratos no fibrosos.



Figura 10. Instalaciones de las becerras durante la etapa post-destete.

6.4 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las variables medidas en este estudio, se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con tres tratamientos. El peso inicial de las becerras se utilizó como covariable en el análisis de las variables de desempeño. La prueba Tukey se usó para la comparación de medias entre tratamientos, considerando como significativa la diferencia con $p < 0.05$, y una tendencia con $0.05 < p > 0.10$, usando el programa Statistix. Una tendencia con una probabilidad de $0.10 < p > 0.05$, indica una posible relación o efecto; sin embargo, está fuera del nivel de significancia convencional de $p < 0.05$.

7. RESULTADOS

7.1 Fase 1 (pre-destete)

7.1.1 Desempeño productivo y medidas corporales

En la Tabla 4 y 5 se presentan las variables de desempeño productivo y medidas corporales de las becerras de los tres tratamientos, durante el periodo pre-destete. No se obtuvieron diferencias ($p > 0.05$) en el peso al destete o la ganancia diaria de peso entre los tratamientos. En el consumo total de leche, iniciador y consumo total de MS no fueron diferentes ($p > 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, hubo una tendencia en el consumo de alimento iniciador ($p = 0.097$) y consumo total de MS ($p = 0.087$) a favor del alimento iniciador texturizado. La eficiencia alimenticia fue similar entre tratamientos. Tampoco se observaron diferencias ($p > 0.05$) en la altura a la cruz, circunferencia torácica o longitud corporal entre las becerras de los tratamientos.

7.1.2 Variables de desarrollo ruminal de las becerras

En la Tabla 6 se muestran las variables del desarrollo ruminal de las becerras al destete. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el ancho o superficie de área de las papilas del epitelio ruminal. En la altura de las papilas hubo una diferencia ($p = 0.032$) para las becerras del tratamiento IT comparado con el tratamiento IE.

7.1.3 Variables de la biometría hemática de las becerras

En la Tabla 7 se observan las variables de la biometría hemática de las becerras al destete. No se obtuvieron diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos en ninguna de las variables hematológicas analizadas.

7.1.4 Clasificación de la consistencia de las heces fecales (puntuación fecal)

En la Figura 1 se observan las medias de la puntuación fecal de las becerras de los tres tratamientos. En ésta, se observa una menor puntuación ($p = 0.005$) en becerras que consumieron el IEAO, en comparación con el alimento IT. Esto demuestra que las becerras suplementadas con IEAO tuvieron una menor incidencia de diarreas que aquellas que solamente consumieron el tratamiento IT.

7.2 Fase 2 (post-destete)

7.2.1 Desempeño productivo y medidas corporales

La Tabla 4 y 5 presentan las variables de desempeño productivo y medidas corporales de las becerras de los tres tratamientos, durante el periodo post-destete. No se obtuvieron diferencias ($p > 0.05$) significativas en la ganancia diaria de peso entre los tratamientos durante el periodo post-destete, aunque hubo una tendencia ($p = 0.075$) a favor de las becerras que consumieron el IEAO. Tampoco se observaron diferencias ($p > 0.05$) en la altura a la cruz, circunferencia torácica o longitud corporal entre las becerras de los tres tratamientos.

7.2.2 Variables de desarrollo ruminal de las becerras

Las variables del desarrollo ruminal de las becerras al final del periodo post-destete se indican en la Tabla 6. No se observaron diferencias ($p > 0.05$) en la altura, ancho o superficie de área de las papilas del epitelio ruminal. Sin embargo, hubo una tendencia a favor para el ancho de las papilas con el tratamiento IE.

Tabla 4. Desempeño productivo de las becerras¹.

Variables	Tratamientos			EE	Valor p
	IT	IE	IEAO		
Etapa pre-destete					
Peso corporal (kg)					
Nacimiento	36.0	34.5	37.8	1.47	0.254
Destete	65.9	61.8	64.3	1.72	0.163
GDP (kg/d)	0.398	0.344	0.354	0.02	0.125
Consumo de MS (kg/d)					
Leche	0.495	0.495	0.495	0.001	0.977
Iniciador	0.297	0.231	0.252	0.025	0.097
Total	0.792	0.726	0.747	0.024	0.087
Eficiencia alimenticia (kg/kg)	0.503	0.471	0.478	0.023	0.521
Etapa post-destete					
Peso final (kg)	119.1	118.8	127.2	3.82	0.198
GDP (kg/d)	0.750	0.798	0.893	0.044	0.075

¹IT, iniciador texturizado; IE, iniciador extruido; IEAO, iniciador extruido con aceite de orégano; GDP, ganancia diaria de peso; MS, materia seca.

Tabla 5. Medidas corporales de las becerras al nacimiento, destete y final del estudio¹.

Variable	Tratamientos				Valor p
	IT	IE	IEAO	EE	
Altura de la cruz (cm)					
Nacimiento	76.2	76.9	76.1	0.721	0.919
Destete	89.1	88.9	86.6	1.150	0.296
Final	99.9	100.4	100.5	0.969	0.816
Circunferencia torácica (cm)					
Nacimiento	78.8	79.1	79.5	0.879	0.819
Destete	95.5	93.7	94.3	1.033	0.345
Final	115.1	115.7	117.3	1.336	0.457
Longitud corporal (cm)					
Nacimiento	40.1	40.8	39.5	0.759	0.426
Destete	73.6	74.2	73.9	1.111	0.906
Final	85.9	88.5	88.4	1.303	0.214

¹IT, iniciador texturizado; IE, iniciador extruido; IEAO, iniciador extruido con aceite de orégano; GDP, ganancia diaria de peso; MS, materia seca.

Tabla 6. Variables de desarrollo ruminal de las becerras^{1,2}.

Variables (μm)	Tratamientos				Valor p
	IT	IE	IEAO	EE	
Etapa pre-destete					
Altura de las papilas	568.3 ^a	364.0 ^b	546.2 ^{ab}	54.7	0.032
Ancho de las papilas	184.3	142.1	136.0	18.3	0.137
Superficie del área de la papila (μm^2)	244,197	107,158	154,494	41,673	0.103
Etapa post-destete					
Altura de las papilas	724.7	930.7	761.9	108.0	0.551
Ancho de las papilas	120.8	148.7	110.8	10.0	0.071
Superficie del área de la papila (μm^2)	161,013	290,303	168,635	40,439	0.150

¹Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

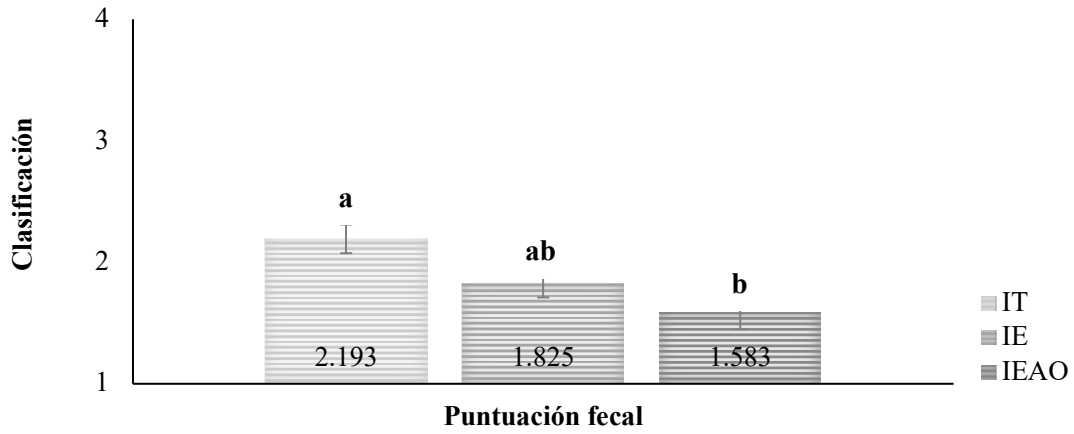
²IT, iniciador texturizado; IE, iniciador extruido; IEAO, iniciador extruido con aceite de orégano; GDP, ganancia diaria de peso; MS, materia seca.

Tabla 7. Variables de biometría hemática (fase pre-destete)¹.

Variables	Tratamientos				Valor p
	IT	IE	IEAO	EE	
Serie roja					
Eritrocitos (X 10 ⁶ /μl)	9.23	9.12	9.29	0.417	0.954
Hemoglobina (gr/dl)	10.47	10.08	10.34	0.462	0.805
Hematocrito (%)	32.13	31.07	31.67	1.454	0.845
VGM (fl)	34.80	33.87	34.33	0.671	0.552
MCH (pg)	11.47	11.13	11.33	0.262	0.604
MCHC (gr/dl)	32.73	32.87	32.67	0.250	0.828
RDW-CV (%)	25.24	25.91	24.28	0.950	0.451
Serie plaquetaria					
Plaquetas (X 10 ³ /μl)	485.00	601.93	432.42	95.140	0.392
MPV (fl)	6.26	6.09	6.18	0.082	0.284
PDW (%)	14.00	13.96	14.04	0.062	0.621
Plaquetocrito (ml/l)	3.05	3.756	2.70	0.614	0.422
Serie blanca					
Leucocitos (X 10 ³ /μl)	8.27	8.15	8.46	0.716	0.949
Granulocitos (%)	36.52	37.84	34.88	2.416	0.663
Linfocitos (%)	58.01	57.06	60.09	2.387	0.635
Monocitos (%)	5.47	5.10	5.03	0.185	0.160

¹IT, iniciador texturizado; IE, iniciador extruido; IEAO, iniciador extruido con aceite de orégano; VGM, volumen globular medio; MCH, concentración media de hemoglobina; MCHC, concentración media de hemoglobina corpuscular; RDW-CV, índice de distancia de eritrocitos; MPV, volumen plaquetario medio; PDW, índice de distancia plaquetario.

Figura 11. Puntuación fecal de las becerras de los tres tratamientos en fase pre-destete ¹.



¹Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

8.1 Desempeño productivo y medidas corporales

En el proceso de extrusión, el alimento se expone a una alta humedad, temperatura y presión durante un período corto de tránsito a través del cañón del extrusor, gelatinizando el almidón y minimizando la pérdida de nutrientes (Schofield, 2005). En diversos estudios, se ha evaluado la forma física de los iniciadores en el desarrollo ruminal y desempeño productivo de becerros de raza lecheras (Pazoki, 2017; Du, 2021). En este estudio, en la etapa pre-destete, los consumos de leche, iniciador y consumo total de MS no fueron diferentes entre tratamientos. Sin embargo, las becerras que consumieron un alimento iniciador texturizado que contenía maíz hojueado y pellets, tendieron a consumir más alimento iniciador que aquellas becerras que consumieron los alimentos extruidos. Malekxahi et al. (2021) ofreció dietas con maíz molido o acondicionado hasta 95°C, con el propósito de aumentar el área de superficie y la digestibilidad del maíz en el tracto gastrointestinal de becerras. La digestibilidad del almidón aumentó hasta 6% más con el maíz acondicionado a 95°C, observándose que el pH ruminal de las becerras se redujo, aumentando la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia.

En la etapa pre-destete tampoco hubo diferencias en el peso al destete, la ganancia diaria de peso, eficiencia alimenticia, altura a la cruz, circunferencia torácica o longitud corporal entre las becerras entre tratamientos. Tampoco se obtuvieron diferencias significativas en la ganancia diaria de peso entre los tratamientos, pero hubo una tendencia para que las becerras que consumieron el iniciador extruido con AO ganaran más peso. Tampoco se observaron diferencias en la altura a la cruz, circunferencia torácica o longitud corporal entre los tres tratamientos. ZeidAli-Nejad et al. (2018) demostraron en becerros Holstein en la etapa post-destete, al reemplazar la harina de soya por soya extruida, que la eficiencia en la utilización de nitrógeno aumentó, posiblemente debido a una mayor disponibilidad post-ruminal de proteína y energía. El consumo de iniciador se redujo, no afectando la ganancia diaria de peso o la fermentación ruminal. Los resultados de Du et al. (2021) confirman que la forma física de los iniciadores puede afectar el consumo y la digestibilidad del iniciador. Estos autores observaron que los becerros Holstein consumieron más iniciador texturizado después del destete que aquellos que consumieron el alimento iniciador peletizado.

8.2 Desarrollo ruminal

La presencia y absorción de los ácidos grasos volátiles, principalmente el butirato, estimulan la proliferación y crecimiento de las células epiteliales escamosas de las papilas ruminales (Govil et al., 2017). Con una mayor superficie de área papilar, habrá mayor superficie ruminal de absorción de AGV, los productos finales de la fermentación (Steele et al., 2011). En la etapa pre-destete hubo una mayor altura de las papilas de becerras que consumieron el tratamiento IT comparado con el tratamiento IE. En la etapa post-destete, no hubo diferencias significativas en las medidas de las papilas ruminales entre tratamientos, pero se observó que la anchura de las papilas tendió a ser mayor en becerras del tratamiento IE en comparación con el IT. En becerros Holstein recién nacidos alimentados diariamente con sustituto de leche al 15% de su peso corporal y un iniciador texturizado, van Niekerk et al. (2021) observaron que la superficie del área, la longitud y la anchura de las papilas ruminales aumentaron durante la semana 12 de edad, en comparación con la semana 5. Aunque la cantidad de sustituto de leche se fue reduciendo hasta el destete, los becerros experimentaron una acidosis ruminal. Silper et al. (2014) ofreció a becerros Holstein recién nacidos un sustituto de leche (4 y 6 L/d) durante 60 d y un alimento iniciador, no observando algún efecto en el desarrollo ruminal, aunque con la edad de las becerras, si aumentó la concentración de ácido propiónico y disminuyó la concentración de ácido acético en el líquido ruminal.

8.3 Incidencias de diarreas y biometría hemática

Los aditivos naturales como los AE tienen propiedades antimicrobianas que pueden sustituir el uso de los antibióticos, disminuyendo la frecuencia de las diarreas causada por bacterias patógenas. Los monoterpenos como el timol del aceite de orégano son activos contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*E. coli*), los cuales alteran la membrana plasmática de las bacterias e interfieren con la permeabilidad de la membrana, provocando fugas intracelulares (Trombetta et al., 2005). Helander et al. (2008) informaron que los fenoles como timol y carvacrol, por su bajo peso molecular, penetran y alteran la membrana celular externa, inhibiendo el crecimiento de las bacterias, principalmente las Gram negativas.

En la etapa pre-destete de este estudio, en la que se midió la incidencia de diarrea y la biometría hemática de las becerras, la presencia de diarreas fue significativamente menor en becerras que consumieron el alimento extruido con AO, en comparación con becerras que consumieron el alimento iniciador texturizado. No hubo diferencias significativas en ninguna de las variables de la biometría hemática que se analizaron. Ansari et al. (2022) adicionaron polvo de hojas

de orégano (30 g/d) en la leche entera durante el primer mes de vida de becerras Holstein, observando una mayor ganancia de peso y eficiencia alimenticia. También observaron una menor incidencia de diarreas en becerras consumieron la dieta con AO. En contraste, Santos et al. (2015) utilizaron una combinación de aceites esenciales microencapsulados (carvacrol, cinamaldehído, cineol, resina de aceite de pimienta y como vehículo un mananoligosacárido) adicionados en el sustituto de leche y/o en el alimento iniciador (200 mg/kg y 400 mg/kg), no observando diferencias en la ganancia diaria de peso, salud o desarrollo ruminal de las becerras Holstein. Además, no se obtuvo ningún beneficio en el desarrollo ruminal, ni en los parámetros sanguíneos de las becerras Holstein recién nacidas. Se ha comprobado que los AO pueden ser un sustituto de antibióticos, sin embargo, se necesita estudiar más a fondo la dosificación a utilizar.

9. CONCLUSIONES

En la etapa pre-destete, las becerras tendieron a consumir más alimento texturizado que alimento extruido. Durante la etapa post-destete, las becerras que consumieron el alimento iniciador adicionado con aceite de orégano tendieron a ganar más peso que las becerras que consumieron el alimento texturizado. El desempeño productivo, medidas corporales, desarrollo ruminal y variables hematológicas no se afectaron, pero la incidencia de diarreas se redujo con el alimento extruido adicionado con aceite de orégano.

10. BIBLIOGRAFÍAS

- Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M.D. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen, *Journal of Dairy Science*. Volume 88, pages E9-E21.
- 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*. Vol 87, E55-E65.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim Feed Sci Technol*. 145, 209-228.
- Bohlen, J., Rollin, E. 2018. Calf Health Basics. *UGA Cooperative Extension Bulletin 1500*.
- Borchers, R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. *Journal of Animal Science*. 24, 1033-1038.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International Journal of Food Microbiology*, volume 94, Issue 3, Pages 223-253, ISSN 0168-1605, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A. 2007. *Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation*. *Journal of Dairy Science*. 90, 2580-2595.
- Cantú Reyes, S.A. 2021. Evaluación de un alimento iniciador extruido y la inclusión de Crina en el desarrollo ruminal de becerros mediante biopsias endoscópicas. Requisito parcial para obtener el grado de maestro en ciencia animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. 25-31.
- Chesworth J.M., Stuchbury T., Scaife J.R. 1998. Digestion and Absorption in Ruminants and Non-Ruminants. In: *An Introduction to Agricultural Biochemistry*. Springer, Dordrecht. Pag 395-411.
- Cobellis, G., Massimo, T.M., Zhongtang, Yu. 2016. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of The Total Environment*. 545–546.
- Doreau, M., Ferlay, A. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. Volume 45, pages 379-396.
- Erickson PS, Kalscheur KF. Nutrition and feeding of dairy cattle. *Animal Agriculture*. 2020:157–80. doi: 10.1016/B978-0-12-817052-6.00009-4. Epub 2020 Jan 24. PMID: PMC7153313.

- Galen J. Rokey, Plattner B., M. de Souza, E. 2010. Feed extrusion process description. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Vol.39, p.510-518.
- Giovani J. K., Dejana Maira P., Alexandre Mossate G., Marcelo Tempel S., Marcel Batista P., Fischer, Vivian. 2016. Oregano extract added into the diet of dairy heifers changes feeding behavior and concentrate intake. *The Scientific World Journal*. 1-6.
- Godden, S. 2008. Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Volume 24, pages 19-39.
- Hammon H.M., Liermann W., Frieten D., Koch, C. 2020 Review: Importance of colostrum supply and milk feeding intensity on gastrointestinal and systemic development in calves. *Animal*. Volume 14, pages s133-s143.
- Holstein Foundation, s.f. World of Dairy Cattle Nutrition. http://www.holsteinfoundation.org/pdf_doc/workbooks/DairyCattleNutrition.pdf
- Hulbert, L.E., Cobb, C.J., Carroll, J.A., Ballou, M.A. 2011. The effects of early weaning on innate immune responses of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*. Volume 94, pages 2545-2556.
- J.K. van Niekerk, M. Middeldorp, L.L. Guan, M.A. Steele. 2021. Prewaning to postweaning rumen papillae structural growth, ruminal fermentation characteristics, and acute-phase proteins in calves. *Journal of Dairy Science*. Volume 104, 3632-3645.
- Khan, M.A., Bach, A., Weary, D.M. 2016. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. Vol. 99, pages 885-902.
- Lesmeister, K., Tozer, P., Heinrichs, A. 2004. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. *J. Dairy Sci.* 87, 1336-1344.
- Martín Alonso, M.J., Cal-Pereyra, L.G., Fernández Caso, M., González Montaña, J.R. 2019. Anatomía, fisiología, manipulación y aplicaciones veterinarias del surco reticular. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 10, 729-755.
- Meale, Sarah J., Chaucheyras-Durand, F., Berends H., Steele, A. 2017. From pre- to postweaning: Transformation of the young calf's gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*. Vol 100, pages 5984-5995.
- Morteza, H. G., Alois, F. 2021. Review: Effects of different forms of calf starters on feed intake and growth rate: A systematic review and Bayesianmeta-analysis of studies from 1938 to 2021. *Applied Animal Science*. 37, 273-293.
- Nazzaro, F. Fratianni, L. De Martino, R. Coppola, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, vol 6, pp. 1451-1474.
- Panagiotis D. Katsoulos, Maria A. Karatzia, Chrysostomos I. Dovas, George Filioussis. 2017. Evaluation of the in-field efficacy of oregano essential oil administration on the control of

- neonatal diarrhea syndrome in calves, *Research in Veterinary Science*, vol 115, pages 478-483.
- Piva, G., Rossi, F. 1999. Posibles alternativas al uso de antibióticos como promotores del crecimiento: Nuevos aditivos en la fabricación de piensos en la Región del Mediterráneo. *Optar. Mediter.* 37, 83-106.
- Ramos-Zayas Y, Cantú-Reyes SA, Tristán-Casas II, Kawas JR. A Novel Oral Endoscopic Biopsy Procedure to Obtain Rumen Epithelial Samples. *Vet Sci.* 2022 May 11;9(5):230. doi: 10.3390/vetsci9050230. PMID: 35622758; PMCID: PMC9147369.
- Rey, M., Enjalbert, F., Montelis V., 2012. Establishment of ruminal enzyme activities and fermentation capacity in dairy calves from birth through weaning. *J. Dairy Sci.* 95, 1500–1512.
- Safaei, K., Yang, W. 2017. Effects of grain processing with focus on grinding and steam-flaking on dairy cow performance. In: *Herbivores. Shields V.D.C. Intechopen.* 118-126.
- Schofield, E.K. 2005. *Feed Manufacturing Technology.* American Feed Industry Association. Kansas State University, USA. Cap 24 “Extrusion Cooking Systems”.
- Selle, P. H., S. Y. Liu, J. Cai, and A. J. Cowieson. 2013. Steam pelleting temperatures, grain variety, feed form and protease supplementation of mediumly ground, sorghum-based broiler diets: Influences on growth performance, relative gizzard weights, nutrient utilization, starch, and nitrogen digestibility. *Anim. Prod. Sci.* 53:378–387
- Silva Vázquez R, Duran Meléndez LA, Méndez-Zamora G, Estrada ES, Xie M, et al. 2017. Antioxidant Activity of Essential Oils from Various Mexican Oregano Ecotypes and Oil Fractions Obtained by Distillation. *JSM Chem* 5(3): 1046.
- Smith, F.E. and Murphy, T.A. *Analysis of Rumen Ammonia & Blood urea Nitrogen* March 10, 1993.
- Van Saun, R. J. 2022. *Nutritional Requirements of Dairy Cattle. Management and Nutrition.* MSD Veterinary Manual. Pennsylvania State University.
- Y. Li, Y.L. Guo, C.X. Zhang, X.F. Cai, P. Liu, C.L. Li, 2021. Effects of physical forms of starter feed on growth, nutrient digestibility, gastrointestinal enzyme activity, and morphology of pre- and post-weaning lambs, *Animal*, Volume 15, Issue 1, <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100044>.
- ZeidAli-Nejad, A. Ghorbani, G.R., Kargar, S., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Pezeshki, A., Ghaffari, M.H. 2018. Nutrient intake, rumen fermentation and growth performance of dairy calves fed extruded full-fat soybean as a replacement for soybean meal. *Animal.* Volume 12, pages 733-740.